



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ - ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΗΛΕΚΤΡΟΜΗΧΑΝΟΛΟΓΙΚΩΝ ΚΑΙ ΗΛΕΚΤΡΙΚΩΝ
ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗΣ ΚΑΙ ΕΚΠΟΜΠΗΣ ΣΗΜΑΤΩΝ
ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΚΑΙ ΧΗΜΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΜΕ ΣΚΟΠΟ
ΤΗΝ ΔΡΑΣΗ ΕΠΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΚΑΙ ΕΝ ΓΕΝΕΙ
ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ**

Όλγα Κωστούλα
MSc, Ηλεκτρολόγος Μηχανικός Τ.Ε.

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2020



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ - ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΗΛΕΚΤΡΟΜΗΧΑΝΟΛΟΓΙΚΩΝ ΚΑΙ ΗΛΕΚΤΡΙΚΩΝ
ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗΣ ΚΑΙ ΕΚΠΟΜΠΗΣ ΣΗΜΑΤΩΝ
ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΚΑΙ ΧΗΜΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΜΕ ΣΚΟΠΟ
ΤΗΝ ΔΡΑΣΗ ΕΠΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΚΑΙ ΕΝ ΓΕΝΕΙ
ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ**

Όλγα Κωστούλα
MSc, Ηλεκτρολόγος Μηχανικός Τ.Ε.

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2020

“Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρα 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)”.

Ημερομηνία αίτησης της κ. Κωστούλα Όλγας: 4-7-2013

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 757^α/19-12-2013

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Καρκαμπούνας Σπυρίδων, Επίκουρος Καθηγητής Φυσιολογίας με έμφαση στην Περιβαλλοντολογική Φυσιολογία του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Ευαγγέλου Άγγελος, Καθηγητής Φυσιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Κωσταράκης Παναγιώτης, Καθηγητής Ηλεκτρονικής και Μικροηλεκτρονικής του Τμήματος Φυσικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 9-1-2014

«Ανάπτυξη ηλεκτρομηχανολογικών και ηλεκτρολογικών συστημάτων διαμόρφωσης και εκπομπής σημάτων βιολογικής και χημικής προέλευσης με σκοπό τη δράση επί βιολογικών οργανισμών και εν γένει βιολογικών συστημάτων»

ΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ 929^α/29-6-2020

Αγνάντη Νίκη	ομότιμη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Γούσια Άννα	Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Ευαγγέλου Άγγελος	ομότιμος Καθηγητής Φυσιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Κωσταράκης Παναγιώτης	τ. Καθηγητής Ηλεκτρονικής ή και Μικροηλεκτρονικής του Τμήματος Φυσικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Φωτόπουλος Ανδρέας	Καθηγητής Πυρηνικής Ιατρικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Γιαννακόπουλος Ξενοφών	τ. Αναπληρωτής Καθηγητής Ουρολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Καρκαμπούνας Σπυρίδων	Αναπληρωτής Καθηγητής Φυσιολογίας με έμφαση στην Περιβαλλοντολογική Φυσιολογία του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΛΙΑΝ ΚΑΛΩΣ» στις 23-7-2020

Ιωάννινα 9-9-2020

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Άννα Μπατιστάτου

Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας



Αφιερώνω την διατριβή μου στην μνήμη της μητέρας μου Ουρανίας,
στον πατέρα μου Ιωάννη, στην αδελφή μου Θωμαή,
καθώς και στα ανίψια μου Σταύρο και Ελένη-Ευαγγελία.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή αναπτύχθηκε στο Εργαστήριο Φυσιολογίας του Ιατρικού Τμήματος από το 2013 έως το 2020. Το ερευνητικό θέμα που αναλύσαμε υπήρξε πρωτοπόρο και δυσχερές καθόσον η βιβλιογραφία στο συγκεκριμένο αντικείμενο, δηλαδή στην μεταφορά βιολογικά λειτουργικής πληροφορίας μέσω ηλεκτρομαγνητικών πεδίων χαμηλών συχνοτήτων ήταν ελάχιστη και συγκεκριμένα παρουσίαζε λίγες δεκάδες σχετικών αναφορών. Η συνεισφορά μου εστιάστηκε κατά κύριο λόγο στα ειδικά τεχνολογικά θέματα, προκειμένου να έχουμε ένα πειραματικό περιβάλλον καθαρό και χωρίς εξωτερικές ηλεκτρομαγνητικές παρεμβολές στο κορεσμένο με ηλεκτρομαγνητικές ακτινοβολίες ποικίλων συχνοτήτων, που θα μπορούσαν να αλλοιώσουν τις συχνότητες των πεδίων που εκπέμπουμε στους βιολογικούς μας στόχους, δηλαδή στα χρησιμοποιούμενα κακοήθη νεοπλασματικά κύτταρα. Επίσης έγινε μεγάλη προσπάθεια απομόνωσης της διάταξης παραγωγής ηλεκτρομαγνητικών πεδίων σε υπόγειο χώρο ώστε να μην υπάρχει διαφυγή ηλεκτρομαγνητικών πεδίων στο περιβάλλον, ώστε να προφυλάσσεται ο ερευνητής και το προσωπικό, όπως επίσης και τα λοιπά πειράματα που λάμβαναν χώρο και κυρίως οι κυτταροκαλλιέργειες, οι οποίες ήταν σε στενή γειτνίαση και μη ηλεκτρομαγνητικά μονωμένες.

Εκφράζω τις βαθιές μου ευχαριστίες για την πολυσχιδή υποστήριξη που μου παρείχαν στους καθηγητές που συμμετείχαν στην Τριμελή Συμβουλευτική Επιτροπή μου κ.κ. Σπύρο Καρκαμπούνα, Άγγελο Ευαγγέλου και Παναγιώτη Κωσταράκη. Επίσης εκφράζω ευχαριστίες στους κ.κ Κωνσταντίνο Χαβέλα ηλεκτρονικό, αξιωματικό ε.α του Ελληνικού Πολεμικού Ναυτικού, όπως επίσης στον κ. Γεώργιο Χατζηαβάζη ηλεκτρονικό, αξιωματικό ε.α του Ελληνικού Πολεμικού Ναυτικού, που μου περιέγραψαν αναλυτικά το σύστημα που επινόησαν, την δομή, τις λειτουργίες του και το λειτουργικό οδήγησής του. Επίσης ευχαριστώ τον κ. Αντώνιο Αυδίο, μαθηματικό, που με βοήθησε στον χειρισμό και τον λειτουργικό έλεγχο των συστημάτων, καθώς και τον κ. Χρήστο Σαβρανίδα, μαθηματικό, που με βοήθησε πολλαπλώς σε διάφορα θέματα μαθηματικού χαρακτήρα καθ' όλη την διάρκεια της ερευνητικής μου προσπάθειας.

Αφιερώνω την διατριβή μου στην μνήμη της μητέρας μου Ουρανίας, στον πατέρα μου Ιωάννη, στην αδελφή μου Θωμάη, καθώς και στα ανίψια μου Σταύρο και Ευαγγελία.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι.....	7
Ι. ΕΝΝΟΙΕΣ ΒΑΣΗΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΗΛΕΚΤΡΙΣΜΟ ΚΑΙ ΤΟΝ ΜΑΓΝΗΤΙΣΜΟ.....	7
Το ηλεκτρικό φορτίο.....	7
Οι αγωγοί και οι μονωτές.....	9
Η φόρτιση των σωμάτων.....	10
Ο νόμος της διατήρησης του ηλεκτρικού φορτίου και η κβαντική φύση του.....	12
Ο νόμος του Coulomb.....	17
Το ηλεκτρικό πεδίο.....	21
Σύνθεση ηλεκτρικών πεδίων και σχετικοί υπολογισμοί.....	26
Οι ηλεκτρικές δυναμικές γραμμές και η γραφική αναπαράσταση των ηλεκτρικών πεδίων.....	27
Η φυσική οντότητα του ηλεκτρικού δίπολου και η γενίκευσή της.....	29
Απεικονίσεις πεδίων με ηλεκτρονικό υπολογιστή.....	34
Ο Νόμος του Gauss.....	34
Ο νόμος του Gauss – διατύπωση – φυσική σημασία – παραδείγματα.....	40
Φορτία πάνω σε αγωγούς – ηλεκτροστατική γεννήτρια Van de Graff.....	52
Ο Κλωβός του Faraday και η ηλεκτρική θωράκιση.....	56
ΗΛΕΚΤΡΙΚΟ ΔΥΝΑΜΙΚΟ ΚΑΙ ΠΥΚΝΩΤΕΣ.....	58
Ο ΠΥΚΝΩΤΗΣ ΣΑΝ ΣΥΣΣΩΡΕΥΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΙΚΗΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ ΚΑΙ Η	
ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗ ΜΕΜΒΡΑΝΗ ΩΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΠΥΚΝΩΤΗΣ.....	62
Η δομή και η λειτουργία της κυτταρικής μεμβράνης ως μηχανισμού πληροφόρησης και ενεργοποίησης του κυττάρου.....	69
Οι δύο σημαντικές παθητικές ηλεκτρικές ιδιότητες της μεμβράνης.....	73
Πειραματικός έλεγχος των ηλεκτρικών φαινομένων των κυττάρων.....	74
Η ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΗ ΧΩΡΗΤΙΚΟΤΗΤΑ.....	74
Μεμβρανική χωρητικότητα και μεμβρανική αγωγιμότητα – η μεταξύ τους σχέση και το ηλεκτρικό τους ισοδύναμο κύκλωμα.....	80
ΔΥΝΑΜΙΚΑ ΙΣΟΡΟΠΙΑΣ – ΕΝΝΟΙΑ ΚΑΙ ΡΟΛΟΣ.....	86
Μεμβρανικός διαχωρισμός φορτίου.....	89
Η Εξίσωση του Nerst.....	91
ΤΟ ΔΥΝΑΜΙΚΟ ΗΡΕΜΙΑΣ.....	94
Η παθητική κατανομή φορτίου.....	94

Η ΕΝΕΡΓΟΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΣΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΚΑΙ ΜΥΪΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ.....	96
Η ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗ ΤΗΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΜΕΝΗΣ ΗΛΕΚΤΡΙΚΗΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ	99
Τα βασικά χαρακτηριστικά του δυναμικού ενέργειας και οι νόμοι που το προσδιορίζουν ως φαινόμενο.....	102
Ο ρόλος του Νατρίου (Υπόθεση Νατρίου) στο δυναμικό ενέργειας	107
Ο Δίαυλος του Νατρίου	112
Ο Κύκλος του Hodgkin.....	115
ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΑ ΠΕΔΙΑ ΚΑΙ ΚΥΜΑΤΑ	119
Το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα.....	124
Θερμική ακτινοβολία και ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία ως μια μορφή θερμότητας.....	134
Ηλεκτρομαγνητικά πεδία και έρευνα.....	135
Τα φαινόμενα του συντονισμού στην Φυσική	136
Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός (NMR).....	137
Βιοϊατρικές δράσεις των ηλεκτρομαγνητικών πεδίων επί βιολογικών συστημάτων – συσχέτιση με νόσους και ενδεχόμενες θεραπευτικές εφαρμογές	139
Δράσεις έκθεσης σε υψηλές ηλεκτρομαγνητικές συχνότητες της κινητής τηλεφωνίας	140
Δράσεις κατόπιν έκθεσης σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία πολύ χαμηλών συχνοτήτων (ELF& EMF)	141
Πιθανός μηχανισμός δράσης των ELF EMF	142
ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΘΗΚΩΝ ΠΟΥ ΕΠΑΓΟΥΝ ΤΙΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΤΟΥ ΘΕΡΜΙΚΟΥ ΣΟΚ	144
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	149
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	150
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	151
Συσκευές	151
Multi-Channel Dynamic Exciter 100 VI:	151
Κλωβός Faraday και συνοδές διατάξεις.....	153
Έλεγχος της ηλεκτρομαγνητικής στεγανότητας του κλωβού Faraday	154
Τα σύνολα των συχνοτήτων που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα.....	155
Κακοήθεις Νεοπλασματικές Κυτταρικές Σειρές He La, HeLa siRNA HSP-70 και κύτταρα χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας ανθρώπου σειράς K562.....	161
ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΣΧΕΤΙΚΑ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΤΟΥ ΘΕΡΜΙΚΟΥ ΣΟΚ (HSP-70)	166
ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΧΡΗΣΗ ΕΠΙΜΥΩΝ W1STAR	174

ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΣΧΕΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	176
ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΥΤΤΑΡΩΝ K562 ΜΕ ΧΗΜΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΚΑΙ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΑ ΠΕΔΙΑ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ	200
ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΙΜΙΝΗΣ.....	244
ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΔΡΑΣΗ ΔΥΟ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΣΕΙΡΑ K562	251
ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ <i>IN VIVO</i>.....	257
ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	264
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	275
SUMMARY.....	279
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	281

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι

Ι. ΕΝΝΟΙΕΣ ΒΑΣΗΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΗΛΕΚΤΡΙΣΜΟ ΚΑΙ ΤΟΝ ΜΑΓΝΗΤΙΣΜΟ

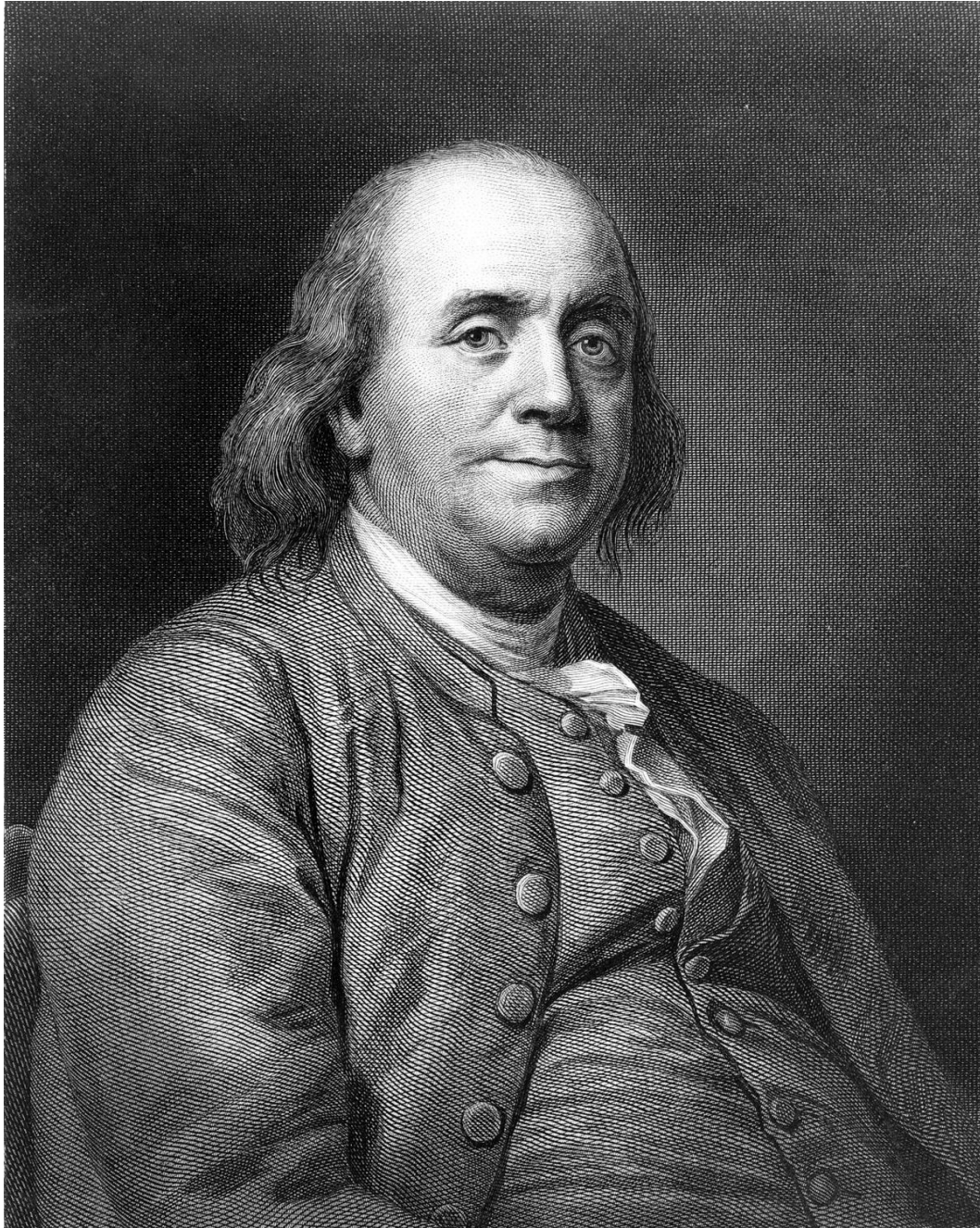
Το ηλεκτρικό φορτίο

Το ηλεκτρικό φορτίο είναι ένα βασικό φυσικό μέγεθος επί του οποίου στηρίζονται όλα τα φαινόμενα που μελετά ο ηλεκτρισμός και ο ηλεκτρομαγνητισμός. Το μέγεθος αυτό αποτελεί μια ιδιότητα της ύλης, όπως η μάζα και το μήκος, οπότε πολύ συχνά το συναντούμε στις εξισώσεις διαστάσεων ενός παράγωγου φυσικού μεγέθους, όπως π.χ η ταχύτητα, ή η ορμή.

Η ύπαρξη του ηλεκτρικού φορτίου έγινε γνωστή περί τα 600 π.Χ. στην Ελλάδα, από τον Θαλή τον Μιλήσιο, ο οποίος παρατήρησε ότι η τριβή ενός τεμαχίου κεχριμπαριού (απολιθωμένη ρητίνη) με ένα μάλλινο ύφασμα προσδίδει στο εν λόγω σώμα την ιδιότητα να έλκει μικρά και ελαφρά τεμάχια ύλης, όπως φύλλα, φτερά, ρινίσματα ξύλου και γενικά οργανικά υλικά μικρού βάρους. Επειδή το κεχριμπάρι ονομάζεται *ήλεκτρον* από την αρχαία αυτή Ελληνική λέξη προέκυψε και ο όρος ηλεκτρισμός, που έμελλε κατόπιν να υιοθετηθεί και να χρησιμοποιηθεί παγκοσμίως για να περιγράψει όλα τα σχετικά φυσικά φαινόμενα, που προκύπτουν εξ αιτίας της ύπαρξης του ηλεκτρικού φορτίου ως δομικού στοιχείου της ύλης (John V. Pickstone. 2001 Ways of Knowing: A New History of Science, Technology and Medicine Paperback - 4 April 2001 Amazon books, Thomas S. Kuhn. The structure of Scientific Revolutions. 2012, University of Chicago ©, First Edition 1969, ISBN 10: 0 0226- 458148).

Απλά και θεμελιώδη πειράματα που δείχνουν τα φαινόμενα έλξης και άπωσης τα οποία παράγονται από την τριβή γυάλινων και πλαστικών ράβδων με φυσικά μεταξωτά και μάλλινα υφάσματα αντιστοίχως: Η παρατήρηση δείχνει ότι οι γυάλινες ράβδοι, μετά την ηλεκτρική φόρτισή τους, διά της τριβής με ένα μεταξωτό ύφασμα, απωθούνται μεταξύ τους. Ομοίως και οι πλαστικές ράβδοι μετά την φόρτισή τους μέσω του μάλλινου υφάσματος παρουσιάζουν μεταξύ του συμπεριφορά άπωσης. Ωστόσο οι φορτισμένες, με τα ως άνω διαφορετικά υφάσματα, πλαστικές και γυάλινες ράβδοι αν πλησιάσουν αρκετά κοντά, παρατηρούμε ότι έλκονται.

Από τα εν λόγω πειράματα φαίνεται ότι στην φύση υπάρχουν δύο τύποι φορτίων: ο τύπος φορτίου που αναπτύσσεται μέσω τριβής του πλαστικού με μάλλινο ύφασμα, και ο τύπος φορτίου που αναπτύσσεται με την τριβή του γυαλιού με μέταξα. Ο Βενιαμίν Φρανγκλίνος (1706 - 1790) πρότεινε την ονομασία θετικό (+) και αρνητικό (-) φορτίο, για τα φορτία που αναπτύσσονται όπως περιγράψαμε ανωτέρω. Τα φορτία του ίδιου τύπου ασκούν μεταξύ τους απωστικές δυνάμεις, ενώ τα φορτία των διαφορετικών τύπων ασκούν μεταξύ τους δυνάμεις ελκτικές. Συνεπώς ένα θετικό και ένα αρνητικό φορτίο έλκονται μεταξύ τους, ενώ δύο θετικά απωθούνται, όπως επίσης και δύο αρνητικά. Η ονοματολογία αρνητικό και θετικό φορτίο, όπως επίσης και τα αντίστοιχα πρόσημα διατηρούνται αμετάβλητα μέχρι σήμερα. Η τριβή των ράβδων με τα υφάσματα οδηγεί τα δύο υλικά σε μετακίνηση φορτίων, οπότε η πλαστική ράβδος και το μάλλινο ύφασμα λαμβάνουν ίσα και αντίθετα φορτία, όπως επίσης η γυάλινη ράβδος και το μεταξωτό ύφασμα. Η παρατήρηση δείχνει ότι η επαφή των δύο αντικειμένων (γυάλινη ράβδος - μεταξωτό ύφασμα & πλαστική ράβδος - μάλλινο ύφασμα) εξουδετερώνει τα φορτία που αναπτύχθηκαν. Επίσης εξάγεται το συμπέρασμα ότι το συνολικό φορτίο που αναπτύσσεται στα σώματα γυαλί - μετάξι & πλαστικό - μαλλί είναι πάντοτε εξισορροπημένο και το άθροισμά του είναι μηδενικό. Συνεπώς το ολικό ηλεκτρικό φορτίο ενός σώματος, ή ενός συστήματος σωμάτων, δεν αλλάζει και η παρατήρηση αυτή οδηγεί στην διατύπωση της **αρχής διατήρησης του φορτίου**.



Βενιαμίν Φρανκλίνος (1706 -1790)

Οι αγωγοί και οι μονωτές

Η βάση όλων των ηλεκτρικών φαινομένων είναι τα λεγόμενα στοιχειώδη ηλεκτρικά φορτία, που εδράζονται το μεν αρνητικό στο ηλεκτρόνιο, το δε θετικό στο πρωτόνιο. Τα ηλεκτρόνια είναι σωματίδια που περιφέρονται πέριξ του πυρήνα των ατόμων κάθε στοιχείου, ενώ τα πρωτόνια ευρίσκονται στο εσωτερικό των πυρήνων. Η μάζα εκάστου ηλεκτρονίου είναι πολύ μικρή σε σύγκριση με την μάζα κάθε πρωτονίου. Το πρωτόνιο

είναι περί τις 1800 φορές μεγαλύτερο ως προς κάθε ηλεκτρόνιο (e). Τα ηλεκτρόνια είναι ευκίνητα και συνεπώς είναι σε θέση να μετακινούνται μέσα στην μάζα ενός σώματος, όπως π.χ. ενός μετάλλου. Τα μετακινήσιμα ηλεκτρόνια των μετάλλων ονομάζονται επίσης και *ελεύθερα ηλεκτρόνια* (Hugh Young, 1994). Τα φυσικά και χημικά σώματα, χαρακτηρίζονται γενικά ως *αγωγοί* ή ως *μονωτές*. Συνήθως αγωγοί είναι η πλειοψηφία των μετάλλων, ενώ μονωτές είναι κυρίως τα αμέταλλα στοιχεία. Τέλος υπάρχει μια άλλη κατηγορία σωμάτων, ως προς την αγωγιμότητά τους, οι λεγόμενοι *ημιαγωγοί*, οι οποίοι βρίσκουν σπουδαίο πεδίο εφαρμογής στην κατασκευή σχεδόν όλων των γνωστών ηλεκτρονικών συστημάτων (Hugh Young, 1994). Η αγωγιμότητα είναι ένα μέγεθος χαρακτηριστικό για κάθε χημικό σώμα και μεταβάλλεται με την θερμοκρασία, δηλαδή μειώνεται αυξανόμενης της θερμοκρασίας και αυξάνεται όταν η θερμοκρασία ελαττώνεται. Στην θερμοκρασία του απόλυτου μηδενός η αγωγιμότητα ενός σώματος γίνεται απεριόριστη και η ηλεκτρική του αντίσταση μηδενίζεται (Hugh Young, 1994).

Η φόρτιση των σωμάτων

Τα φυσικά σώματα αναπτύσσουν ηλεκτρικό φορτίο μέσω διαδικασιών οι οποίες μετακινούν ηλεκτρόνια από τις εξωτερικές στοιβάδες των ατόμων και τα μετακινούν σε άλλα σώματα. Κατ' αυτόν τον τρόπο το σώμα, του οποίου τα ελεύθερα ηλεκτρόνια μετακινούνται, πέραν των ατόμων από τα οποία αποσπάστηκαν αναπτύσσει θετικό φορτίο, ενώ το σώμα στο οποίο διοχετεύονται τα αποσπασμένα ηλεκτρόνια αποκτά αρνητική φόρτιση ίση αριθμητικά με το απόλυτο άθροισμα των ηλεκτρονίων που απέκτησε, ενώ το σώμα εκκίνησης αυτών των ηλεκτρονίων φορτίζεται θετικά με φορτίο κατ' απόλυτη τιμή ίσο με τα ηλεκτρόνια που απώλεσε (H.Young(1994), Raymond A Serway (1990). Το σύνολο των φορτίων του σώματος από το οποίο αποσπάστηκαν τα ηλεκτρόνια προστιθέμενο στα φορτία του σώματος που έλαβε τα ηλεκτρόνια είναι φυσιολογικά μηδενικό (H.Young(1994), Raymond A Serway (1990).

Εκτός από την απόσπαση φορτίων με μέσα μηχανικά, όπως π.χ. η τριβή, υπάρχει και η ανάπτυξη φορτίων με την χρήση του φαινομένου της *επαγωγής*, οπότε αυτός ο τύπος φόρτισης ονομάζεται *φόρτιση δι' επαγωγής*. Σύμφωνα με το φαινόμενο αυτό αν διαθέτουμε ένα ήδη φορτισμένο σώμα, πλήρως μονωμένο – οπότε το ηλεκτρικό φορτίο του είναι σταθερό – μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε την φόρτισή του, προκειμένου να επάγουμε φόρτιση εξ αποστάσεως σε ένα δεύτερο σώμα ηλεκτρικώς ουδέτερο. Σύμφωνα

με το πειραματικό πρωτόκολλο τοποθετούμε το προς φόρτιση σώμα, σφαιρικού σχήματος και μεταλλικού υλικού, σε έναν σπειρωτό με μονωτικές ιδιότητες και σταδιακά προσεγγίζουμε στο σφαιρικό σώμα μια φορτισμένη ράβδο με φορτίο αρνητικό, δηλαδή υάλινη ράβδο φορτισθείσα δια τριβής σε μεταξωτό ύφασμα. Εφ' όσον η σφαίρα είναι ηλεκτρικώς αγώγιμη η δράση των αρνητικών φορτίων της υάλινης ράβδου επί των ελεύθερων ηλεκτρονίων της μεταλλικής σφαίρας θα είναι απωστικού χαρακτήρα. Τούτο σημαίνει ότι τα ηλεκτρόνια της σφαίρας, που ευρίσκονται πλησίον της φορτισμένης αρνητικώς ράβδου, θα μετακινηθούν προς την απέναντι περιοχή, με αποτέλεσμα η εγγύς προς την ράβδο περιοχή της σφαίρας να παρουσιάζει έλλειμμα ηλεκτρονίων και συνιστάμενο φορτίο θετικό, ενώ η απέναντι πλευρά, με το περίσσειμα των απωθηθέντων και μετακινηθέντων ηλεκτρονίων, να εμφανίζει αρνητική φόρτιση. Οι δυνάμεις που κινούν την φόρτιση της σφαίρας *εξ επαγωγής* είναι πεδιακές ηλεκτροστατικές δυνάμεις τύπου Coulomb, εξαρτώμενες από τον λόγο του γινομένου των φορτίων που αλληλεπιδρούν διά του τετραγώνου της απόστασής τους (εξίσωση 1, ορισμός δύναμης Coulomb). Καθώς τα ηλεκτρόνια της σφαίρας μετακινούνται, υπό την επιρροή του δυναμικού ηλεκτρικού πεδίου της φορτισμένης ράβδου, τα φορτία διαχωρίζονται και μεταξύ τους δρουν δυνάμεις ηλεκτροστατικές, ελκτικές για τα ετερόνυμα φορτία και απωστικές για τα ομώνυμα. Αν απομακρύνουμε την υάλινη ράβδο από την σφαίρα τότε λόγω της ανάπτυξης ελκτικών δυνάμεων μεταξύ των θετικών φορτίων και των αντίστοιχων αρνητικών, τα ηλεκτρόνια επανέρχονται στην περιοχή των θετικών φορτίων, οπότε η ηλεκτρική κατάσταση της σφαίρας επιστρέφει στην πρότερή της εικόνα. Αν όμως η ράβδος παραμείνει σταθερή στο συγκεκριμένο σημείο, τότε τα φορτία της σφαίρας παραμένουν διαχωρισμένα εσαεί. Οπότε μετά την δράση της επαγωγής όλο το σύστημα των φορτίων έρχεται πλέον σε ισορροπία και δεν λαμβάνουν χώρα άλλα φαινόμενα. Η ηλεκτρική θετικοποίηση της σφαίρας είναι σταθερή, υπό τον όρο ότι η επάγουσα υάλινη ράβδος θα μείνει σε ένα συγκεκριμένο σημείο αμετακίνητη και το φορτίο της δεν θα ελαττωθεί.

Αν στην κατάσταση της ισορροπίας συνδέσουμε τον αρνητικό πόλο της φορτισμένης μεταλλικής σφαίρας με το έδαφος, μέσω ενός αγώγιμου σύρματος, τότε τα ελεύθερα ηλεκτρόνια θα διοχετευτούν στην γη, οπότε η σφαίρα θα μείνει φορτισμένη μόνο θετικά, καθόσον τα θετικά φορτία δεν μετακινούνται, τουλάχιστον στο συγκεκριμένο σύστημα. Αυτή η κατάσταση της θετικής φόρτισης της σφαίρας θα παραμείνει ακόμη κι αν η ράβδος απομακρυνθεί. Αν μάλιστα φροντίσουμε να απομονώσουμε την μεταλλική σφαίρα μέσα

σε έναν κώδωνα και αφαιρέσουμε τον αέρα ούτως ώστε τα σωματίδιά του να μην εξουδετερώνουν σταδιακά τα θετικά ηλεκτρικά φορτία, τότε η φόρτιση της σφαίρας μπορεί να διαρκέσει πολύ μέσα στον χρόνο. Υποτίθεται ότι αν η κατάσταση μείνει γεωμετρικά, υλικά και πεδιακά σταθερή, τότε η φόρτιση της σφαίρας θα διαρκέσει όσο διαρκέσει αυτή η σταθερότητα. Βέβαια στην φύση, όσο και οι μονώσεις που δημιουργούμε είναι καλές, τα φαινόμενα εξελίσσονται και τελικά οι διαφορές ηλεκτρικού δυναμικού εν τέλει καταπίπτουν, ως αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης των πάντων επί τη βάση κυρίως του δεύτερου θερμοδυναμικού νόμου.

Η φόρτιση εξ επαγωγής είναι ένα σπουδαίο φαινόμενο που ισχύει στην φύση σε μια τεράστια έκταση, καθόσον δεν υπάρχει τρόπος να εμποδίσεις πρακτικά τις ηλεκτρικές δυνάμεις να αλληλεπιδρούν. Οπότε μπορούμε να πούμε ανεπιφύλακτα ότι αποτελεί ένα πολύ ισχυρό μέσο για την παραγωγή φορτίων σε όλα τα φυσικά σώματα. Η φόρτιση εξ επαγωγής της θεωρούμενης σφαίρας θα συνέβαινε επίσης καλά και στην περίπτωση όπου τα κινούμενα φορτία ήταν θετικά κι όχι αρνητικά, ή ακόμη και αν είχαμε να κάνουμε με κινητά φορτία τόσο θετικά, όσο και αρνητικά, όπως συμβαίνει στην περίπτωση των ηλεκτρολυτικών διαλυμάτων. Στους μεταλλικούς αγωγούς τα κινούμενα φορτία είναι πάντα τα αρνητικώς φορτισμένα ηλεκτρόνια, αλλά στους ημιαγωγούς μιλάμε επίσης και για κίνηση θετικών οπών. Βεβαίως είναι βολικό – εκ συμβάσεως – να θεωρούμε ως κινητά τα θετικά φορτία. Στην αγωγιμότητα των διαλυμάτων ηλεκτρολυτών συνεισφέρουν τόσο τα θετικά, όσο και τα αρνητικά φορτισμένα ιόντα. Το ίδιο ισχύει και για τα ιονισμένα αέρια.

Τέλος μέσω της επαγωγής ένα φορτισμένο σώμα ασκεί δυνάμεις ακόμη και σε σώματα που δεν είναι φορτισμένα.

Ο νόμος της διατήρησης του ηλεκτρικού φορτίου και η κβαντική φύση του

Δεν γνωρίζουμε τι ακριβώς είναι το ηλεκτρικό φορτίο, με τον ίδιο τρόπο που δεν γνωρίζουμε τι είναι η ενέργεια, η μάζα και ο χρόνος. Τα μεγέθη αυτά του σύμπαντος τα θεωρούμε αξιωματικά, αλλά βεβαίως δεν σταματούμε την επιστημονική προσπάθεια να τα ανάγουμε σε κάτι πιο απλό και πιο κατανοήσιμο. Επειδή ακριβώς είναι θεμελιακά μεγέθη (διαστάσεις) της υλοενέργειας δεν φαίνεται να αναλύονται περαιτέρω. Ωστόσο, παρά το γεγονός αυτής της μη περαιτέρω αναλυτικής ερμηνείας, εμείς μπορούμε να περιγράψουμε πολύ καλά τα φαινόμενα που οφείλονται στο ηλεκτρικό φορτίο και να εξάγουμε τους

νόμους που τα διέπουν. Είναι πολύ σημαντικό να υπογραμμίσουμε ότι οι αλληλεπιδράσεις οι οποίες ευθύνονται για τις χημικές και φυσικές ιδιότητες κάθε στοιχείου ξεχωριστά είναι κατά κύριο λόγο ηλεκτρικές αλληλεπιδράσεις βασιζόμενες σε ηλεκτρικές δυνάμεις πεδιακού χαρακτήρα, αλλά και χαρακτήρα κβαντικού. Γενικότερα τα ηλεκτρικά φαινόμενα ανήκουν στις λεγόμενες *ασθενείς αλληλεπιδράσεις*. Πρέπει να υπογραμμίσουμε με ιδιαίτερη έμφαση ότι *όλα τα φαινόμενα της Χημείας, όλες οι χημικές ιδιότητες ατόμων, μορίων, ιόντων, πολυμερών και κρυστάλλων προκύπτουν εξ ολοκλήρου από τα βασικά ηλεκτρικά φαινόμενα της ύλης*. Επίσης πρέπει να υπογραμμίσουμε με έμφαση ότι όλα τα φαινόμενα της βιολογίας που περιλαμβάνουν τον χώρο από την δημιουργία των δυναμικών των κυττάρων μέχρι την πολύπλοκη συμπεριφορά του νευρικού συστήματος και του ανοσολογικού συστήματος, είναι ουσιαστικά φαινόμενα που προκύπτουν από ηλεκτρικές αλληλοεπιδράσεις, όπως επίσης και από αλληλοεπιδράσεις μαζών.

Η ύλη όπως την γνωρίζουμε δομείται σε άτομα μέσω της σύμπραξης τριών θεμελιωδών σωματιδίων:

1^{ον}) του *ηλεκτρονίου* (που φέρει το ελάχιστο αρνητικό αυτοτελές φορτίο, δηλαδή το *quantum* του αρνητικού φορτίου).

2^{ον}) του *πρωτονίου* (που φέρει το ελάχιστο θετικό αυτοτελές φορτίο, δηλαδή το *quantum* του θετικού φορτίου).

3^{ον}) του *νετρονίου* ή ουδετερονίου (το οποίο έχει μηδενικό ηλεκτρικό φορτίο).

Η εξέλιξη της πυρηνικής φυσικής έδειξε σαφώς ότι το νετρόνιο και το πρωτόνιο είναι συνδυασμοί ακόμη πιο στοιχειωδών σωματιδίων, τα οποία ονομάζονται *κουάρκ* (*Quark*). Τα κουάρκ έχουν φορτία που είναι ίσα με το $\pm 1/3$ και $\pm 2/3$ του φορτίου του ηλεκτρονίου. Ωστόσο παρά το γεγονός ότι η σύγχρονη πειραματική φυσική κατόρθωσε να αναγνωρίσει και να βρει ελεύθερα λεπτοφυή σωματίδια, όπως το *νετρίνο*, εν τούτοις δεν κατέστη δυνατόν να βρει τα κουάρκ σε ελεύθερη κατάσταση. Υπάρχουν πολύ απτοί λόγοι της θεωρητικής φυσικής για τους οποίους αποφαινόμαστε ότι είναι αδύνατον να βρούμε απομονωμένα κουάρκ και τους οποίους δεν μπορούμε να αναλύσουμε εδώ, καθώς αυτό εκφεύγει κατά πολύ από τα όρια της μελέτης μας.

Τα πρωτόνια και τα νετρόνια, που συμμετέχουν στον σχηματισμό ενός ατόμου συνενώνονται μεταξύ τους μέσω κατάλληλων δυνάμεων για να σχηματίσουν μια σημειακή περιοχή λίαν πυκνής ύλης, η οποία αποτελεί το υλικό κέντρο του ατόμου και λέγεται

πυρήνας. Οι διαστάσεις του πυρήνα είναι της τάξης το 10^{-15} m. Πέριξ του πυρήνα περιστρέφονται τα ηλεκτρόνια σε διαφορετικές στιβάδες οι οποίες ξεκινώντας από το επίπεδο του πυρήνα ως K, L, M, N, O, P, Q, R.

Κάθε στιβάδα μπορεί να περιέχει ένα συγκεκριμένο μέγιστο αριθμό ηλεκτρονίων και είναι σταθερή όταν τα ηλεκτρόνια που περιέχει είναι συνεζευγμένα ανά ζεύγη σε περιοχές χώρου που ονομάζονται τροχιακά. Κάθε τροχιακό μπορεί να περιέχει μόνον δύο ηλεκτρόνια και θεωρείται ενεργειακά σταθερό όταν τα ανύσματα των ιδιοστροφορμών των εν λόγω ηλεκτρονίων είναι αντιπαράλληλα. Κάθε ηλεκτρονική στιβάδα συμπληρώνεται με έναν συγκεκριμένο αριθμό ηλεκτρονίων, που σχετίζεται με την μάζα του πυρήνα του θεωρούμενου ισότοπου του εκάστοτε στοιχείου και συγκεκριμένα με τον ατομικό αριθμό, δηλαδή τον αριθμό των πρωτονίων του. Ο νόμος πλήρωσης εκάστης στιβάδας δίνεται από εξίσωση. Αν θεωρήσουμε ότι η διάμετρος του πυρήνα έχει διαστάσεις 10^{-15} m, τα ηλεκτρόνια μπορούν να κατανέμονται σε σφαιροειδείς χώρους που φθάνουν μέχρι την διάμετρο των 10^{-10} m από τον πυρήνα. Η απόσταση αυτή είναι πολύ μεγάλη σε σύγκριση με την διάμετρο του πυρήνα.

Το αρνητικό φορτίο του πυρήνα έχει ακριβώς το ίδιο μέτρο (απόλυτη τιμή) με το θετικό φορτίο του πρωτονίου. Ο αριθμός των ηλεκτρονίων σε ένα ουδέτερο ηλεκτρικώς άτομο ισούται με τον αριθμό των πρωτονίων που ευρίσκονται στον πυρήνα αυτού, οπότε το συνολικό ηλεκτρικό φορτίο, δηλαδή το αλγεβρικό άθροισμα όλων των φορτίων, είναι μηδέν.

Ο αριθμός των πρωτονίων (ή των ηλεκτρονίων) ενός ηλεκτρικώς ουδέτερου ισότοπου στοιχείου καλείται **ατομικός αριθμός** του στοιχείου αυτού και εκπροσωπεί την θέση του στον Περιοδικό Πίνακα των Στοιχείων. Όταν από ένα στοιχείο – που τελεί υπό κατάσταση ηλεκτρικής ουδετερότητας – αφαιρούνται ένα ή περισσότερα ηλεκτρόνια, τότε η ηλεκτρική ουδετερότητα του συγκεκριμένου ισότοπου του καταργείται και το συγκεκριμένο άτομο εμφανίζει πλεόνασμα θετικού φορτίου, ίσο αριθμητικά με τα ηλεκτρόνια που απομακρύνθηκαν. Το εν λόγω άτομο είναι ένα **θετικό ιόν** ή **κατιόν**. Η αρχή της διατήρησης του φορτίου δηλώνει εμπειρικά ότι δεν είναι δυνατόν να δημιουργηθεί ηλεκτρικό φορτίο, ούτε επίσης να εκμηδενιστεί. Αντιθέτως το άτομο κάποιου ισότοπου ενός στοιχείου μπορεί να αποκτήσει αρνητικό φορτίο όταν δέχεται ένα ή περισσότερα ηλεκτρόνια στην εξώτατη στιβάδα – την στιβάδα σθένους, στο βαθμό που έχει κενές θέσεις στα τροχιακά της. Με τον τρόπο αυτό το άτομο του ισότοπου

μετατρέπεται σε ένα *αρνητικό ιόν*, ή *κατιόν*. Το φαινόμενο κατά το οποίο λαμβάνει χώρα απώλεια ή πρόσληψη ηλεκτρονίων ονομάζεται γενικά *ιοντισμός* και αποτελεί ένα εκτεταμένο φαινόμενο στην φύση, ιδιαίτερος σημαντικό για την λειτουργία των βιολογικών συστημάτων, με έμφαση στο επίπεδο του κυττάρου, των ιστών, των οργάνων και του συνολικού οργανισμού.

Τα στοιχειώδη σωματίδια που απαρτίζουν συνολικά τα άτομα, δηλαδή το ουδετερόνιο, το πρωτόνιο και το ηλεκτρόνιο εμφανίζουν διαφορετικές μάζες οι οποίες έχουν ως εξής:

1^ο) μάζα του ουδετερονίου: $m_n = 9,1093897[54] \times 10^{-31}$ kgf

2^ο) μάζα του πρωτονίου: $m_p = 1,6726231[10] \times 10^{-27}$ kgf

3^ο) μάζα του ηλεκτρονίου: $m_e = 1,6749286[10] \times 10^{-27}$ kgf

Οι αριθμοί που αναγράφονται μέσα στις αγκύλες εκφράζουν τις αντίστοιχες αβεβαιότητες υπολογισμού των δύο τελευταίων δεκαδικών ψηφίων των μαζών των τριών εν λόγω σωματιδίων. Είναι σημαντικό να υπογραμμιστεί ότι οι μάζες του πρωτονίου και του νετρονίου είναι πολύ όμοιες κατά προσέγγιση, ενώ υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ αυτών και της μάζας του ηλεκτρονίου. Η μάζα του πρωτονίου είναι προσεγγιστικά 2000 φορές μεγαλύτερη από την μάζα του ηλεκτρονίου, ενώ τα ηλεκτρικά τους φορτία είναι, κατ' απόλυτο τιμή ίσα και αντιθέτου προσήμου.

Γενικότερα στην Φυσική σε ό,τι αφορά το ηλεκτρικό φορτίο ισχύουν εμπειρικά και θεωρητικά τα ακόλουθα δύο αξιώματα:

1^ο) Το ηλεκτρικό φορτίο ακολουθεί έναν νόμο διατήρησης, όπως και η μάζα ενός σώματος.

2^ο) Η απόλυτη τιμή του φορτίου του ηλεκτρονίου ή του πρωτονίου, αποτελεί την μονάδα του ηλεκτρικού φορτίου στην συνολική φύση.

Βάσει των δύο αυτών αξιωματικών προτάσεων, ισχύουν τα εξής: Οποιαδήποτε ποσότητα και είδος φορτίου εμφανίζεται στην φύση προϋπήρχε αναγκαστικά, όπως επίσης θα υπάρχει πάντα, ανεξαρτήτως των μεταβολών που λαμβάνουν χώρα στην ύλη. Το φορτίο μπορεί να εξουδετερώνεται ηλεκτρικά, δηλαδή να εξισορροπεί με μια ίση ποσότητα ηλεκτρικού φορτίου αντιθέτου προσήμου, μέσα στο πλαίσιο ενός συστήματος, αλλά δεν υπάρχει τρόπος να έχουμε απόλυτο εκμηδενισμό του φορτίου. Αντίστοιχα, οποιοδήποτε

ποσότητα θετικού, ή αρνητικού φορτίου εμφανίζεται στο φυσικό σύμπαν, θα είναι ακέραιο πολλαπλάσιο αντιστοίχως του στοιχειώδους μοναδιαίου φορτίου του πρωτονίου, ή του ηλεκτρονίου, ανάλογα με το πρόσημο της φόρτισης.

Είναι σημαντικό να υπογραμμίσουμε ότι τα κουάρκ δεν ανευρίσκονται ελεύθερα στην φύση και συνεπώς δεν μπορούμε να βρούμε ηλεκτρικά φορτία μικρότερα του στοιχειώδους στον φυσικό κόσμο.

Είναι επίσης πολύ σημαντικό να υπογραμμίσουμε ότι οι δυνάμεις που κρατούν ενωμένα τα άτομα μέσα στα μόρια, στα κρυσταλλικά στερεά, στα μακρομόρια και στα οργανίδια των κυττάρων, σχετίζονται επίσης με τις δυνάμεις συνοχής και προσδιορίζουν την συμπεριφορά του ιξώδους και του κολλώδους. Ειδικότερα στα βιολογικά όντα όλες οι δυνάμεις που συνέχουν κύτταρα, ιστούς, όργανα και συστήματα μέσα στις ανατομικές δομές είναι εν τέλει ηλεκτρικές δυνάμεις και εν γένει δυνάμεις ασθενούς αλληλεπίδρασης.

Από την άλλη πλευρά φαίνεται ότι υπάρχει ένας χωρικός περιορισμός της ελκτικής και απωστικής αλληλεπίδρασης ηλεκτρικού τύπου. Ο περιορισμός αυτός υποδεικνύει ότι σε πολύ εγγύς γειτνιάσεις, δηλαδή της τάξης μεγέθους του πυρήνα ενός ατόμου και μικρότερης, ο νόμος του Coulomb φαίνεται να μην ισχύει. Δηλαδή ο νόμος αυτός αν ίσχυε είναι φανερό ότι τα πρωτόνια, εξ αιτίας του θετικού ηλεκτρικού τους φορτίου και της ελάχιστης γεωμετρικής απόστασης του ενός από το άλλο, θα δεχόταν απωστικές ηλεκτρικές δυνάμεις κολοσσιαίες, δοθέντος ότι η διάμετρος του πυρήνα είναι της τάξης των 10^{-15} m (ίδε νόμος του Coulomb, σελίδα 17).

Συνεπώς αν ο νόμος του Coulomb ισχύει σε αποστάσεις μεταξύ φορτίων της τάξης των 10^{-15} m φαίνεται ότι οι πυρήνες των στοιχείων θα ήσαν αδύνατο να σταθεροποιηθούν διότι οι κολοσσιαίες απωστικές δυνάμεις που ασκούνται μεταξύ των ομώνυμα (θετικά) φορτισμένων πρωτονίων του πυρήνα θα απομάκρυναν με τρόπο βίαιο τα πρωτόνια.

Από αυτό το δεδομένο εξάγεται το συμπέρασμα ότι ή ο νόμος του Coulomb δεν ισχύει σε χώρους αυτής της τάξης μεγέθους, ή, εναλλακτικά, πρέπει να ασκείται μεταξύ όλων των σωματιδίων του πυρήνα (πρωτονίων – πρωτονίων, πρωτονίων – νετρονίων και νετρονίων – νετρονίων) κάποια άλλη δύναμη, ελκτικής φύσης, η οποία αθροιζόμενη διανυσματικά με την απωστική δύναμη Coulomb – μεταξύ των πρωτονίων – να δίνει μια συνισταμένη ισχυρής έλξης μεταξύ των σωματιδίων του πυρήνα. Η ελκτική αυτή δύναμη, που σταθεροποιεί τους πυρήνες των στοιχείων, έχει ονομαστεί **πυρηνική δύναμη** κι αποτελεί

μια σημαντική παράμετρο συνοχής και σταθεροποίησης των ατομικών πυρήνων σε κλίμακα, κατά τα φαινόμενα, συμπαντική. Η πυρηνική δύναμη ανήκει σε εκείνες τις αλληλεπιδράσεις που ονομάζονται **ισχυρές**. Η ισχυρή πυρηνική δύναμη έχει πολύ μικρή εμβέλεια και οι δράσεις της εξαντλούνται ταχέως λίγο μακρύτερα από τον ατομικό πυρήνα.

Ο νόμος του Coulomb

Ο Κάρολος Αυγουστίνος Κουλόμπ (Charles Augustin Coulomb) που έζησε μεταξύ του 1736 – 1806, μελέτησε τις δυνάμεις οι οποίες ασκούνται μεταξύ ηλεκτρικώς φορτισμένων σωμάτων, χρησιμοποιώντας κατά κύριο λόγο ως εργαλείο του τον ζυγό στρέψης, τον οποίο χρησιμοποίησε λίγα χρόνια μετά και ο Cavendish για την μελέτη της βαρυτικής αλληλεπίδρασης. Τόσο η ηλεκτρική και η ηλεκτρική δύναμη ανήκουν στις λεγόμενες ασθενείς αλληλεπιδράσεις – με ασθενέστερη την βαρυτική αλληλεπίδραση. Ο Coulomb, μελετώντας σημειακά φορτία, διαπίστωσε ότι η ηλεκτρική δύναμη είναι ανάλογη του $1/r^2$, δηλαδή, όταν η απόσταση διπλασιάζεται, η ασκούμενη μεταξύ σημειακών φορτίων ηλεκτρική δύναμη υποτετραπλασιάζεται, κ.τ.λ. Η ηλεκτρική δύναμη εξαρτάται από το φορτίο του κάθε σώματος, συμβολιζόμενο με q ή Q .



Charles Augustin Coulomb (1736 – 1806)

Ο Coulomb προκειμένου να μελετήσει τις μεταβολές των δυνάμεων που αναπτύσσονται μεταξύ ηλεκτρικά φορισμένων χρησιμοποίησε ένα πειραματικό μοντέλο στο οποίο το ηλεκτρικό φορτίο χωριζόταν σε δύο ίσα μέρη. Αυτό επιτυγχανόταν χρησιμοποιώντας έναν φορισμένο μικρό σφαιρικό αγωγό, τον οποίο έφερνε σε επαφή με μια απaráλλαχτη και αφόρτιστη σφαίρα, φτιαγμένη από το ίδιο υλικό με την προηγούμενη. Με τον τρόπο αυτό το ηλεκτρικό φορτίο διαμοιραζόταν εξ ίσου μεταξύ των δύο σφαιρών. Μπορούσε έτσι να

μελετήσει τις δυναμικές αλληλεπιδράσεις του μισού, του ενός τετάρτου, του ενός ογδούου κ.τ.λ., οποιουδήποτε αρχικού ηλεκτρικού φορτίου. Μελετώντας τα υποπολλαπλάσια των φορτίων διαπίστωσε ότι οι δυνάμεις οι οποίες ασκούνται μεταξύ δύο φορτίων σημειακών q_1 και q_2 είναι ανάλογες καθενός φορτίου και συνεπώς είναι ανάλογες του γινομένου τους $q_1 q_2$. Από την όλη μελέτη βγήκε το συμπέρασμα ότι δύο σημειακά φορτία q_1 και q_2 σε απόσταση r μεταξύ τους, εξασκούν το ένα επί του άλλου ηλεκτρική δύναμη της οποίας το μέτρο F προσδιορίζεται από την σχέση:

$$\mathbf{F} = \mathbf{k} \cdot |q_1 \cdot q_2| / r^2 \quad (1),$$

όπου k είναι σταθερά αναλογίας της οποίας η αριθμητική τιμή εξαρτάται από το σύστημα μονάδων που χρησιμοποιούμε στον σχετικό πειραματισμό. Η εξίσωση (1) είναι η μαθηματική διατύπωση του νόμου του Coulomb, ο οποίος έχει ως εξής:

Το μέτρο της δύναμης που προκύπτει από την αλληλεπίδραση δύο σημειακών φορτίων, είναι ανάλογο του γινομένου των φορτίων και αντιστρόφως ανάλογο του τετραγώνου της μεταξύ τους απόστασης.

Οι δύο δυνάμεις που εφαρμόζονται στα αλληλοεπιδρώντα σημειακά φορτία έχουν κοινό γραμμικό φορέα και διευθύνσεις αντίθετες αλλά κατά μέτρο ίσες, ακόμη και όταν τα φορτία που τις δημιουργούν είναι άνισα ως προς το μέτρο τους. Οι δυνάμεις αυτές ακολουθούν τον τρίτο νόμο του Νεύτωνα. Γενικότερα η ηλεκτρική δύναμη ως φυσικό μέγεθος διακρίνεται από τα εξής χαρακτηριστικά:

1^{ον}) Δημιουργείται πάντα μεταξύ σωμάτων (σημείων) που φέρουν ηλεκτρικό φορτίο. Είναι σημαντικό το σώμα να μπορεί να αντιπροσωπεύεται από ένα υλικό σημείο το οποίο περιέχει και όλη την μάζα του σώματος.

2^{ον}) Όταν τα φορτία που δημιουργούν τις ηλεκτρικές δυνάμεις είναι ομώνυμα, τότε τα υλικά σημεία τα φέροντα φορτία, απωθούνται.

3^{ον}) Όταν τα ηλεκτρικά φορτία είναι ετερόνυμα τότε τα υλικά σημεία που φέρουν τα φορτία έλκονται.

4^{ον}) Στην εξίσωση (1) απαιτείται το σύμβολο της απόλυτης τιμής, καθόσον το F αποτελεί το μέτρο διανυσματικού μεγέθους που είναι πάντα θετικό εξ ορισμού. Βεβαίως το γινόμενο $q_1 q_2$ είναι πάντα αρνητικό, όταν τα φορτία είναι ετερόνυμα.

5^{ον}) Η ηλεκτρική δύναμη είναι ανάλογη προς την ποσότητα $1/r^2$ και ο εκθέτης του r είναι 2 ακριβώς.

6^{ον}) Οι ηλεκτρικές δυνάμεις μοιάζουν με τις δυνάμεις της βαρύτητας και ο τύπος υπολογισμού τους είναι όμοιος. Ωστόσο οι ηλεκτρικές δυνάμεις μπορεί να είναι απωστικές ή ελκτικές, ενώ στην βαρύτητα οι δυνάμεις είναι πάντα ελκτικές.

7^{ον}) Όταν δύο φορτία ασκούν ταυτόχρονα δυνάμεις σε ένα τρίτο φορτίο, η ολική δύναμη επί αυτού είναι το διανυσματικό άθροισμα των δυνάμεων που θα ασκούσε επάνω του κάθε ένα φορτίο θεωρούμενο ξεχωριστά. Δηλαδή κι εδώ η συνισταμένη εξάγεται με την **αρχή της επαλληλίας**. Ο νόμος του Coulomb αφορά τις αναπτυσσόμενες δυνάμεις επί δύο σημειακών φορτίων, αλλά με την χρήση της αρχής της επαλληλίας μπορεί να τον εφαρμόσουμε σε οποιοδήποτε πλήθος σημειακών φορτίων.

8^{ον}) Για να μιλήσουμε απόλυτα ο νόμος του Coulomb, στην εδώ διατύπωσή του, θα έπρεπε να χρησιμοποιείται μόνο για σημειακά φορτία ευρισκόμενα στο κενό, κι όχι παρουσία ατμόσφαιρας. Όταν ανάμεσα στα δύο φορτία δεν παρεμβάλλεται το κενό, αλλά κάποιο υλικό μέσο, τότε η συνολική δύναμη που ασκείται σε κάθε φορτίο είναι διαφορετική καθόσον επάγονται φορτία στα μόρια του υλικού που παρεμβάλλεται, τα οποία αλλάζουν τις δυνάμεις. Προσεγγιστικά μπορούμε να εφαρμόσουμε τον νόμο του Coulomb αμετάβλητο και στην κανονική ατμόσφαιρα, όταν πρόκειται για σημειακά φορτία. Οι μετρήσεις έχουν δείξει ότι σε κανονική ατμοσφαιρική πίεση η παρουσία του αέρα μεταβάλλει την τιμή της ηλεκτρικής δύναμης μόνο κατά ένα μέρος στα 2000 σε σχέση με την τιμή που θα λάμβανε στο απόλυτο κενό.

9^{ον}) Η τιμή της σταθεράς k στον νόμο του Coulomb εξαρτάται από το σύστημα μονάδων που χρησιμοποιούμε. Εργαζόμενοι στο σύστημα SI, προκύπτουν γνωστές ηλεκτρικές μονάδες, όπως το volt (V), το ampere (A), το ohm (Ω), και το watt (W). Η μονάδα SI του ηλεκτρικού φορτίου είναι το Coulomb (C). Η τιμή της σταθεράς k στο σύστημα SI είναι:

$$k = 8,987551787 \times 10^9 \text{ N.m}^2/\text{C}^2 = 8,988 \times 10^9 \text{ N.m}^2/\text{C}^2.$$

Μπορούμε να μετρήσουμε την δύναμη αλληλεπίδρασης μεταξύ δύο ίσων φορτίων q ευρισκόμενων σε γνωστή απόσταση r και να χρησιμοποιήσουμε τον νόμο του Coulomb για να προσδιορίσουμε το φορτίο. Για λόγους όμως πειραματικής ακρίβειας μας συμφέρει να ορίσουμε το coulomb μέσω της βοήθειας της μονάδας ηλεκτρικού ρεύματος (φορτίο ανά μονάδα χρόνου), που είναι το ampere και ισούται με coulomb ανά δευτερόλεπτο.

Η τιμή της σταθεράς k συνδέεται στενά με την ταχύτητα του φωτός. Η ταχύτητα αυτή ορίζεται ακριβώς από την σχέση:

$$c = 2,99792459 \times 10^8 \text{ m/sec} \quad (2)$$

Η αριθμητική τιμή του k ορίζεται να είναι ακριβώς $k = (10^{-7} \text{ N}\cdot\text{s}^2/\text{C}^2)\cdot c$

Σε μονάδες SI η σταθερά k γράφεται και ως $1/4\pi\epsilon_0$

Συνεπώς ο νόμος του Coulomb γράφεται με την εξής μορφή:

$$F = 1/4\pi\epsilon_0 q_1 q_2 / r^2, \text{ όπου } 1/4\pi\epsilon_0 = k = 8,988 \times 10^9 \text{ N}\cdot\text{m}^2/\text{C}^2$$

$$\epsilon_0 = 8,854 \times 10^{-12} \text{ C}^2/\text{N}\cdot\text{m}^2$$

Η θεμελιώδης μονάδα φορτίου είναι το μέτρο του φορτίου του ηλεκτρονίου ή του πρωτονίου. Η τιμή του e είναι ίση προς: $e = 1,69217733(49) \times 10^{-19} \text{ C}$. Ένα coulomb είναι το ολικό φορτίο περίπου 6×10^{18} ηλεκτρονίων, αλλά με πρόσημο αρνητικό.

Η μονάδα coulomb είναι πολύ μεγάλη. Για να δούμε το μέγεθός της πρέπει να κάνουμε ένα υπολογισμό χρησιμοποιώντας τα βασικά μεγέθη του συστήματος SI: Δύο φορτία μεγέθους 1 C έкаστο ασκούν δυνάμεις το ένα επί του άλλου μέτρου $9 \times 10^9 \text{ N}$, οι οποίες είναι της τάξης του ενός εκατομμυρίου τόνων. Συνεπώς σε ό,τι αφορά τις μετρήσεις φορτίων στο σύστημα SI τα υποπολλαπλάσια της μονάδας C είναι πρακτικά τα microcoulomb και nanocoulomb ($1\mu\text{C} = 10^{-6} \text{ C}$ & $1\text{nC} = 10^{-9} \text{ C}$). Στην καθημερινή πράξη χρησιμοποιούνται πολύ μικρά υποπολλαπλάσια του Coulomb, συνήθως από το 1nC και παρακάτω.

Σημειώτεον ότι ακόμη και ένα μικρό υλικό σώμα εμπεριέχει πολύ μεγάλες ποσότητες ηλεκτρικών φορτίων στην ηλεκτρικώς ουδέτερη κατάσταση. Π.χ ένας μικρός μέταλλινος κύλινδρος τεράστια ποσότητα ηλεκτρικού φορτίου, η οποία προσεγγίζει τα 10^5 C , οπότε αντιλαμβανόμαστε πόσο μεγάλες δυνάμεις πρέπει να χρησιμοποιηθούν προκειμένου να διαταραχθεί σημαντικά η ηλεκτρική ουδετερότητα της ύλης.

Το ηλεκτρικό πεδίο

Γενικά ορίζουμε ως ηλεκτρικό πεδίο τον γεωμετρικό χώρο μέσα στον οποίο ασκούνται ηλεκτρικές δυνάμεις επί παντός ηλεκτρικού φορτίου που εισέρχεται μέσα στον εν λόγω χώρο. Γενικά το ηλεκτρικό πεδίο αναπτύσσεται πέριξ ενός ηλεκτρικού

φορτίου, ή μεταξύ ηλεκτρικών φορτίων τοποθετημένων με κάποια διάταξη τυχαία, ή και εθελούσια, στον γεωμετρικό χώρο. Φυσικά αυτό ισχύει τόσο για φορτία σταθερά, όσο και για φορτία που ευρίσκονται εν κινήσει.

Συνεπώς η ανάδυση ενός ηλεκτρικού φορτίου μέσα στον χώρο προκαλεί μια σημαντική τροποποίηση των ιδιοτήτων του χώρου αυτού, ώστε να εμφανίζονται πάντα ηλεκτρικές δυνάμεις επί φορτισμένων σωμάτων ή σημείων τα οποία είναι έδρες φορτίων. Για να διαπιστώσουμε αν σε έναν χώρο υφίσταται ένα ηλεκτρικό πεδίο χρησιμοποιούμε την παρουσία ενός μικρού φορτισμένου σώματος που ονομάζεται **δοκιμαστικό φορτίο q'** . Αν το δοκιμαστικό φορτίο αρχίσει να κινείται ελεύθερα κι επιταχυνόμενα ή επιβραδυνόμενα μέσα στον χώρο, τότε υπάρχει εκεί ηλεκτρικό πεδίο E (όπου E το διανυσματικό μέγεθος της έντασης του πεδίου σε συγκεκριμένο σημείο αυτού). Αν το δοκιμαστικό φορτίο παραμείνει ακίνητο ή ακολουθήσει μια τυχαία κινητική πορεία μέσα στον χώρο, χωρίς στοιχεία προτίμησης να σταθμεύσει ή να κινηθεί εκλεκτικά και κατ' επανάληψη προς μια περιοχή ή ένα σημείο, αφού απομακρυνθεί από αυτό, τότε συμπεραίνουμε ότι δεν υπάρχει στον συγκεκριμένο χώρο ηλεκτρικό πεδίο. Η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου σε ένα σημείο A του συνολικού χώρου που αυτό καταλαμβάνει ορίζεται ως εξής:

$$\mathbf{E} = \mathbf{F}'/q' \text{ ή } \mathbf{F}' = q' \mathbf{E} \quad (3)$$

Το δοκιμαστικό φορτίο q' μπορεί να είναι θετικό ή αρνητικό. Αν είναι θετικό τότε οι κατευθύνσεις των \mathbf{E} και \mathbf{F}' είναι ομόρροπες, ενώ αν είναι αρνητικό τότε είναι αντίρροπες. Εργαζόμενοι πάντα στο Διεθνές Σύστημα Μονάδων (SI or MKSA), λαμβάνοντας ως μονάδα δύναμης το Newton (N), και μονάδα φορτίου το coulomb, η μονάδα έντασης ηλεκτρικού πεδίου είναι το newton/coulomb (1N/C). Η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου μεταβάλλεται ως διανυσματικό μέγεθος από γεωμετρικό σημείο σε γεωμετρικό σημείο αυτού, οπότε δεν είναι ένα σταθερό διάνυσμα, αλλά ένα απειροσύνολο διανυσμάτων τα οποία διαφέρουν από σημείο σε σημείο ως προς τις διευθύνσεις και το μέτρο τους. Το ηλεκτρικό πεδίο συνεπώς, είναι ένα τυπικό παράδειγμα διανυσματικού πεδίου, εντελώς ανάλογο προς το πεδίο βαρύτητας. Ένας ορθός μαθηματικός τρόπος να προσδιορίζουμε τις μεταβολές της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου είναι η χρήση του συστήματος των τυπικών ορθογώνιων καρτεσιανών συντεταγμένων x, y, z , οπότε κάθε σημείο του πεδίου έχει μια προσδιοριζόμενη ένταση σύμφωνα με τις συντεταγμένες και την ειδική βαθμονόμησή τους. Με την χρήση του καρτεσιανού συστήματος ορθογώνιων συντεταγμένων κάθε μία

συνιστώσα της E σε κάθε σημείο του πεδίου είναι συνάρτηση των συντεταγμένων x, y, z . Οι συναρτήσεις αυτές μπορούν να παρασταθούν ως $E_x(x, y, z), E_y(x, y, z), E_z(x, y, z)$. Η μορφολογία των δυναμικών πεδίων είναι πολύ σημαντική για την περιγραφή τους, κι αποτελεί μια σπουδαία διατύπωση φυσικών οντοτήτων, όπως ο ηλεκτρισμός, ο μαγνητισμός και η βαρύτητα, οπότε πρέπει να υπάρχει εξοικείωση με αυτές τις έννοιες και τον σχετικό μαθηματικό φορμαλισμό. Όταν σε ένα χώρο αναπτύσσονται περισσότερα του ενός ηλεκτρικά πεδία από σημειακά φορτία, τότε η ένταση σε κάθε γεωμετρικό σημείο του ολικού συνιστάμενου πεδίου είναι ίση με το διανυσματικό άθροισμα των εντάσεων εκάστου των θεωρούμενων ηλεκτρικών πεδίων στο συγκεκριμένο σημείο. Δηλαδή σε ένα σημείο P_1 του γεωμετρικού χώρου του πεδίου, με συντεταγμένες $P_1(x_1, y_1, z_1)$, η ολική ένταση του συνιστάμενου πεδίου είναι ίση με το διανυσματικό άθροισμα των επί μέρους εντάσεων των ηλεκτρικών πεδίων και συγκεκριμένα:

$$E_{1(P_1)} = E_{2(P_1)} + E_{3(P_1)} + E_{4(P_1)} + \dots + E_{n(P_1)}$$

Ο εν λόγω μαθηματικός τύπος βασίζεται στην αρχή της επαλληλίας η οποία ισχύει για κάθε φυσικό φαινόμενο που μελετά τις αλληλεπιδράσεις ξεχωριστών φυσικών μεγεθών που υπάρχουν σε έναν φυσικό γεωμετρικό χώρο.

Δύο πολύ σημαντικά δεδομένα που υποχρεούμαστε να λάβουμε υπόψιν μας για την ορθότερη θεώρηση του ορισμού της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου σε ένα σημείο του χώρου που αναπτύσσεται είναι τα εξής:

1^{ον}) ο νόμος του Coulomb δηλώνει ότι η ηλεκτρικές δυνάμεις εξασθενούν με μαθηματική μείωση που ακολουθεί την πορεία μιας γεωμετρικής προόδου καθώς η απόσταση r μεταξύ των αλληλοεπιδρώντων φορτίων τείνει προς το άπειρο.

2^{ον}) Ο ίδιος νόμος υποδεικνύει ότι οι ηλεκτρικές δυνάμεις, οι οποίες ασκούνται επί των φορτίων που αλληλεπιδρούν μέσω του ηλεκτρικού πεδίου που δημιουργείται πέριξ αυτών, τείνει προς μια τιμή άπειρου μέτρου καθώς τα φορτία συμπλησιάζουν και η μεταξύ τους απόσταση τείνει να μηδενιστεί.

Επίσης όταν το σώμα που χρησιμοποιούμε για να δημιουργήσουμε ένα ηλεκτρικό πεδίο είναι αγωγίμο, τότε η χρήση ενός δοκιμαστικού φορτίου προκαλεί την ανάπτυξη δυνάμεων μεταξύ του ηλεκτρισμένου σώματος – αγωγού που γεννά το πεδίο και του δοκιμαστικού φορτίου q' . Αυτό σημαίνει ότι, οσοδήποτε μικρό και αν είναι το δοκιμαστικό φορτίο q , αυτό ασκεί

δυνάμεις επί του σώματος που αποτελεί την γεννήτρια του πεδίου και συνεπώς οι δυνάμεις αυτές θα μετακινήσουν τα ηλεκτρόνια εντός του αγωγού, οπότε θα αλλάξουν και τις εντάσεις του πεδίου, το οποίο θέλουμε να υπολογίσουμε. Οπότε η μέτρηση της έντασης του πεδίου καθίσταται προβληματική διότι όσο απομακρύνεται το δοκιμαστικό φορτίο τόσο η εσωτερική ανακατανομή των φορτίων, λόγω επαγωγής, διαφοροποιείται ως προς την θέση της ισορροπίας τους, ενώ όταν το δοκιμαστικό φορτίο πλησιάζει προς το σώμα – γεννήτρια του πεδίου επίσης λόγω επαγωγής διαφοροποιείται και το πεδίο. Συνεπώς είναι λογικό να θεωρήσουμε ότι τα δοκιμαστικά φορτία πρέπει να είναι πολύ μικρά ώστε οι ηλεκτρικές δυνάμεις εξ επαγωγής να περιορίζονται. Βεβαίως το γεωμετρικό όριο του σώματος που γεννά το πεδίο αποτελεί το όριο μετακίνησης των εσωτερικών του ελεύθερων ηλεκτρονίων, οπότε αυτό μας επιβοηθεί στο να γνωρίζουμε τα άκρα των αλληλοεπιδράσεων, δηλαδή η κύμανση των ηλεκτρικών δυνάμεων εξ επαγωγής είναι οριζόμενη από το γεωμετρικό όριο του αγωγού σώματος που λειτουργεί ως γεννήτρια του πεδίου. Σε όλες τις περιπτώσεις η μαθηματική διατύπωση που χρησιμοποιήσαμε ανωτέρω εκλεπτύνεται και λαμβάνει την ακόλουθη μορφή:

$$E' = \lim F' / \text{δοκιμαστικού φορτίου } q', q' \rightarrow 0 \quad (3)$$

Συνεπώς μπορούμε να έχουμε μια ουσιαστική τυπολογία μόνον όταν χρησιμοποιούμε πολύ μικρά δοκιμαστικά φορτία αντίχνευσης πεδίων. Αυτό το δηλώνουμε στην μαθηματική παράσταση με τον όρο $\lim q' \rightarrow 0$, οπότε στην συγκεκριμένη περίπτωση η ηλεκτρική εξ επαγωγής αναπτυσσόμενη δύναμη, λόγω του δοκιμαστικού φορτίου θα τείνει προς το μηδέν οπότε η ανακατανομή των εσωτερικών φορτίων του σώματος γένεσης του προς μέτρηση πεδίου τείνει επίσης να είναι αμελητέα ή μηδενική.

Το μέτρο και η κατεύθυνση ενός πεδίου μεταβάλλονται γενικά από σημείο σε σημείο επί όλου του γεωμετρικού χώρου στον οποίο εκτείνεται το πεδίο, ο οποίος – σύμφωνα με τον νόμο του Coulomb – μηδενίζεται στο άπειρο, οπότε να μεν ένα ηλεκτρικό πεδίο εξασθενεί, αλλά ουδέποτε μηδενίζεται θεωρητικά. Στην περίπτωση όπου η ένταση και η κατεύθυνση του πεδίου σε μία περιοχή του χώρου διάχυσής του είναι σταθερά, τότε χαρακτηρίζουμε το πεδίο αυτό ως **ομογενές**. Π.χ το ηλεκτρικό πεδίο το οποίο αναπτύσσεται μεταξύ των παράλληλων πλακών οπλισμού ενός πυκνωτή είναι ένα **ομογενές ηλεκτρικό πεδίο**. Στο εσωτερικό ενός σώματος μπορεί να σχηματίζεται επίσης ηλεκτρικό πεδίο, λόγω επαγωγικού διαχωρισμού φορτίων, όπως προαναφέραμε, ή λόγω άλλων μηχανισμών, τους οποίους θα δούμε αναλυτικά παρακάτω, όταν αναλάβουμε την παρουσίαση της βιοφυσικής πλευράς των ηλεκτρικών φαινομένων στα ζωντανά συστήματα, δηλαδή στα φυτά και στα ζώα.

Ωστόσο, όταν μελετούμε προβλήματα της Ηλεκτροστατικής (κι όχι της ηλεκτροδυναμικής) θεωρούμε πάντα εξ ορισμού ότι *τα φορτία δεν κινούνται*. Συνεπώς σε όλες τις θεωρήσεις της ηλεκτροστατικής το ηλεκτρικό πεδίο στο εσωτερικό του σώματος αναγκαστικά *πρέπει να είναι μηδενισμένο*. Γενικότερα στην ηλεκτροστατική χρησιμοποιούμε κατ' εξοχήν σώματα που λειτουργούν ως μονωτές και συνεπώς τα ελευθέρως κινούμενα φορτία δεν υπάρχουν καθόσον είναι ακινητοποιημένα στις δομικές μονάδες του χρησιμοποιούμενου υλικού.

Όταν μελετούμε ένα ηλεκτρικό πεδίο το οποίο παράγεται από μια σημειακή πηγή, φέρουσα φορτίο q , ακολουθούμε πάντα μια κοινή μεθοδολογία προκειμένου να προσδιορίσουμε το ηλεκτρικό πεδίο, η οποία έχει ως εξής:

1^{ον}) Καλούμε σημείο πηγής την γεωμετρική θέση του σημειακού φορτίου μέσα στον χώρο και το ονομάζουμε S .

2^{ον}) Καλούμε σημείο πεδίου P την θέση του χώρου στην οποία θέλουμε να προσδιορίσουμε την ένταση E του πεδίου.

3^{ον}) Χρησιμοποιούμε ένα μοναδιαίο διάνυσμα \hat{r} με διεύθυνση από το σημείο S του φορτίου προς το θεωρούμενο σημείο P του πεδίου E . Αν τοποθετήσουμε ένα πολύ μικρό δοκιμαστικό ηλεκτρικό φορτίο q' στο σημείο P του πεδίου σε μια απόσταση r από το σημείο της πηγής, τότε η δύναμη F' δίνεται από τον νόμο του Coulomb ως εξής:

$$F' = (1/4\pi\epsilon_0) \times (|q \cdot q'|/r^2) \quad (3)$$

Εφαρμόζοντας την εξίσωση (3) στην περίπτωση του υπολογισμού της έντασης του πεδίου στο θεωρούμενο σημείο P βρίσκουμε:

$$E = (1/4\pi\epsilon_0) \times (q/r^2). \quad (4)$$

Χρησιμοποιώντας το μοναδιαίο διάνυσμα \hat{r} μπορούμε να διατυπώσουμε μια διανυσματική εξίσωση που δίνει ταυτόχρονα το μέτρο και την κατεύθυνση του ηλεκτρικού πεδίου E ως εξής:

$$E = (1/4\pi\epsilon_0) \times (q/r^2)(\hat{r}). \quad (5)$$

Τέλος από εδώ και στο εξής θα χρησιμοποιούμε τον εξής πολύ σημαντικό εκ συμβάσεως σημειολογικό κανόνα σύμφωνα με τον οποίον το ηλεκτρικό πεδίο εκπέμπεται πάντα από ένα σώμα θετικού φορτίου και κατευθύνεται προς ένα αρνητικό φορτίο. Ο κανόνας αυτός

είναι πολύ σημαντικός για τον γραφικό σχεδιασμό των ηλεκτρικών πεδίων, όπως θα δούμε παρακάτω με την εισαγωγή της έννοιας και του σχεδιασμού των δυναμικών γραμμών των ηλεκτρικών πεδίων.

Σύνθεση ηλεκτρικών πεδίων και σχετικοί υπολογισμοί

Είναι σημαντικός ο υπολογισμός της σύνθεσης των ηλεκτρικών πεδίων τα οποία εκπηγάζουν από ποικίλες κατανομές ηλεκτρικών φορτίων. Η βασική εξίσωση που χρησιμοποιείται σε όλες αυτές τις περιπτώσεις είναι η εξίσωση (5), η οποία εκφράζει την ένταση ενός πεδίου που προκαλείται από σημειακό φορτίο. Συνεπώς όταν πρόκειται να υπολογίσουμε το συνιστάμενο ηλεκτρικό πεδίο, που προκύπτει από μια εκτεταμένη κατανομή ηλεκτρικών φορτίων, θεωρούμε ότι αυτή η κατανομή αναλύεται σε πολλά σημειακά φορτία $q_1, q_2, q_3, \dots, q_n$ και κατόπιν υπολογίζονται τα πεδία $E_1, E_2, E_3, \dots, E_n$, τα οποία προκαλούνται από τα αντίστοιχα φορτία και κατόπιν χρησιμοποιώντας την αρχή της επαλληλίας γίνεται το διανυσματικό τους άθροισμα προκειμένου να υπολογιστεί η συνολική ένταση E του συνιστάμενου πεδίου σε ένα συγκεκριμένο σημείο P αυτού. Δηλαδή ισχύει η διανυσματική εξίσωση:

$$E = E_1 + E_2 + E_3 + \dots + E_n$$

Είναι σημαντικό να θέσουμε μερικούς γεωμετρικούς τόπους για τους υπολογισμούς των πεδίων και συγκεκριμένα:

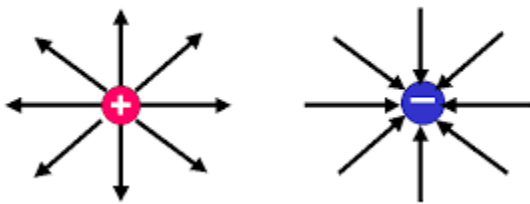
1^{ον}) Την **γραμμική κατανομή φορτίου** (όπου το συνολικό ηλεκτρικό φορτίο κατανέμεται επί μιας ευθείας γραμμής και στην περίπτωση αυτή μιλάμε για **γραμμική πυκνότητα φορτίου** (μονάδα C/m). Αναπαρίσταται με το γράμμα λ .

2^{ον}) Την **επιφανειακή κατανομή φορτίου**, όπου το φορτίο κατανέμεται επί μιας επιφάνειας, οπότε σε αυτή την περίπτωση μιλάμε για επιφανειακή πυκνότητα φορτίου, παριστάμενη με το σύμβολο σ που δηλώνει την επιφανειακή πυκνότητα φορτίου, δηλαδή το φορτίο ανά μονάδα επιφάνειας, μετρούμενο σε C/m^2 .

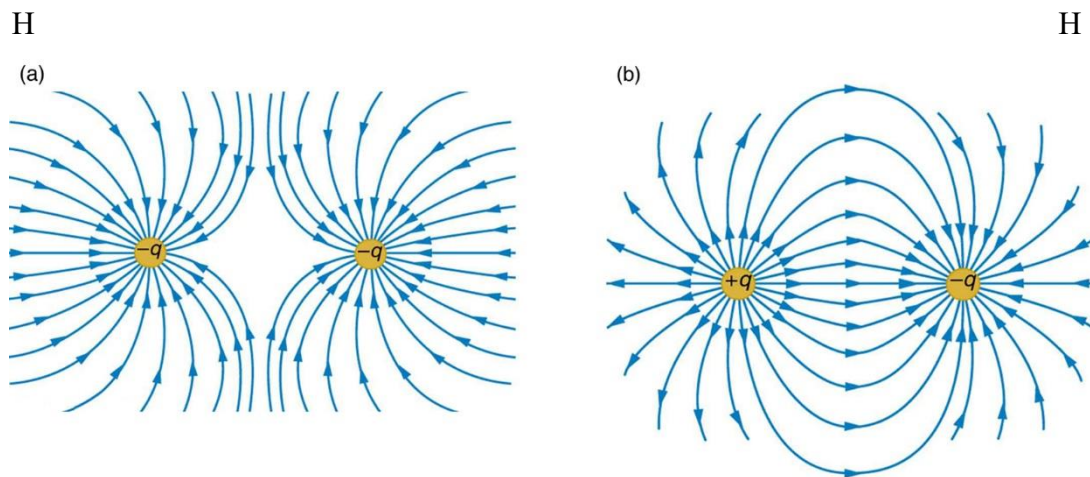
3^{ον}) Την **κατανομή φορτίου στον τρισδιάστατο χώρο**, όπου το ηλεκτρικό φορτίο ευρίσκεται τοποθετημένο σε έναν συγκεκριμένο όγκο, οπότε μιλάμε για **πυκνότητα φορτίου στον χώρο**, παριστάμενη με το σύμβολο ρ και μετρούμενη με C/m^3 .

Οι ηλεκτρικές δυναμικές γραμμές και η γραφική αναπαράσταση των ηλεκτρικών πεδίων

Μια δυναμική γραμμή ηλεκτρικού πεδίου είναι μια γραμμή σχεδιαζόμενη σε μια περιοχή του χώρου του πεδίου, κατά τρόπον ώστε σε κάθε σημείο αυτής να εφάπτεται το εκεί διάνυσμα του ηλεκτρικού πεδίου. Συνεπώς μια δυναμική γραμμή είναι ο γεωμετρικός τόπος των εφαπτομένων διανυσμάτων της έντασης του πεδίου σε κάθε σημείο μιας συνεχούς νοητής γραμμής. Συνεπώς το σύνολο των δυναμικών γραμμών μπορεί να περιγράψει καλά την διανυσματική δομή ενός ηλεκτρικού πεδίου. Οι δυναμικές γραμμές ή «γραμμές πεδίου» δείχνουν την κατεύθυνση του \mathbf{E} σε κάθε σημείο του πεδιακού χώρου, ενώ οι μεταξύ τους υπάρχουσες αποστάσεις μας δίνουν μια εικόνα για το μέγεθος της έντασης \mathbf{E} σε κάθε περιοχή του χώρου, όπου εκτείνεται ένα ηλεκτρικό πεδίο. Όπου το \mathbf{E} είναι ισχυρό, οι πεδιακές γραμμές είναι πυκνές, ενώ όπου εξασθενεί αυτές αραιώνουν. Επειδή ακριβώς ισχύει ότι σε κάθε σημείο του χώρου το τοπικό διάνυσμα \mathbf{E} είναι μοναδικό ως προς την διεύθυνσή του συνεπάγεται ότι και το σύνολο αυτών που ορίζει μια δυναμική γραμμή την καθιστά μοναδική και εξατομικευμένη. Συνεπώς οι δυναμικές γραμμές που παριστούν ένα ηλεκτρικό πεδίο **δεν τέμνονται ποτέ**. Οι εικόνες (1) και (2) δείχνουν την πορεία των δυναμικών γραμμών που σχηματίζονται από μεμονωμένα θετικά και αρνητικά φορτία.



Εικόνα 1. Η φορά των δυναμικών γραμμών των αντίστοιχων ηλεκτρικών πεδίων που σχηματίζονται από 1^{ον}) ένα σημειακό θετικό φορτίο (σχήμα ερυθρού χρώματος αριστερά, όπου βλέπουμε τις δυναμικές γραμμές να εξέρχονται από το φορτίο και 2^{ον}) από ένα αρνητικό φορτίο όπου βλέπουμε τις δυναμικές γραμμές να κατευθύνονται προς αυτό.



Εικόνα 2. Στην εικόνα 2 φαίνονται οι δυναμικές γραμμές δύο ηλεκτρικών πεδίων που προκαλούνται από την αλληλεπίδραση δύο σημειακών φορτίων: (a) Δυναμικές γραμμές δύο ηλεκτρικών πεδίων τα οποία σχηματίζονται από δύο ομώνυμα φορτία ίσου μέτρου. (b) Δυναμικές γραμμές δύο ηλεκτρικών πεδίων που σχηματίζονται από δύο φορτία ίσου μέτρου.

Η εικόνα (2) δείχνει την δομή ενός ηλεκτρικού πεδίου προκαλούμενο από δύο σημειακά φορτία. Οι δυναμικές γραμμές αναγκάζουν μια μεγάλη ποσότητα πολύ ελαφρών σπόρων γρασιδιού που επιπλέουν στο νερό του τρυβλίου να λάβουν μια συγκεκριμένη διάταξη στην επιφάνεια του ύδατος, δίδοντας έτσι την εικόνα της τοπικής δομής του σχηματιζόμενου ηλεκτρικού πεδίου. Η εισαγωγή των δυναμικών γραμμών έγινε πολύ παλαιά από τον Michel Faraday (1791 – 1867).



Michel Faraday (1791 – 1867)

Η φυσική οντότητα του ηλεκτρικού δίπολου και η γενίκευσή της

Το ηλεκτρικό δίπολο αποτελεί ένα απλό φυσικό ηλεκτρικό σύστημα, το οποίο ευρίσκεται πολύ διαδεδομένο στην φύση, καθώς απαντάται σε πλείστα όσα φυσικά αλλά και τεχνητά ηλεκτρικά συστήματα. Π.χ οι ραδιοφωνικές και τηλεοπτικές κεραίες, η εξωτερική και εσωτερική στιβάδα φωσφολιπιδίων – πρωτεϊνών των κυτταρικών μεμβρανών, ένα αναρίθμητο πλήθος μορίων, μεταξύ των οποίων και μόρια βιολογικής προέλευσης, αλλά και φάρμακα, οι πυκνωτές, αλλά και πολλές άλλες φυσικές και τεχνητές δομές είναι

ουσιαστικώς ηλεκτρικά δίπολα, οπότε αναγκαστικά υπακούουν και περιγράφονται από ένα συγκεκριμένο αριθμό εξισώσεων, τις οποίες παρουσιάζουμε εν συντομία στα επόμενα μέρη του συγκεκριμένου λήμματος. Εξ ορισμού ένα ηλεκτρικό δίπολο είναι ένα ζεύγος φορτίων ίσων και αντιθέτων, $+q$ και $-q$, τα οποία απέχουν μεταξύ τους μια σταθερή απόσταση l . Τα εύλογα ερωτήματα τα οποία τίθενται στην περίπτωση της μελέτης του ηλεκτρικού δίπολου είναι τα εξής:

1^{ov}) Όταν το δίπολο τίθεται εντός ενός ηλεκτρικού πεδίου εξωτερικού – συνεπώς ανεξάρτητου από το πεδίο αυτό καθαυτό του δίπολου – τι δυνάμεις αναπτύσσονται επάνω του, όπως επίσης τι ροπές, αλλά και του πώς θα αλλάξει η συμπεριφορά του δίπολου υπό την δράση του εξωτερικού πεδίου;

2^{ov}) Ποια είναι τα χαρακτηριστικά του πεδίου που αναπτύσσει αυτό καθαυτό το δίπολο, ως σύστημα ηλεκτρικών φορτίων;

Η ανάλυση των ερωτημάτων αυτών έχει ως εξής:

1^{ov}) Όταν οι ίσες και αντίθετες δυνάμεις που αναπτύσσονται επί των φορτίων του ζεύγους είναι συγγραμμικές, τότε η συνισταμένη τους μηδενίζεται.

2^{ov}) Όταν οι δύο δυνάμεις δεν είναι συγγραμμικές τότε η συνισταμένη τους δεν είναι μηδενική. Σε αυτή την περίπτωση η συνισταμένη **ροπή** τους δεν μηδενίζεται. Οι δυνάμεις αυτές συνιστούν συνεπώς ένα ζεύγος δυνάμεων το οποίο θα περιστρέψει το δίπολο.

3^{ov}) Αν η γωνία μεταξύ του ηλεκτρικού πεδίου E και του φορέα (άξονα) του δίπολου είναι φ , τότε η ροπή τ που ασκείται από το δίπολο είναι ίση προς

$$\tau = (q \cdot E) \cdot (l \cdot \sin \varphi) \quad (6)$$

όπου $l \cdot \sin \varphi$ είναι η απόσταση των φορέων των δύο δυνάμεων. Η ροπή μιας δύναμης υπολογίζεται ως προς ένα σημείο, ενώ η ροπή του ζεύγους δυνάμεων είναι ίση για όλα τα σημεία. Το γινόμενο του φορτίου q επί την απόσταση l είναι το μέτρο μιας ποσότητας που ονομάζεται **ηλεκτρική διπολική ροπή** και συμβολίζεται με p . Η ηλεκτρική διπολική ροπή έχει μονάδες φορτίου επί απόσταση (C.m)

Θέτοντας την εξίσωση αυτή σε μια διανυσματική μορφή προκύπτει ο εξής ορισμός της ηλεκτρικής διπολικής ροπής με συμπαγή μαθηματική και φυσική διατύπωση:

«*Η ηλεκτρική διπολική ροπή q είναι ένα διανυσματικό μέγεθος με μέτρο $q \cdot l$ και διεύθυνση από το αρνητικό προς το θετικό φορτίο πάνω στον άξονα του διπόλου*»

Εφόσον φ είναι η γωνία μεταξύ των διανυσμάτων \mathbf{p} και \mathbf{E} τότε ισχύει:

$$\boldsymbol{\tau} = \mathbf{p} \times \mathbf{E} \quad (7)$$

Η ροπή είναι *μέγιστη* όταν τα \mathbf{p} και \mathbf{E} είναι *κάθετα* μεταξύ τους, οπότε το ημίτονο της γωνίας φ είναι 1 . Αντίθετα η ροπή *μηδενίζεται* όταν τα δύο διανυσματικά μεγέθη \mathbf{p} και \mathbf{E} είναι *παράλληλα* ή και *αντιπαράλληλα*. Η αναπτυσσόμενη ροπή $\boldsymbol{\tau}$ τείνει να περιστρέψει το διάνυσμα \mathbf{p} ώστε να το ευθυγραμμίσει με το \mathbf{E} .

Στην περίπτωση στην οποία τα διανύσματα \mathbf{p} και \mathbf{E} είναι *αντιπαράλληλα η ισορροπία είναι ασταθής*, Για να υπάρξει αλλαγή στην κατεύθυνση του διπόλου, η ροπή της δύναμης των ηλεκτρικών φορτίων καταβάλλει έργο, προκαλώντας μεταβολή της δυναμικής ενέργειας. Το έργο dW που εκτελείται από μια ροπή $\boldsymbol{\tau}$ ηλεκτρικής δύναμης, κατά την διάρκεια μιας απειροστής στρέψης γωνίας $d\varphi$ δίνεται από την ακόλουθη εξίσωση:

$$dW = \boldsymbol{\tau} \cdot d\boldsymbol{\varphi} \quad (8)$$

Αφού η ροπή τείνει να μειώσει την γωνία φ τότε βάσει της εξίσωσης (6) που δίνει το μέτρο της ροπής έχουμε $\boldsymbol{\tau} = -pE\sin\varphi$ και συνεπώς:

$$dW = \boldsymbol{\tau} \cdot d\boldsymbol{\varphi} = -pE\sin\varphi \cdot d\varphi \quad (9)$$

$$W = \int -pE\sin\varphi \cdot d\varphi = pE \cdot \cos\varphi_2 - pE \cdot \cos\varphi_1$$
 το ολοκλήρωμα εφαρμόζεται από φ_1 έως φ_2

Το έργο είναι αντίθετο της μεταβολής της δυναμικής ενέργειας και κατά συνέπεια ένας ορθός ορισμός της δυναμικής ενέργειας του συστήματος ενός δίπολου είναι ο ακόλουθος, σε διατύπωση μαθηματική:

$$U(\varphi) = -pE \cdot \cos\varphi \quad (10)$$

Η θραύση της ασταθούς ισορροπίας στην περίπτωση της αντιπαράλληλης θέσης του διπόλου καταλήγει αναγκαστικά στην παραγωγή έργου από τις δυνάμεις του δίπολου μέσα στο ηλεκτρικό πεδίου ως εξής:

Η ανάπτυξη μικρής εκτροπής από την αντιπαράλληλη θέση του διπολικού άξονα θα δημιουργήσει έλξη του θετικού φορτίου του δίπολου από την αρνητικώς φορτισμένη πλευρά του φορτίου του πεδίου και άπωση του από αυτήν, ενώ για το αρνητικό φορτίο του δίπολου θα γίνει έλξη από την θετική πλευρά του πεδίου και άπωση από την αρνητική, με

συνέπεια την δημιουργία μιας περιστροφής 180° όλου του δίπολου και μεταφορά του στην θέση της παραλληλίας με έλξη των φορτίων του από της αντίθετης φόρτισης πλευρές του πεδίου. Επειδή αυτές οι διευθετήσεις γίνονται στον χώρο αντιλαμβάνεται κανείς ότι το καλύτερο μοντέλο αποτελεί η ανάπτυξη ομογενούς ηλεκτρικού πεδίου ανάμεσα στους οπλισμούς πυκνωτή, φορτισμένους αρνητικά ο ένας και θετικά ο άλλος. Σε αυτή την περίπτωση οι αναπτυσσόμενες ροπές εκτελούν έργο περιστροφής του δίπολου, οπότε η δυναμική ενέργεια, λόγω θέσης στο πεδίο, μετατρέπεται σε κινητική με απώλεια θερμότητας, εφ' όσον εργαζόμαστε σε πραγματικά υλικά συστήματα και όχι σε συστήματα ιδεατά. Όταν το δίπολο περάσει από την θέση ισορροπίας (απόκτηση παράλληλης διεύθυνσης) τότε λόγω αυξημένης γωνιακής ταχύτητας του άξονά του, θα εκτραπεί με αποτέλεσμα να επανασηματισθούν ροπές που θα ανασχέσουν την κίνησή του και να την αντιστρέψουν, τείνοντας να το επαναφέρουν στην θέση της ισορροπίας. Στην όλη αυτή εναλλαγή κίνησης και ροπών ηλεκτρικών δυνάμεων συνυπολογίζεται επίσης η τριβή, η οποία είναι αναπόφευκτη, ακόμη και για υλικά υπερβολικά λεία. Συνεπώς το ηλεκτρικό δίπολο θα εκτελεί ταλάντωση μέχρις ότου η σκέδαση της ενέργειας, λόγω θέσης στο πεδίο, γίνει πλήρης, παραλλήλως με την απόσβεση της ταλαντευτικής του κίνησης. Αν το φαινόμενο αυτό λαμβάνει χώρα μέσα σε κλειστό περιβάλλον, δομημένου ως θερμιδόμετρο, με ευαίσθητο καταγραφικό θερμόμετρο, όταν η ενέργεια σκεδαστεί πλήρως, η θερμοκρασία του κλειστού περιβάλλοντος θα έχει ανεβεί ανάλογα με την ένταση του πεδίου και το μέγεθος των φορτίων του δίπολου, σύμφωνα πάντα με τον δεύτερο νόμο της θερμοδυναμικής. Αυτό ισχύει σε κάθε είδος διάταξης πυκνωτών με αποτέλεσμα πάντα τα διηλεκτρικά και οι οπλισμοί τους να θερμαίνονται.

Δεδομένου ότι μέσα στο κύτταρο υπάρχει μια διαμόρφωση που μπορεί να προσομοιωθεί με σφαιρικό πυκνωτή, όπως θα δούμε κατωτέρω, αντιλαμβανόμαστε ότι τα φαινόμενα περιστροφής δίπολων μέσα στις μεμβράνες των κυττάρων έχουν μεγάλη σημασία για την μεταφορά μορίων. Είναι πολύ σημαντικό να σημειωθεί ότι η μεταφορά μορίων από το εξωτερικό περιβάλλον στο οποίο είναι εμβαπτισμένο το κύτταρο προς το εσωτερικό του, δηλαδή στο κυτταρόπλασμα, λαμβάνει χώρα και με μηχανισμούς δίπολων μορίων που εκτελούν, λόγω ηλεκτρικής ροπής, μια διαρκή περιστροφική κίνηση μέσω της κυτταροπλασματικής μεμβράνης. Η αλλαγή της πολικότητας του κυττάρου είναι δυνατόν να μεταβάλλει την πορεία της περιστροφής του δίπολου, ώστε η κίνηση της μεταφοράς να αντιστρέφεται υπό την μορφή ταλάντωσης. Το φαινόμενο αυτό φαίνεται ότι αποτελεί την

βάση των φαινομένων διευκολυνόμενης μεταφοράς ουσιών δια μέσου της κυτταρικής μεμβράνης, υπό τον όρο οι ουσίες αυτές να είναι σε θέση να προσκολληθούν στα φορτισμένα άκρα του δίπολου, συνήθως με ελκτικές δυνάμεις μικρής ισχύος, οι οποίες όταν αλλάζει η πυκνότητα του ηλεκτρικού φορτίου στο εσωτερικό του κυττάρου εξασθενούν και το υπό μεταφορά μόριο αφήνεται στο κυτταρόπλασμα για να λάβει την προδιαγραμμένη μεταβολική του πορεία, την καθοριζόμενη από τους λειτουργικούς δομικούς αυτοματισμούς του κυτταροπλάσματος, που με την σειρά τους παράγονται από το γενετικό πρόγραμμα. Τα θέματα αυτά θα τα συζητήσουμε σε επόμενα κεφάλαια, καθώς αποτελούν σημαντικά στοιχεία ερμηνευτικής των φαινομένων που μελετήσαμε στην παρούσα διδακτορική διατριβή.

Στην όλη μελέτη του ηλεκτρικού δίπολου και της ενέργειάς του αυτό αποκτά μέσα σε ένα ομογενές ηλεκτρικό πεδίο πρέπει να σημειώσουμε επίσης και τα εξής:

1^{ον}) Η δυναμική ενέργεια U του ηλεκτρικού δίπολου γίνεται **ελάχιστη** στην θέση της ευσταθούς ισορροπίας, στην οποία η γωνία φ μηδενίζεται ($\varphi = 0$) και το p *καθίσταται παράλληλο* με το διάνυσμα της έντασης E του ηλεκτρικού πεδίου.

2^{ον}) Η δυναμική ενέργεια U του ηλεκτρικού δίπολου γίνεται **μέγιστη** όταν η γωνία φ είναι ίση με π , δηλαδή 180° , στην θέση της ασταθούς ισορροπίας, όπου το p *καθίσταται αντιπαράλληλο* με το διάνυσμα της έντασης E του ηλεκτρικού πεδίου.

3^{ον}) Η δυναμική ενέργεια U του ηλεκτρικού δίπολου μηδενίζεται στην τιμή της γωνίας $\varphi = \pi/2 = 90^\circ$. Στην περίπτωση αυτή το p είναι κάθετο στο E .

Οι κανόνες αυτοί είναι σημαντικοί για να μπορούμε να κατανοήσουμε τις αντίστοιχες ενεργειακές καταστάσεις που αντιμετωπίζουμε σε διάφορες θέσεις των βιολογικών συστημάτων μέσα στο χώρο ενός ηλεκτρικού ή ενός ηλεκτρομαγνητικού πεδίου.

Κλείνοντας την ανάλυσή μας για το ηλεκτρικό δίπολο πρέπει επίσης να σημειώσουμε ότι για να έχουμε μια πλήρη εικόνα των ηλεκτρικών δυνάμεων και των εντάσεων ενός πεδίου μέσα στο οποίο τοποθετούνται ηλεκτρικά δίπολα πρέπει να υπολογίζουμε επίσης και τις δράσεις των ηλεκτρικών πεδίων που οφείλονται στα φορτία του δίπολου.

Γενικά στην θεώρηση την οποία ακολουθήσαμε δεχτήκαμε την ύπαρξη ενός ηλεκτρικού πεδίου ομογενούς, δηλαδή με E ίση σε όλα τα σημεία του (όπως π.χ είναι το πεδίο μεταξύ των οπλισμών ενός πυκνωτή). Στην περίπτωση αυτή δεν ασκείται συνισταμένη δύναμη

στο δίπολο. Όταν ωστόσο, το ηλεκτρικό πεδίο δεν είναι ομογενές, τότε οι δυνάμεις στα άκρα του διπόλου δεν αλληλοαναιρούνται, οπότε η συνισταμένη δύναμη δεν μηδενίζεται, οπότε το δίπολο μπορεί να εμφανίσει αλλαγή της κινητικής του συμπεριφοράς αν το μέσο στο οποίο ευρίσκεται του το επιτρέπει.

Συνεπώς είναι σημαντικό να γνωρίζουμε ότι σε ένα ηλεκτρικώς ουδέτερο σώμα κείμενου στο εσωτερικό ενός ανομοιογενούς ηλεκτρικού πεδίου μπορεί να αναπτύξει ηλεκτρική διπολική ροπή με επαγωγή και με τον τρόπο αυτό τα ηλεκτρικώς ουδέτερα σώματα μπορούν να υφίστανται ηλεκτροστατικές δυνάμεις. Οι υπολογισμοί των πεδίων συχνά γίνονται εξαιρετικά πολύπλοκοι και για να τις πραγματοποιήσουμε χρησιμοποιούμε γραφικές τεχνικές που βασίζονται σε ανάλυση με ηλεκτρονικό υπολογιστή, προκειμένου να προσδιοριστεί το ηλεκτρικό πεδίο μιας κατανομής ηλεκτρικών φορτίων. Η χρήση του υπολογιστή είναι αναπόδραστο εργαλείο για την ανάλυση προβλημάτων αλληλοεπίδρασης ενός ηλεκτρικού (ή ηλεκτρομαγνητικού πεδίου) με τα ηλεκτρικά φορτία που χαρακτηρίζουν τα ζωντανά κύτταρα (Daniel A. Beard, Biosimulation. Simulation of Living Systems, Cambridge University Press).

Απεικονίσεις πεδίων με ηλεκτρονικό υπολογιστή

Ο Νόμος του Gauss

Ο νόμος του Gauss και του Coulomb προσδιορίζουν την σχέση που αναπτύσσεται μεταξύ της κατανομής του ηλεκτρικού φορτίου και του ηλεκτρικού πεδίου δυνάμεων που αυτό δημιουργεί. Οι δύο νόμοι εμφανίζουν διαφορετικές διατυπώσεις και διαφορετικό τρόπο προσέγγισης, αλλά ωστόσο περιγράφουν την έναρξη των φαινομένων που αναπτύσσονται εξ αιτίας της φυσικής υπόστασης του ηλεκτρικού φορτίου: την γέννηση των ηλεκτρικών δυνάμεων και τους κανόνες που διέπουν την δράση τους. Μετά το βαρυτικό και το μαγνητικό πεδίο, η έννοια του ηλεκτρικού πεδίου αποτελεί μια τρίτη φυσική οντότητα όπου η ύλη εκδηλώνει εκ του μακρόθεν την πρόκληση ισχυρών φαινομένων ανάπτυξης δυνάμεων που συμμετέχουν αποφασιστικά στην εξέλιξη του φυσικού σύμπαντος σε όλες τις κλίμακες πάνω από το επίπεδο της διαμέτρου των ατομικών πυρήνων.



Carl Fredrick Gauss (1777 – 1855)

Ο νόμος του Coulomb είναι πιο εστιασμένος καθώς περιγράφει την δημιουργία και την συμπεριφορά ενός ηλεκτρικού πεδίου που σχηματίζεται περίξ και εξ αιτίας ενός σημειακού ηλεκτρικού φορτίου. Ο νόμος αυτός είναι απλός και σαφής: η ένταση του πεδίου τείνει προς το άπειρο όταν τα φορτία συμπλησιάζουν ώστε η απόστασή τους να τείνει προς το μηδέν, ενώ η ένταση του πεδίου τείνει να εκμηδενιστεί όταν η απόσταση των φορτίων τείνει προς το άπειρο. Βεβαίως το ηλεκτρικό πεδίο είναι αυθύπαρκτο και δεν έχει την ανάγκη δύο φορτίων για να δημιουργηθεί. Απλώς ένα δεύτερο φορτίο – διερευνητικού χαρακτήρα – απλώς αναδεικνύει την ύπαρξη του ηλεκτρικού πεδίου.

Φυσικά οι νόμοι της άπωσης μεταξύ ομοσήμων φορτίων και της έλξης μεταξύ ετεροσήμων είναι δύο εκδοχές του νόμου του Coulomb που αποδεικνύουν την ύπαρξη των δύο διαφορετικών φορτίων: θετικού και αρνητικού. Επίσης ο νόμος του Coulomb στις διαφορετικές του εκδοχές – της άπωσης και της έλξης – αποδεικνύει ότι στην φύση τείνει να υπάρξει αυθορμήτως ηλεκτρική εξουδετέρωση, ή ακριβέστερα εξισορρόπηση των ηλεκτρικών δράσεων που οφείλονται στα δύο ετερόσημα φορτία. Ο νόμος του Coulomb είναι μια γενίκευση πολύ συγκεκριμένων πειραμάτων και αντικατοπτρίζει την απλότητα και τα υλικά που συμμετέχουν στην πραγματοποίησή τους. Στον νόμο του Gauss η περιγραφή, ευθύς εξ αρχής, γίνεται πιο γενική και πιο θεωρητική. Ο εν λόγω νόμος αντιμετωπίζει συνολικά όλο το ζήτημα του πεδίου των ηλεκτρικών δυνάμεων: όταν μας δοθεί μια συνολική κατανομή ηλεκτρικών φορτίων τότε τα περιβάλλουμε με μια υποθετική επιφάνεια οπότε τα βλέπουμε ως ενιαίο σύστημα. Κι έτσι μελετούμε το ηλεκτρικό πεδίο επί των διαφόρων σημείων της θεωρούμενης επιφανείας. Συνεπώς ο νόμος αυτός προτείνει μια σχέση του πεδίου και του ολικού φορτίου, που περικλείεται από την επιφάνεια, σε *όλα* τα σημεία αυτής. Η προσέγγιση αυτή αναδεικνύει μια πολύ αποτελεσματική σχέση, όπως θα δούμε εν συνεχεία. Ο νόμος του Gauss εμπεριέχει την θεμελιώδη έννοια της *ηλεκτρικής ροής*, η οποία καλείται επίσης και ροή του ηλεκτρικού πεδίου. Ενδεχομένως υπάρχει μια αναλογία μεταξύ της ροής ενός ρευστού και της ηλεκτρικής ροής κι αυτό βοηθά την συσχέτιση των ιδεών και την ανάπτυξη μερικών διαισθητικών συλλογισμών, χρήσιμων για τις μελέτες μας, παρά τις όποιες απλουστεύσεις.

Αν θεωρήσουμε την ύπαρξη ενός ομογενούς ηλεκτρικού πεδίου έντασης E και μια επιφάνεια A , η οποία ευρίσκεται στο εσωτερικό του πεδίου, τότε μπορούμε να ορίσουμε την ηλεκτρική ροή διά της επιφανείας A ως εξής: ***Ορίζουμε ως ηλεκτρική ροή ενός πεδίου διερχόμενη μέσω μιας επιφάνειας A το γινόμενο της έντασης E του πεδίου επί το εμβαδόν της επιφάνειας A .*** Η ακόλουθη εξίσωση μας δίνει την ηλεκτρική ροή

$$\Phi_E = E \cdot A \quad (11)$$

Η εν λόγω επιφάνεια δεν είναι ανάγκη να είναι μια πραγματική δομή, που να ανήκει σε κάποιο υπάρχον σώμα, αλλά μπορεί να είναι μια υποθετική κατασκευή. Μπορούμε υποθετικά να παραστήσουμε την ηλεκτρική ροή Φ_E με το σύνολο των δυναμικών γραμμών του ηλεκτρικού πεδίου που διέρχονται μέσω της επιφάνειας A . Το μέγεθος της επιφάνειας έχει άμεση σχέση αναλογίας με τον αριθμό των δυναμικών γραμμών που την διαπερνούν, όπως επίσης με την ηλεκτρική ροή. Η πυκνότητα των δυναμικών γραμμών

είναι επίσης ανάλογη με την ένταση του πεδίου. Όσο πιο ισχυρό είναι το πεδίο στην περιοχή όπου ευρίσκεται η επιφάνεια τόσο πυκνότερες είναι οι δυναμικές γραμμές και συνεπώς τόσο μεγαλύτερη είναι η ηλεκτρική ροή. Επίσης είναι σαφές ότι ο προσανατολισμός της επιφάνειας A στο εσωτερικό του πεδίου είναι σημαντικός για την ποσότητα της ροής που διέρχεται μέσω της επιφάνειας. Έτσι η **μέγιστη ηλεκτρική ροή** διέρχεται όταν η επιφάνεια A είναι **κάθετη** στο πεδίο E . Αν η επιφάνεια A είναι τοποθετημένη όχι κάθετα αλλά υπό μια γωνία $\varphi < \pi/2$, τότε η ποσότητα των δυναμικών γραμμών που διέρχεται δι' αυτής, άρα και η ηλεκτρική ροή είναι μειωμένη σε σύγκριση με την αυτήν της κάθετης επιφάνειας. Όταν η γωνία φ τείνει να προσεγγίσει το μηδέν, δηλαδή όταν η επιφάνεια A τοποθετείται σχεδόν οριζόντια, δηλαδή παράλληλα προς την ένταση του πεδίου, τότε η ηλεκτρική ροή ελαχιστοποιείται. Στο σχήμα φαίνονται διαγραμματικά τα εξής: Η κάθετη επιφάνεια προς την ένταση του πεδίου διαρρέεται από το μέγιστο των δυναμικών γραμμών, ενώ η ίδια επιφάνεια υπό γωνία φ παρουσιάζει μια μείωση της έκθεσης της στην ροή του πεδίου ίση προς $A \cdot \cos\varphi$. Όσο περισσότερο αυξάνει η φ τόσο περισσότερο μειώνεται η έκθεση της επιφάνειας A στην ηλεκτρική ροή. Με τα ανωτέρω γενικεύουμε τον ορισμό της ηλεκτρικής ροής Φ_E ως εξής:

$$\Phi_E = E \cdot A \cos\varphi \quad (12)$$

Η ποσότητα $E \cdot \cos\varphi$ είναι η συνιστώσα του διανύσματος E , που είναι κάθετη στην επιφάνεια A . Συμβολίζοντας την συνιστώσα αυτή με E_T μπορούμε να ξαναγράψουμε την σχέση ως εξής:

$$\Phi_E = E_T \cdot A \quad (13)$$

Εισάγοντας την έννοια του διανυσματικού εμβαδού A , ως μια διανυσματική ποσότητα με μέτρο A και διεύθυνση κάθετη προς την επιφάνεια που θεωρούμε, μπορούμε να εκφράσουμε την ηλεκτρική ροή με τρόπο διανυσματικό. Το διανυσματικό εμβαδόν A αποδίδει τόσο το μέτρο του εμβαδού της επιφάνειας όσο και τον προσανατολισμό της στον χώρο. Βάσει της εισαγωγής της διανυσματικής επιφάνειας η εξίσωση (13) γίνεται:

$$\Phi_E = E \cdot A \quad (14),$$

δηλαδή ένα διανυσματικό γινόμενο. Συνεπώς οι εξισώσεις (11), (12), (13), (14) εκφράζουν την ηλεκτρική ροή με διαφορετικές προσεγγίσεις. Η μονάδα της ηλεκτρικής ροής είναι στο Διεθνές Σύστημα Μονάδων S.I το $1\text{N}\cdot\text{m}^2/\text{C}$.

Τα ανωτέρω αφορούν το ομογενές ηλεκτρικό πεδίο, όπως επίσης και την επίπεδη επιφάνεια σχήματος ορθογώνιου παραλληλόγραμμου. Όταν όμως το ηλεκτρικό πεδίο είναι ανομοιογενές είτε η επιφάνεια καμπύλη, ή και τα δύο, τότε ο τρόπος προσδιορισμού της ηλεκτρικής ροής προκύπτει εφαρμόζοντας τον διαφορικό λογισμό. Σύμφωνα με αυτόν υποδιαιρούμε την συνολική επιφάνεια A σε πολυάριθμα στοιχειώδη εμβαδά dA και υπολογίζουμε την ηλεκτρική ροή δια μέσου κάθε ενός από αυτά. Κατόπιν ολοκληρώνουμε τα αποτελέσματα των επί μέρους υπολογισμών και υπολογίζουμε την ολική ροή δια της συνολικής επιφάνειας A . Συγκεκριμένα έχουμε:

$$\Phi_E = \int \mathbf{E} \cos \phi \cdot dA = \int \mathbf{E}_T \cdot dA = \int \mathbf{E} \cdot dA \quad (15)$$

Ονομάζουμε το εν λόγω ολοκλήρωμα Επιφανειακό Ολοκλήρωμα της συνιστώσας \mathbf{E}_T επί όλης της επιφάνειας A ή επιφανειακό ολοκλήρωμα του γινομένου $\mathbf{E} \cdot dA$.

Η έννοια της ηλεκτρικής ροής έχει μεγάλη σημασία για τα βιολογικά όντα και εν γένει για τα βιολογικά συστήματα, καθόσον τα ηλεκτρικά πεδία που δημιουργούνται στην φύση – ή εκείνα που εμείς δημιουργούμε σκόπιμα – επιδρούν συνολικά επί των ζωντανών οργανισμών, που διαρκώς διαπερνώνται από ποικίλες ηλεκτρικές ροές. Αυτό δρα σημαντικά σε όλα τα κύτταρα του οργανισμού και διαμορφώνει τις ανταποκρίσεις τους, προκειμένου να διατηρήσουν όλες οι κυτταρικές λειτουργίες την ευστάθειά τους, καθόσον κάθε κύτταρο λειτουργεί τουλάχιστον ως πυκνωτής και ηλεκτρικό στοιχείο. Στα κεφάλαια που ακολουθούν θα δούμε τα ισοδύναμα ηλεκτρικά κυκλώματα που αντιστοιχούν σε διάφορες κυτταρικές δομές και κυτταρικές λειτουργίες. Προς το παρόν πρέπει να υπογραμμίσουμε ότι η ηλεκτρική ροή είναι μια διαισθητική μεταφορά της ροής των ρευστών στον χώρο του ηλεκτρικού πεδίου, προκειμένου να δημιουργηθεί μια αναλογία μεθοδολογικής αντιμετώπισης που ξεκινά από την μηχανική των ρευστών και επεκτείνεται στον ηλεκτρισμό.

Οι αναλογίες εδώ δεν είναι ακριβείς, καθόσον τα ηλεκτρικά πεδία δεν είναι ροές ανάλογες με εκείνες των ρευστών, αλλά επιδράσεις εξ αποστάσεως «ως εάν» οι δυνάμεις των φορτίων και η ένταση των πεδίων να ισοδυναμούσαν με μετακινούμενη μάζα. Με τον τρόπο αυτό καλλιεργείται η διαισθητική σκέψη που ενοποιεί τα φυσικά φαινόμενα, καθώς, έτσι κι αλλιώς, είναι ενοποιημένα στο φυσικό πλέγμα της κατασκευής του κόσμου.

Έτσι λοιπόν, συνεχίζοντας το παιχνίδι των αναλογιών, η παροχή ενός ρευστού, π.χ. ύδατος, dV/dt είναι ίση προς το γινόμενο του εμβαδού της διατομής ενός αγωγού επί την ταχύτητα

v του ύδατος. Μπορούμε να θεωρήσουμε την παροχή διά μέσου οποιασδήποτε επιφάνειας (διατομής αγωγού) ως ροή ενός ρευστού δια της εν λόγω διατομής. Μέσα στο πλαίσιο της αναλογίας μπορούμε να δεχθούμε ότι η εν λόγω ροή λαμβάνει χώρα στο εσωτερικό ενός συρμάτινου ορθογωνίου εμβαδού dA . Όταν το ορθογώνιο αυτό πλαίσιο είναι κάθετο προς την διεύθυνση της ροής και την ταχύτητα ροής v τότε η παροχή είναι: $dV/dt = v dA$. Αν το ορθογώνιο σχηματίζει γωνία ϕ με το διάνυσμα v της ταχύτητας ροής, το εμβαδόν που θεωρείται ως διατομή ισούται με $dA \cdot \cos\phi$. Η παροχή μέσω της στοιχειώδους επιφάνειας dA θα είναι

$$dV/dt = v dA \cdot \cos\phi$$

Αν εισάγουμε ξανά την έννοια της διανυσματικής επιφανείας και θεωρήσουμε το διανυσματικό εμβαδό dA , όπως και ανωτέρω, τότε η παροχή δίδεται από τον διανυσματοποιημένο μαθηματικό τύπο ως εξής $dV/dt = v dA$. Αν $\phi = 0$, τότε $\cos\phi = 1$, οπότε δεν περνά καθόλου ρευστό μέσω του θεωρούμενου ορθογωνίου πλαισίου. Κατ' ανάλογο τρόπο το $v \cdot \cos\phi$ είναι ίσο προς την κάθετη συνιστώσα v_T της v στην dA , ούτως ώστε: $dV/dt = v dA \cdot \cos\phi = v_T \cdot dA = v dA$ (16). Η ποσότητα αυτή εκπροσωπεί την ροή της v μέσω της στοιχειώδους διανυσματικής επιφάνειας dA . Το μέγεθος αυτό αποτελεί έναν φυσικό όρο καθόσον εκπροσωπεί την παροχή του υγρού μέσω της επιφάνειας. Όμως εδώ υπάρχει μια θεμελιώδης διαφορά: στην μηχανική των ρευστών η ροή είναι μια μεταφορά μάζας και συνεπώς εμφανίζει όλα τα χαρακτηριστικά που σχετίζονται με την μάζα. Στην περίπτωση του ηλεκτρικού πεδίου όμως δεν υφίσταται μια ροή μεταφοράς κάποιας ποσότητας ηλεκτρισμού, όπως συμβαίνει με τους αγωγούς πάσης φύσεως. Εδώ έχουμε απλώς διατάξεις δυναμικών γραμμών, πυκνότερες ή αραιότερες, οι οποίες διέρχονται μέσω μιας επιφάνειας υπαρκτής ή υποθετικής. Για λόγους φορμαλιστικούς μπορούμε να παραστήσουμε την κατεύθυνση ενός στοιχειώδους εμβαδού χρησιμοποιώντας ένα μοναδιαίο διάνυσμα n κάθετου προς την θεωρούμενη επιφάνεια, οπότε $dA = n \cdot dA$.

Κλείνοντας αυτήν την προκαταρκτική εισαγωγική ανάλυση στην έννοια της ηλεκτρικής ροής και στις φυσικές της συνεπαγωγές οφείλουμε να υποδείξουμε ότι κάθε επιφάνεια (και συνεπώς μια στοιχειώδης επιφάνεια) εμφανίζει δύο πλευρές με αποτέλεσμα μια ροή δι' αυτής να μπορεί να ακολουθήσει δύο κατευθύνσεις για τα διανυσματικά μεγέθη n και dA . Για την ορθότητα των υπολογισμών μας πρέπει να προσδιορίζουμε πάντα την κατεύθυνση που έχουμε επιλέξει για την ηλεκτρική ροή. Όταν εργαζόμαστε με τον νόμο του Gauss

θεωρούμε σε όλες τις περιπτώσεις την ολική ροή διά μέσου κλειστής επιφάνειας, που εμφανίζει μια εξωτερική και μια εσωτερική όψη. Είναι σημαντικό να υπογραμμίσουμε ότι επιλέγουμε πάντα την κατεύθυνση του \mathbf{n} προς τον *εξωτερικό χώρο της επιφάνειας* και μιλούμε πάντα για την *ροή που διαπερνά την επιφάνεια προς τα έξω*.

Ο νόμος του Gauss – διατύπωση – φυσική σημασία – παραδείγματα

Ο Karl Friedrich Gauss (1777 – 1855) υπήρξε ένας μεγάλος διανοητής των θετικών επιστημών της περιόδου του διαφωτισμού, με ευρυγνώσια και δημιουργικότητα. Κατατάσσεται μέσα στους σημαντικότερους μαθηματικούς όλων των εποχών, ενώ η συνεισφορά του έργου του επηρεάζει όλο το φάσμα της μαθηματικής επιστήμης, εκτεινόμενο από την γεωμετρία, την θεωρία των αριθμών καθώς και τις διαφορικές εξισώσεις, διεισδύοντας βαθιά στην θεωρητική φυσική. Ο ομώνυμος νόμος για την ηλεκτρική ροή, ο περίφημος νόμος του Gauss αποτελεί μια γενίκευση των προσεγγίσεων του Coulomb, ευρίσκοντας μια βαθιά σχέση μεταξύ του ηλεκτρικού φορτίου και του ηλεκτρικού πεδίου. Η διατύπωση του νόμου του Gauss έχει ως εξής:

Η ολική ηλεκτρική ροή που διέρχεται από μια κλειστή γεωμετρική επιφάνεια είναι ανάλογη προς το ηλεκτρικό φορτίο που περικλείεται στο εσωτερικό της θεωρούμενης κλειστής επιφάνειας

Ως κλειστή επιφάνεια εννοούμε μια γεωμετρική επιφάνεια η οποία περικλείει έναν καθορισμένο όγκο χώρου. Για τον προσδιορισμό της σχέσης αναλογίας μεταξύ ηλεκτρικού φορτίου και διερχόμενης ηλεκτρικής ροής μέσω μιας κλειστής επιφάνειας ξεκινούμε με το μεθοδολογικά ευκολότερο μέσο που είναι κλασσικά η θεώρηση του ηλεκτρικού πεδίου ενός θετικού σημειακού φορτίου $+q$. Τοποθετούμε το σημειακό φορτίο στο γεωμετρικό κέντρο μιας φανταστικής σφαιρικής επιφάνειας ακτίνας R . Οι δυναμικές γραμμές του ηλεκτρικού πεδίου που δημιουργείται από το φορτίο εκκινούν από αυτό και επεκτείνονται εν είδει ακτίνων προς τα έξω διαπερνώντας την φανταστική σφαιρική επιφάνεια. Σε κάθε σημείο της θεωρούμενης σφαιρικής επιφάνειας το μέτρο E της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου δίδεται από την ακόλουθη σχέση:

$$E = 1/4\pi\epsilon_0 \cdot (q/R^2)$$

Η ολική ηλεκτρική ροή είναι το γινόμενο του μέτρου του ηλεκτρικού πεδίου επί το ολικό εμβαδόν $4\pi R^2$ της θεωρούμενης φανταστικής σφαίρας. Συγκεκριμένα η ολική ηλεκτρική ροή δια της σφαίρας R είναι:

$$\Phi_E = E \cdot A = 1/4\pi\epsilon_0 \cdot (q/R^2) \cdot (4\pi R^2) = q/\epsilon_0 \quad (16)$$

Η ροή είναι ανεξάρτητη από την ακτίνα R της σφαίρας αλλά εξαρτάται μονοσήμαντα από το φορτίο q το οποίο είναι τοποθετημένο στο εσωτερικό της σφαίρας. Συνεπώς ακόμη και όταν έχουμε συγκεντρικές σφαίρες, εκ των οποίων εκείνη που έχει την μικρότερη ακτίνα περιέχει το θεωρούμενο φορτίο q , αυτές θα διαπερνώνται από την ίδια ηλεκτρική ροή, που, συνεπώς, προκύπτει να είναι ανεξάρτητη από το εμβαδόν της επιφάνειάς τους, αλλά πάντα ανάλογη του φορτίου q . Η αλήθεια της εν λόγω πρότασης μπορεί να δειχθεί από το ακόλουθο παράδειγμα: Θεωρούμε δύο συγκεντρικές σφαίρες ακτίνων R και $2R$, σύμφωνα με ό,τι προαναφέραμε. Εφαρμόζοντας τον νόμο του Coulomb για τις επιφάνειες των δύο σφαιρών η ένταση E_2 του ηλεκτρικού πεδίου στην επιφάνεια της μεγαλύτερης σφαίρας είναι ίση προς το $1/4$ του μέτρου της έντασης E_1 του πεδίου στην επιφάνεια της μικρότερης σφαίρας. Όμως το εμβαδόν της επιφάνειας της μεγαλύτερης σφαίρας είναι τετραπλάσια του εμβαδού της μικρότερης σφαίρας, με αποτέλεσμα η ηλεκτρική ροή που διέρχεται και από τις δύο να είναι η ίδια. Συνεπώς ο αριθμός των δυναμικών γραμμών που διέρχεται από τις δύο σφαίρες είναι ο αυτός.

Ό,τι ισχύει για τις συνολικές περιβάλλουσες επιφάνειες των σφαιρών ισχύει και για μικρότερους τομείς αυτών, καθόσον το μέρος ακολουθεί τον κανόνα που ισχύει για το όλον. Έτσι λοιπόν ο γραμμοσκιασμένος στοιχειώδης τομέας εμβαδού dA της σφαίρας ακτίνας R (εσωτερική σφαίρα) όταν προβάλλεται στην επιφάνεια της σφαίρας ακτίνας $2R$ έχει εμβαδόν $4dA$. Η ηλεκτρική ροή είναι η ίδια για τους δύο τομείς των συγκεντρικών σφαιρών και είναι ανεξάρτητη από τις ακτίνες τους, καθόσον στην πρώτη περίπτωση του dA , λόγω εγγύτητας, η E_1 είναι $E_1 = (1/4\pi\epsilon_0)x(|q|/R^2)$, ενώ στην περίπτωση του $4dA$, η ένταση E_2 είναι $E_2 = (1/4\pi\epsilon_0)x(|q|/4R^2)$ και συνεπώς 4 φορές μικρότερη. Αλλά επειδή η ηλεκτρική ροή στην στοιχειώδη επιφάνεια dA είναι $\Phi_{dA} = E_1 \cdot dA$, η αντίστοιχη ροή στην στοιχειώδη επιφάνεια της περιβάλλουσας σφαίρας $4dA$ είναι $\Phi_{4dA} = 4(E_1 \cdot dA/4) = E_1 \cdot dA$. Συνεπώς η ηλεκτρική ροή είναι η ίδια και για τους δύο αντίστοιχους σφαιρικούς τομείς και ανεξάρτητη από την ακτίνα της σφαίρας στην οποία κάθε σφαιρικός τομέας ανήκει.

Η ανωτέρω προσέγγιση μπορεί να εφαρμοστεί και σε επιφάνειες που δεν είναι σφαιρικές ως εξής: Αντί να θεωρήσουμε την δεύτερη σφαίρα της μεγαλύτερης διαμέτρου, όπως ανωτέρω, θεωρούμε μια κλειστή επιφάνεια σχήματος μη σφαιρικού η οποία περιβάλλει την πρώτη σφαίρα ακτίνας R . Επίσης θεωρούμε ένα στοιχειώδες εμβαδό dA πάνω στην ακανόνιστη κλειστή επιφάνεια, σημειώνοντας επίσης ότι η επιφάνεια αυτή είναι μεγαλύτερη της αντίστοιχης της επί της μικρής εγγεγραμμένης σφαίρας. Αν η κάθετη ευθεία στην ακανόνιστη επιφάνεια σχηματίζει γωνία φ με μια ακτινική γραμμή προερχόμενη από το φορτίο q , δύο πλευρές της επιφάνειας, που προβάλλεται επί της αντίστοιχης σφαιρικής, υφίστανται μια προοπτική σμίκρυνσης πολλαπλασιαζόμενες επί ένα παράγοντα ίσο με το συνημίτονο φ ($\cos\varphi$). Οι άλλες δύο πλευρές παραμένουν αναλλοίωτες. Έτσι η ποσότητα ηλεκτρικής ροής $E \cdot dA$ για την σφαιρική επιφάνεια γίνεται $E_1 \cdot dA \cdot \cos\varphi$ για την κλειστή επιφάνεια με το ακανόνιστο σχήμα. Ωστόσο – κι αυτό είναι το σημαντικό – η ηλεκτρική ροή διά μέσου της στοιχειώδους επιφανείας του ακανόνιστου σχήματος είναι η ίδια με αυτήν που διέρχεται από το αντίστοιχο στοιχείο επιφανείας της σφαίρας.

Εφαρμόζοντας ξανά, όπως ανωτέρω, την μεθοδολογία του απειροστικού λογισμού διαιρούμε όλη την επιφάνεια σε στοιχειώδη απειροστά εμβαδά dA και υπολογίζουμε την ηλεκτρική ροή $E_x \cdot dA \cdot \cos\varphi$ για καθένα από αυτά, οπότε για να έχουμε την ολική ηλεκτρική ροή την διερχόμενη από όλη την ακανόνιστη επιφάνεια προσθέτουμε τα αποτελέσματα μέσω της εφαρμογής ενός ολοκληρώματος κλειστής επιφάνειας, όπως στην εξίσωση (15). Κάθε ένα από τα στοιχειώδη απειροστά εμβαδά του ακανόνιστου σχήματος προβάλλεται επί της εσωτερικής σφαίρας που περικλείει το ηλεκτρικό φορτίο, όπως έχουμε ήδη θεωρήσει ανωτέρω και συνεπώς οι ολικές ηλεκτρικές ροές τόσο της ακανόνιστης επιφάνειας, όσο και της σφαιρικής τοιαύτης είναι ίσες. Εφ' όσον, σύμφωνα με την εξίσωση (15), η ολική ηλεκτρική ροή, η διερχόμενη από την σφαιρική επιφάνεια, είναι ίση προς q/ϵ_0 , πρέπει και η ηλεκτρική ροή η διερχόμενη από, την εξωτερικώς περιβάλλουσα την σφαίρα, ακανόνιστου σχήματος επιφάνεια να έχει την ίδια τιμή. Έτσι για την ακανόνιστη επιφάνεια έχουμε την εξής σχέση:

$$\Phi_E = \int \mathbf{E} \cdot d\mathbf{A} = q/\epsilon_0 \quad (17)$$

Η σχέση αυτή ισχύει για κάθε επιφάνεια οποιουδήποτε σχήματος, υπό τον όρο η επιφάνεια αυτή να είναι **κλειστή**. Το ολοκλήρωμα εφαρμόζεται για όλη την κλειστή επιφάνεια που θεωρούμε. Δεδομένου ότι στις αρχικές μας υποθέσεις θέσαμε ότι το φορτίο q που γεννά το

πεδίο είναι θετικό, προσδιορίζουμε ότι τα διανυσματικά στοιχειώδη εμβαδά dA αλλά και το διάνυσμα \mathbf{n} στρέφονται προς το εξωτερικό του χώρου που περικλείεται στην επιφάνεια. Συνεπώς θέτουμε ότι η ηλεκτρική ροή είναι πάντα θετική σε περιοχές όπου το ηλεκτρικό πεδίο κατευθύνεται προς το εξωτερικό της επιφάνειας (όταν δηλαδή παράγεται από θετικά φορτία) και αρνητική όταν κατευθύνεται προς το εσωτερικό αυτής. Προφανώς το ηλεκτρικό πεδίο E_T είναι θετικό σε σημεία όπου το E κατευθύνεται προς το εξωτερικό της επιφάνειας και αρνητικό όπου κατευθύνεται προς το εσωτερικό της. Για μια κλειστή επιφάνεια που δεν περιέχει φορτίο ισχύει:

$$\Phi_E = \int E \cdot dA = 0$$

Η ανωτέρω σχέση δηλώνει το γεγονός ότι όταν ένας χώρος δεν περιέχει φορτία τότε οι δυναμικές γραμμές, οσοδήποτε κι αν είναι αυτές – πολυπληθείς ή όχι – αναγκαστικά θα εισέρχονται και θα εξέρχονται πλήρως. Αυτό το φαινόμενο επιδεικνύεται όπου παρουσιάζουμε μια κλειστή επιφάνεια η οποία ευρίσκεται μέσα στον χώρο ενός πεδίου και διαρρέεται από δυναμικές γραμμές οι οποίες εισέρχονται και εξέρχονται πλήρως από αυτήν διαπερνώντας την. **Οπότε οι δυναμικές γραμμές μιας ηλεκτρικής ροής αναγκαστικά μπορούν να αρχίζουν και να τελειώνουν σε μια περιοχή του χώρου τότε και μόνον τότε όταν εκεί υπάρχει ηλεκτρικό φορτίο.** Αν το σημειακό φορτίο q είναι αρνητικό, το πεδίο E κατευθύνεται ακτινικά προς το εσωτερικό, ενώ η γωνία ϕ μεταξύ της καθέτου στο εμβαδόν dA είναι μεγαλύτερη των 90° με συνέπεια το συνημίτονο αυτής να είναι αρνητικού προσήμου. Βάσει αυτού και το ολοκλήρωμα έχει αρνητική τιμή, αλλά επειδή το φορτίο έχει κι αυτό αρνητικό πρόσημο η εξίσωση (17) ισχύει κανονικά.

Ο νόμος του Gauss υφίσταται επίσης μια γενίκευση, όταν μέσα σε ένα γεωμετρικό στερεό ευρίσκεται τοποθετημένο ένα σύστημα πολυάριθμων ηλεκτρικών φορτίων. Στην περίπτωση αυτή υποθέτουμε ότι όλο το στερεό καλύπτεται από μια επιφάνεια συγκεκριμένου σχήματος, η οποία πλέον περιέχει τα επί μέρους φορτία q_1, q_2, q_3, \dots . Το ολικό συνισταμένο πεδίο που συνθέτουν τα πεδία των σημειακών φορτίων σε κάθε σημείο του έχει συνισταμένη ένταση E ίση με το διανυσματικό άθροισμα των επί μέρους εντάσεων εκάστου πεδίου που οφείλεται στο αντίστοιχο στοιχειώδες φορτίο, σύμφωνα με την αρχή της επαλληλίας. Στο συγκεκριμένο σύστημα ονομάζουμε ολικό φορτίο Q_Σ το άθροισμα των επί μέρους στοιχειωδών μικρότερων φορτίων q_x που περικλείονται στο εσωτερικό του στερεού κάτω από την υποθετική επιφάνεια, οπότε είναι: $Q_\Sigma = q_1 + q_2 + q_3$

+...+ q_x. Επίσης ονομάζουμε E το ολικό πεδίο στην στοιχειώδη επιφάνεια dA και dA_T την κάθετη συνιστώσα του στο dA. Τότε μπορούμε να γράψουμε μια εξίσωση ανάλογη προς την (17) για κάθε ένα φορτίο και το αντίστοιχο του ηλεκτρικό πεδίο. Προσθέτοντας όλες αυτές τις σχέσεις προκύπτει μια γενικευμένη μαθηματική διατύπωση του νόμου του Gauss ως εξής:

$$\Phi_E = \int \mathbf{E} \cdot d\mathbf{A} = Q_{\Sigma} / \epsilon_0 \quad (18)$$

Χρησιμοποιώντας τον ορισμό του Q_Σ καθώς και τις σχέσεις των εξισώσεων (15) μπορούμε να γράψουμε αντίστοιχες ισοδύναμες μορφές που έχουν ως εξής:

$$\Phi_E = \int \mathbf{E} \cos \phi \cdot A = \int \mathbf{E}_T \cdot d\mathbf{A} = \int \mathbf{E} \cdot d\mathbf{A} = \sum q_i / \epsilon_0 = Q_{\Sigma} / \epsilon_0 \quad (19)$$

Στην παρατιθέμενη εξίσωση (19) το ολικό φορτίο Q_Σ ισούται με το αλγεβρικό άθροισμα των θετικών και αρνητικών φορτίων τα οποία εγκλείονται μέσα στην θεωρούμενη υποθετική επιφάνεια για την οποία εφαρμόζεται ο νόμος του Gauss, ήτοι ο νόμος της συνολικής ηλεκτρικής ροής. Βεβαίως πολύ συχνά συμβαίνει το ολικό φορτίο Q_Σ να προκύπτει από την αλληλεπίδραση τόσο εσωτερικών όσο και εξωτερικών φορτίων ως προς την θεωρούμενη Γκαουσιανή επιφάνεια, ωστόσο, τα εξωτερικώς αυτής κείμενα ηλεκτρικά φορτία δεν συνεισφέρουν στην ολική ηλεκτρική ροή και συνεπώς ο νόμος του Gauss ως διατύπωση υπό την μορφή της εξίσωσης (19) ισχύει ακόμη. Εδώ όμως πρέπει να σημειώσουμε ότι το ολικό ηλεκτρικό πεδίο, που προκαλεί την διέλευση της ηλεκτρικής ροής μέσω της θεωρούμενης υποθετικής Γκαουσιανής επιφάνειας, προφανώς προκύπτει από το συνολικό διανυσματικό άθροισμα των εντάσεων των επί μέρους ηλεκτρικών πεδίων των εσωτερικών φορτίων και των επιμέρους ηλεκτρικών πεδίων των εξωτερικών τοιούτων, σύμφωνα με την αρχή της επαλληλίας. Συνεπώς, είναι φανερό, ότι η ολική συνισταμένη E_{Σ(xyz)} σε κάθε σημείο της θεωρούμενης Γκαουσιανής επιφάνειας εξαρτάται ουσιαστικά και από τα εξωτερικά αυτής ηλεκτρικά φορτία. Αυτό έχει μεγάλη σημασία, καθόσον η ηλεκτρική ροή η, διερχόμενη μέσω ενός φυσικού ή τεχνητού σώματος – ζωντανού ή όχι – που δεν διαθέτει περιβάλλουσα θωράκιση τύπου κλωβού Faraday, μπορεί να είναι πολύ μεγαλύτερη ή μικρότερη, αναλόγως το πρόσημο και το μέγεθος των εξωτερικών φορτίων, από εκείνη που θα προέκυπτε από την ύπαρξη σημειακών ηλεκτρικών φορτίων μόνον στο εσωτερικό της Γκαουσιανής επιφάνειας. Η κατάσταση αυτή είναι ιδιαίτερος σημαντική για κάθε βιολογικό σύστημα, καθόσον η ύπαρξη πολύ μεγάλων εξωτερικών ηλεκτρικών φορτίων μπορεί να προκαλέσει ισχυρές μεταβολές των

ηλεκτρικών πεδίων στο εσωτερικό του σώματος και συνεπώς της ηλεκτρικής ροής που το διαρρέει. Μια πρακτική οδηγία για την σωστή διόρθωση αυτής της κατάστασης είναι ότι το εργαζόμενο προσωπικό σε εγκαταστάσεις π.χ παραγωγής ηλεκτρικού ρεύματος, πρέπει να εργάζεται στο εσωτερικό προστατευτικών διατάξεων τύπου κλωβών Faraday, ικανών να εμποδίζουν την αλληλεπίδραση με εξωτερικά του σώματος ηλεκτρικά φορτία. Υπενθυμίζουμε ότι κάθε κύτταρο του σώματος του ανθρώπου, όπως και οποιοδήποτε άλλο κύτταρο, είναι πάντα μια γεννήτρια παραγωγής ηλεκτρικών φορτίων και των αντίστοιχων πεδίων τους, ενώ τα φαινόμενα διέγερσης και αποδιέγερσης των κυττάρων είναι ουσιαστικώς φαινόμενα ηλεκτρικά όπως θα δούμε κατωτέρω.

Όταν το εσωτερικό ολικό ηλεκτρικό φορτίο Q_{Σ} είναι ίσο με το μηδέν, δηλαδή $Q_{\Sigma} = 0$, τότε η ολική ηλεκτρική ροή η διερχόμενη διά της επιφάνειας του θεωρούμενου σώματος είναι μηδέν, δηλαδή $\Phi_{\Sigma} = 0$. Πρακτικά αυτό σημαίνει ότι σε ορισμένες περιοχές της Γκαουσιανής επιφάνειας που περιλαμβάνει το θεωρούμενο σύστημα φορτίων, θα υπάρχει αρνητική ηλεκτρική ροή, όπως επίσης και θετική ηλεκτρική ροή, το άθροισμα των οποίων πρέπει να είναι μηδενικό. Στο σχήμα το οποίο παραθέτουμε κατωτέρω έχουμε ένα διπολικό σύστημα φορτίων (ηλεκτρικό δίπολο) στο οποίο φαίνονται όλες οι αρχές των δυναμικών γραμμών και της ηλεκτρικής ροής που αναλύσαμε ανωτέρω. Το όλο σύστημα περιβάλλεται από μια συνολική Γκαουσιανή επιφάνεια Γ , η οποία έχει νεφροειδές σχήμα και η οποία περιλαμβάνει δύο ίσα και αντίθετα ηλεκτρικά φορτία, σχηματίζοντας ένα δίπολο. Τα φορτία είναι $+q$ και $-q$. Το θετικό φορτίο περιβάλλεται από μια δεύτερη υποθετική Γκαουσιανή επιφάνεια σφαιρικού σχήματος με σύμβολο A , ενώ το αρνητικό φορτίο περιβάλλεται από μια άλλη Γκαουσιανή επιφάνεια B . Επίσης υπάρχει μια τελευταία Γκαουσιανή επιφάνεια Δ , η οποία ευρίσκεται σε γειτνίαση με το θετικό φορτίο $+q$. Συνεπώς στο εν λόγω διπολικό σύστημα έχουμε την παρουσία τεσσάρων Γκαουσιανών επιφανειών A, B, Γ, Δ . Η επιφάνεια A που περιβάλλει το θετικό φορτίο $+q$ διαρρέεται από 18 δυναμικές γραμμές με φορά από το κέντρο προς το εξωτερικό της. Η επιφάνεια B που περιβάλλει το αρνητικό φορτίο $-q$ διαρρέεται επίσης από 18 δυναμικές γραμμές, οι οποίες έχουν φορά από το εξωτερικό της προς το εσωτερικό καταλήγοντας επί του αρνητικού φορτίου. Η συνολική Γκαουσιανή επιφάνεια Γ περικλείει ταυτόχρονα και τα δύο φορτία του δίπολου, δηλαδή το συνολικό φορτίο που υπάρχει στο σύστημα. Η Γκαουσιανή επιφάνεια Γ τέμνεται σε 16 σημεία, από δυναμικές γραμμές, εκ των οποίων οι οχτώ είναι εισερχόμενες και οι οχτώ εξερχόμενες. Ο συνιστάμενος αριθμός των δυναμικών γραμμών του ηλεκτρικού πεδίου που διαπερνούν την επιφάνεια Γ είναι μηδέν,

ενώ είναι μηδέν και το αλγεβρικό άθροισμα των φορτίων που ευρίσκονται στο εσωτερικό της. Είναι σημαντικό να σημειώσουμε ότι η κλειστή Γκαουσιανή επιφάνεια Δ , η οποία κείται στην δεξιά πλευρά της επιφάνειας A , που περικλείει το θετικό φορτίο, τέμνεται συνολικά σε έξι σημεία από τις δυναμικές γραμμές. Σε τρία σημεία οι δυναμικές γραμμές διευθύνονται προς τα μέσα, ενώ σε άλλα τρία διευθύνονται προς τα έξω. Είναι οι ίδιες γραμμές που εισέρχονται και εξέρχονται της επιφάνειας Δ και συνεπώς η ολική ηλεκτρική ροή που την διαπερνά ισούται με μηδέν. Η επιφάνεια Δ περιέχει επίσης φορτίο μηδέν. Είναι πολύ σημαντικό να αναφερθεί στο σημείο αυτό ότι υπάρχουν πολλά σημεία επί των επιφανειών που θεωρήσαμε στα οποία το διάνυσμα της έντασης δεν είναι κάθετο. Ωστόσο το γεγονός αυτό δεν επηρεάζει καθόλου τον προσδιορισμό των δυναμικών γραμμών.

Ο νόμος του Gauss αποτελεί έναν γενικό φυσικό νόμο, ο οποίος έχει γενική ισχύ για κάθε πιθανή κατανομή φορτίων, όπως επίσης για όλων των ειδών τις επιφάνειες οσοδήποτε πολύπλοκες ή απλές. Υπενθυμίζουμε ότι είναι μια γενίκευση του νόμου του Coulomb, ενώ παρουσιάζει πολλές ομοιότητες με το πεδίο δυνάμεων της βαρύτητας. Συχνά στην φυσική των πεδίων δυνάμεων υπάρχουν πολλές αναλογίες. Ο νόμος του Gauss έχει μια αυτονόητη αξία υπολογισμού όταν το θεωρούμενο σύστημα έχει συμμετρική δομή, οπότε οι ιδιότητες του μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την επίλυση των αντίστοιχων ολοκληρωμάτων βάσει των οποίων βρίσκουμε τις τιμές της ηλεκτρικής ροής. Είναι σημαντικό να υποδείξουμε ότι τα ζωντανά όντα στην μεγάλη τους πλειοψηφία εμφανίζουν συμμετρικές δομές, ενώ η πλειοψηφία των κυττάρων έχουν μια δομή σφαιροειδή. Δεδομένου ότι κάθε κύτταρο λειτουργεί με τους νόμους του ηλεκτρισμού, ο νόμος του Gauss έχει ιδιαίτερη αξία για τον χώρο της Φυσιολογίας των ζωντανών όντων. Στις επόμενες παραγράφους αναφέρουμε μερικές περιπτώσεις εφαρμογών του νόμου του Gauss οι οποίες έχουν μεγάλη σημασία για τα βιολογικά συστήματα. Οι εφαρμογές αυτές είναι οι εξής:

- 1^{ov}) Η κατανομή της περίσσειας φορτίου σε έναν στερεό αγωγό.
- 2^{ov}) Το ηλεκτρικό πεδίο μιας αγώγιμης σφαίρας.
- 3^{ov}) Το ηλεκτρικό πεδίο μιας ομοιόμορφα φορτισμένης σφαίρας.
- 4^{ov}) Το ηλεκτρικό πεδίο ενός φορτίου κατανεμημένου γραμμικά.
- 5^{ov}) Το ηλεκτρικό πεδίο παράλληλων αγώγιμων πλακών με αντίθετα φορτία.
- 6^{ov}) Το ηλεκτρικό πεδίο επίπεδου φύλλου απείρων διαστάσεων.

Οι περιπτώσεις αυτές αποτελούν παραδείγματα δημιουργίας ηλεκτρικών πεδίων σε σώματα τα οποία παρουσιάζουν συμμετρία και συνεπώς η ηλεκτρική ροή, κατά Gauss, είναι εύκολα υπολογίσιμη, μέσω των αντίστοιχων ολοκληρωμάτων ροής. Επίσης μας δίνουν κάποια πληροφορία του τι μπορεί να συμβαίνει σε ένα βιολογικό όν, εξ αιτίας της ηλεκτρικής φόρτισής του, *έχοντας υπόψιν ότι τα βιολογικά όντα είναι αγωγοί και όχι μονωτές*. Συνεπώς μπορούμε να πούμε εν συντομία τα κάτωθι:

1^{ον}) *Νόμος επιφανειακής κατανομής ηλεκτρικού φορτίου σε αγωγούς*. Όταν ένας συμπαγής αγωγός φορτισθεί ηλεκτρικά, μετά την επέλευση της ηλεκτρικής ισορροπίας όλο το φορτίο τοποθετείται συνολικά στην επιφάνεια του αγωγού κι όχι στο εσωτερικό του. Στον χώρο της ηλεκτροστατικής αυτό είναι φυσικό επακόλουθο διότι κατά την ισορροπία το ηλεκτρικό πεδίο στο εσωτερικό του αγωγού είναι μηδέν. Αν η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου στο εσωτερικό του αγωγού δεν ήταν μηδέν τότε θα είχαμε κίνηση φορτίων και συνεπώς δημιουργία ηλεκτρικών ρευμάτων, οπότε δεν θα υπήρχε στατικότητα των φορτίων λόγω εξισορρόπησης.

2^{ον}) *Η παραγωγή του νόμου του Coulomb από τον νόμο του Gauss*. Από το ανωτέρω θεώρημα έπεται ότι και σε έναν σφαιρικό αγωγό το ηλεκτρικό φορτίο κατανέμεται στην εξωτερική του επιφάνεια. Η σφαίρα ως στερεό παρουσιάζει την λεγόμενη σφαιρική συμμετρία, βάσει της οποίας η κατανομή των φορτίων θα είναι ομοιόμορφη στην επιφάνεια της και η ένταση του πεδίου στο εσωτερικό της σφαίρας θα ήταν μηδενική ($E = 0$). Η διεύθυνση της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου σε οποιοδήποτε σημείο $\Sigma_{(xyz)}$ πέρα από την επιφάνεια της σφαίρας πρέπει να ακολουθεί την ακτινική διεύθυνση, δηλαδή να κείται επί της ακτίνας που συνδέει το σημείο $\Sigma_{(xyz)}$ με το γεωμετρικό κέντρο K της σφαίρας ως στερεού. Η ένταση του πεδίου E σε μια Γκαουσιανή επιφάνεια σφαιρικού σχήματος και ακτίνας $r > R$ (ακτίνα της αγωγίμης σφαίρας) με εμβαδόν $4\pi r^2$. Η ένταση E του πεδίου είναι σε κάθε σημείο της επιφάνειας κάθετη προς αυτήν και έχει μέτρο $E \cdot 4\pi r^2$, οπότε η εξίσωση (18) δίνει:

$$4\pi r^2 \cdot E = q/\epsilon_0 \text{ και } E = 1/4\pi \epsilon_0 \cdot q/ r^2 \quad (20)$$

Η έκφραση αυτή δείχνει ότι η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου που δημιουργείται από μια ηλεκτρισμένη αγωγήμη σφαίρα είναι ίση προς την ένταση που προκαλείται όταν το φορτίο εδράζεται στο γεωμετρικό κέντρο αυτής. Αν $r = R$, τότε $E = 1/4\pi \epsilon_0 \cdot q/ R^2$. Στο εσωτερικό της σφαίρας (αλλά και σε οποιοδήποτε άλλου σχήματος αγωγού) το ηλεκτρικό πεδίο είναι μηδέν, δηλαδή για $r < R$ έπεται ότι $E = 0$. Συνεπώς η E είναι συνάρτηση της απόστασης r από το κέντρο της σφαίρας. Εδώ πρέπει να σημειωθεί η εξής πολύ σημαντική σχέση:

Για $r \rightarrow 0$ η σφαίρα τείνει να γίνει σημείο, οπότε το φορτίο της γίνεται σημειακό. Κατ' αυτόν τον τρόπο ξεκινώντας από τον νόμο της ηλεκτρικής ροής του Gauss καταλήγουμε στον νόμο του Coulomb και επομένως αποδεικνύεται η λογική ισοδυναμία των δύο νόμων, υποδεικνύοντας ότι ο νόμος του Gauss είναι γενικός, ενώ αυτός του Coulomb είναι μια υποπερίπτωσή του.

Συνεπώς στο σημείο αυτό παρουσιάζουμε μια εννοιολογική ενοποίηση μαθηματικού χαρακτήρα τόσο του νόμου του Gauss, όσο και του νόμου του Coulomb. Αμέσως κατωτέρω δείχνουμε μια αναλογία που υπάρχει επί της συμπεριφοράς των εξ αποστάσεως ασκούμενων δυνάμεων στο ηλεκτρικό πεδίο, όπως και στο πεδίο βαρύτητας. Αυτό γίνεται υπό την μορφή ενός πορίσματος παραγομένου από τον νόμο του Gauss.

Πόρισμα: Βαρυτική παραλλαγή του νόμου του Gauss:

Επειδή οι δυνάμεις της βαρύτητας είναι συνάρτηση του λόγου $1/r^2$, υπάρχει ένας νόμος του Gauss για την βαρύτητα. Ακολουθώντας την ίδια συλλογιστική τακτική μπορούμε να δείξουμε ότι η βαρυτική δύναμη, η ασκούμενη μεταξύ μαζών εχόντων μια σφαιρική συμμετρική κατανομή, εκτός της εν λόγω κατανομής είναι ακριβώς η αυτή σαν όλη η μάζα να ήταν συγκεντρωμένη στο γεωμετρικό κέντρο του θεωρούμενου σφαιρικού συστήματος. Για τον λόγο αυτό μπορούμε να αντιμετωπίζουμε σώματα με σφαιρική συμμετρία σαν να επρόκειτο για σημεία, προκειμένου να υπολογίσουμε τις μεταξύ τους βαρυτικές αλληλεπιδράσεις.

3^{ον}) Υπολογισμός του ηλεκτρικού πεδίου ομοιόμορφα φορτισμένης μονωτικής σφαίρας: Όταν θεωρούμε μια ηλεκτρική σφαίρα ακτίνας R , με χαρακτηριστικά μονωτή, η οποία παρουσιάζει φόρτιση ομοιόμορφα κατανεμημένη σε όλη την μάζα της ο υπολογισμός της έντασης E κατά μέτρον σε ένα τυχαίο σημείο P , στο εσωτερικό της σφαίρας, υπολογίζεται ως ακολούθως:

Σχεδιάζουμε την συμπαγή μονωτική και φορτισμένη σφαίρα. Επιλέγουμε μια σφαιρική Γκαουσιανή επιφάνεια στο εσωτερικό της σφαίρας. Η ακτίνα της εν λόγω Γκαουσιανής επιφάνειας είναι έστω r . Η εν λόγω επιφάνεια και η συνολική μονωτική σφαίρα είναι ομόκεντρες. Η πυκνότητα ρ του φορτίου είναι ίση προς:

$$\rho = Q/4\pi R^3/3$$

Η σφαίρα που σχηματίζεται από την Γκαουσιανή επιφάνεια έχει όγκο V' ίσο προς $4\pi r^3/3$, ενώ το ολικό φορτίο Q_Σ που περικλείεται σε αυτήν είναι:

$$Q_\Sigma = \rho \cdot V' = (Q/4\pi R^3/3) \cdot (4\pi r^3/3) = Qr^3/R^3 \quad (21)$$

Η σφαίρα είναι σχήμα με ακτινική συμμετρία και δεδομένου ότι τα φορτία της είναι ακίνητα και ισοκατανεμημένα μέσα στην μάζα λόγω της μονωτικής της φύσης συνεπάγεται λόγω της συμμετρίας ότι το μέτρο E του ηλεκτρικού πεδίου έχει την ίδια τιμή πάνω σε όλα τα σημεία της Γκαουσιανής επιφάνειας, με φορά προς τα έξω και κατεύθυνση μια από τις άπειρες ακτίνες της σφαίρας. Λαμβάνοντας υπόψιν ότι το ολικό εμβαδόν της σφαίρας είναι ίσο προς $4\pi r^2$, η επίλυση του ολοκληρώματος για τον νόμο του Gauss είναι $4\pi r^2 \cdot E$. Εξισώνοντας αυτό με Q_Σ/ϵ_0 και αντικαθιστώντας το Q_Σ με την τιμή του που βρήκαμε στην παραπάνω σχέση (21) έχουμε:

$$4\pi r^2 \cdot E = Qr^3/\epsilon_0 R^3 \rightarrow E = (1/4\pi \epsilon_0) \cdot (Qr/R^3) \quad (22)$$

Έτσι σε ένα δεδομένο σημείο $\sigma_{(xyz)}$ που απέχει απόσταση r από το κέντρο της σφαίρας το μέτρο E του πεδίου είναι ανάλογο προς την απόσταση r . Στο γεωμετρικό κέντρο K της μονωτικής ηλεκτρισμένης ομοιόμορφα σφαίρας, όπου $r = 0$ έπεται ότι και $E = 0$. Από την άλλη μεριά το μέτρο της έντασης του πεδίου στην επιφάνεια της σφαίρας, όπου $r = R$ είναι:

$$E = (1/4\pi \epsilon_0) \cdot (Q/R^2) \quad (23)$$

Συνεπώς αποδεικνύεται με τον τρόπο αυτό ότι πάνω στην επιφάνεια το ηλεκτρικό πεδίο παρουσιάζει μια συμπεριφορά ως εάν το φορτίο, που είναι διάσπαρτα ισοκατανεμημένο στην μάζα της μονωτικής σφαίρας, να ήταν συσσωρευμένο στο κέντρο αυτής.

Παρουσιάζουμε μια γραφική παράσταση της έντασης E του πεδίου ως συνάρτησης του r . Για $r < R$ το E είναι ανάλογο του r . Για $r > R$ το E μεταβάλλεται ως $1/r^2$.

Ανωτέρω σημειώσαμε ότι υπάρχει ένας νόμος του Gauss και για τις βαρυτικές αλληλεπιδράσεις. Τα ανωτέρω λεχθέντα ισχύουν απολύτως και για το βαρυτικό πεδίο του πλανήτη Γη, όπως επίσης και των λοιπών πλανητών του Ηλιακού Συστήματος: Αν θεωρήσουμε ότι η πυκνότητα της Γης είναι ισοκατανεμημένη θα ίσχυε ότι το μέτρο του βαρυτικού πεδίου μεταβάλλεται με το r κατά τον ίδιο τρόπο όπως το μέτρο της έντασης του ηλεκτρικού πεδίου E . Η κατεύθυνση του βαρυτικού πεδίου στρέφεται προς το κέντρο καθόσον οι βαρυτικές δυνάμεις είναι πάντοτε ελκτικές.

4^{ον}) Υπολογισμός του ηλεκτρικού πεδίου σε φορτίο κατανεμημένο γραμμικά

Στην περίπτωση αυτή το ηλεκτρικό φορτίο είναι ομοιόμορφα κατανεμημένο κατά μήκος ενός σύρματος, οπότε η συμμετρία έχει κυλινδρικό χαρακτήρα, δηλαδή το ίδιο το σύρμα αποτελεί τον άξονα περιστροφής του εαυτού του, ενώ μπορούμε να το μετατοπίσουμε κατά μήκος του άξονα αυτού. Συνεπώς είτε το περιστρέψουμε κατά οιαδήποτε γωνία, είτε το μετακινήσουμε κατά οιαδήποτε απόσταση τα χαρακτηριστικά του συστήματος παραμένουν τα αυτά. Το ηλεκτρικό πεδίο που παράγεται από το ομοιόμορφα κατανεμημένο ηλεκτρικό φορτίο του σύρματος είναι το ίδιο από σημείο σε σημείο και δεν μπορεί να έχει κάποια παράλληλη συνιστώσα κατά μήκος του σύρματος. Η υποθετική ύπαρξη μιας τέτοιας συνιστώσας θα προκαλούσε αναγκαστικά κάποιες διαφορές στο πεδίο, οι οποίες θα προκαλούσαν διακρίσιμες ιδιότητες από το ένα στο άλλο άκρο του σύρματος. Συνεπώς η κατά μήκος και η παράλληλη μετατόπιση δεν μεταβάλλει κανένα χαρακτηριστικό του πεδίου του σύρματος. Αν το ηλεκτρικό πεδίο εμφάνιζε μια συνιστώσα εφαπτόμενη σε οιονδήποτε κύκλο κάθετο προς το σύρμα δεν μπορούμε να προσδιορίσουμε την φορά της – δηλαδή αν είναι φέρεται αριστερόστροφα ή δεξιόστροφα – οπότε και αυτό το ενδεχόμενο αποκλείεται. Το τελικό συμπέρασμα είναι ότι η συνιστώσα του πεδίου πρέπει να έχει ακτινική κατεύθυνση. Συνεπώς το σχήμα του πεδίου, ειδικότερα όταν τα άκρα του σύρματος είναι πολύ απομακρυσμένα μεταξύ τους, συντίθεται από άπειρες δυναμικές γραμμές κείμενες ακτινικά επί επιπέδων καθέτων προς το σύρμα. Το μέτρο της έντασης E του πεδίου θα είναι μονοσήμαντα ανάλογο από την ακτινική απόσταση εκάστου θεωρούμενου σημείου αυτού από το ομοιόμορφα φορτισμένο σύρμα. Συνεπώς, έχοντας υπόψιν τις προϋποθέσεις που αξιώσαμε, μπορούμε να θεωρήσουμε μια κυλινδρική Γκαουσιανή επιφάνεια ακτίνας r και μήκους l . Το ολικό φορτίο στο εσωτερικό του κυλίνδρου είναι:

$Q_{\Sigma} = \lambda l$ όπου λ αποτελεί το φορτίο στην περιοχή του ευθυγράμμου διαστήματος l . Το ολοκλήρωμα που δίνει την συνολική ηλεκτρική ροή συμπεριλαμβάνει υπολογισμό για κάθε μία από τις δύο βάσεις καθώς και για την λοιπή παράπλευρη επιφάνεια. Επειδή τα \mathbf{E} και το $d\mathbf{A}$ είναι κάθετα μεταξύ τους οπότε δεν συνεισφέρουν στο ολοκλήρωμα. Για λόγους συμμετρίας το \mathbf{E} είναι κάθετο προς την παράπλευρη επιφάνεια και παράλληλο προς το $d\mathbf{A}$ σε κάθε της σημείο. Επομένως το \mathbf{E} είναι ίσο σε όλα τα σημεία της παράπλευρης επιφάνειας. Εφαρμόζοντας την εξίσωση (18) στην παράπλευρη επιφάνεια του κυλίνδρου έχουμε:

$$\Phi_{\Sigma} = (\mathbf{E}) \cdot (2\pi r l) = \lambda l / \epsilon_0 \text{ και } \mathbf{E} = (1/4\pi\epsilon_0)(\lambda/r) \quad (24)$$

Στο σημείο αυτό πρέπει να σημειώσουμε ότι παρά το γεγονός του ότι όλο το φορτίο το ισοκατανεμημένο κατά μήκος του σύρματος συμβάλει στην E του ηλεκτρικού πεδίου, όμως στην περίπτωση της ηλεκτρικής ροής της κυλινδρικής Γκαουσιανής επιφάνειας, που θεωρήσαμε, λαμβάνεται υπ' όψιν μόνο εκείνο το κλάσμα του φορτίου που συμπεριλαμβάνεται στο μήκος l . Το ζήτημα που δημιουργείται εδώ είναι ότι καταλήξαμε σε μια σωστή απάντηση αγνοώντας το συνολικό φορτίο και λαμβάνοντας μόνον το φορτίο το κατανεμημένο σε ένα διάστημα μικρού μήκους l . Αλλά κάνοντας χρήση της συμμετρίας του προβλήματος συμπεριλαμβάνουμε όλο το φορτίο. Αν το σύρμα είναι μικρού μήκους, τότε η συμμετρία σε σχέση με την μετατόπιση κατά μήκος του άξονα δεν υφίσταται και το πεδίο δεν έχει σταθερό μέτρο πάνω στην Γκαουσιανή επιφάνεια. Σ αυτή την περίπτωση ο νόμος του Gauss περνά σε δεύτερη μοίρα και το πρόβλημα αντιμετωπίζεται καλύτερα μέσω του νόμου του Coulomb. Πρέπει να σημειώσουμε ότι η Γκαουσιανή επιφάνεια κυλινδρικού τύπου μπορεί να αναχθεί σε μια ευθεία καθόσον το ηλεκτρικό πεδίο μπορεί να υπολογιστεί με τον νόμο του Coulomb.

Υπάρχουν και άλλα γεωμετρικά σχήματα τα οποία αποτελούν, τρόπον τινά, μοντέλα για τον υπολογισμό της ροής κατά Gauss και τα οποία μας βοηθούν να κατανοήσουμε την μετάπτωση από τον νόμο του Gauss στον νόμο του Coulomb τανάπαλι και. Για να μην τα αναπτύξουμε αναλυτικά θα τα αναφέρουμε επιγραμματικά είναι:

1^{ov}) το μοντέλο του φορτισμένου επιπέδου φύλλου απείρων διαστάσεων.

2^{ov}) το μοντέλο του πεδίου μεταξύ αγώγιμων πλακών φορτισμένων με αντίθετου πρόσημου ηλεκτρικά φορτία (χρήσιμο για τις εφαρμογές στους πυκνωτές)

3^{ov}) το μοντέλο της ομοιόμορφα φορτισμένης σφαίρας συνιστάμενης εκ μονωτικού υλικού.

Τα εν λόγω μοντέλα είναι χρήσιμα για πολλές εφαρμογές, αλλά και για προβλήματα περιγραφής των ηλεκτρικών πεδίων μέσα στα βιολογικά συστήματα, μεταξύ των οποίων τα κύτταρα, οι ιστοί, τα όργανα και το συνολικό σώμα του ανθρώπου. Πρέπει να υπογραμμίσουμε ήδη με έμφαση ότι η **συνολική δομή παραγωγής ενέργειας των ανθρώπινων κυττάρων, αλλά και κάθε έμβιου όντος έχει πολύ μεγάλες αναλογίες με τα ηλεκτρικά στοιχεία και τους πυκνωτές**, όπως θα δούμε στην εξειδικευμένη ανάλυση που θα κάνουμε σε άλλο κεφάλαιο.

Φορτία πάνω σε αγωγούς – ηλεκτροστατική γεννήτρια Van de Graff

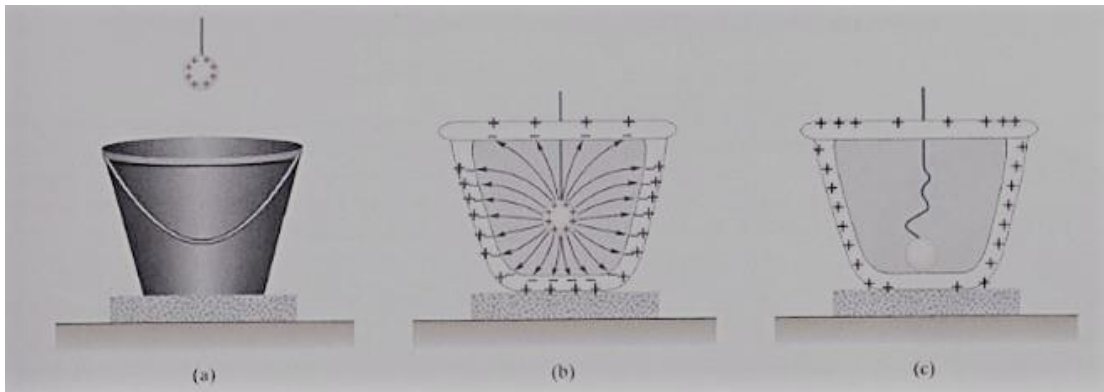
Γνωρίζουμε ότι σε ένα φορτισμένο αγωγό, λόγω της κινητικότητας των φορτίων αυτά κατανέμονται πάντα επιφανειακά. Σε μια Γκαουσιανή επιφάνεια στο εσωτερικό του αγωγού το $E = 0$. Σε έναν κοίλο αγωγό πάλι το E στο εσωτερικό του μηδενίζεται. Αν θέσουμε φορτίο αρνητικού προσήμου στην κοιλότητα του αγωγού μέσα σε μονωτικό υλικό και πάλι η $E = 0$ για λόγους ηλεκτροστατικής αλληλεπίδρασης.

Μια πολύ σημαντική τεχνολογική εφαρμογή του εν λόγω φαινομένου είναι η γεννήτρια Van de Graff. Η μηχανή αυτή βασίστηκε στο περίφημο πείραμα του Faraday με το δοχείο του πάγου (εικόνα 8): τοποθετώντας έναν μεταλλικό κάδο επάνω σε μια μονωτική βάση (π.χ ένα τεμάχιο χονδρού και απολύτως ξηραμένου ξύλου) αν κατεβάσουμε στο εσωτερικό του δοχείου μια μεταλλική φορτισμένη σφαίρα με την χρήση ενός νήματος μονωτικού, καλύψουμε το δοχείο με μεταλλικό κάλυπτρο και αφήσουμε αυτήν, να αιωρείται στο εσωτερικό, τότε εξ επαγωγής όλος ο μεταλλικός κάδος φορτίζεται, αλλά στο εσωτερικό του το $E = 0$, όπως ήδη είπαμε. Αν αφήσουμε την φορτισμένη σφαίρα να πέσει στον πυθμένα του δοχείου αυτή εκφορτίζεται και το φορτίο της οδεύει προς την επιφάνεια του μεταλλικού κάδου. Το φορτίο παραμένει στην επιφάνεια του κάδου, ενώ η ένταση του ηλεκτρικού πεδίου στο εσωτερικό αυτού είναι μηδενική. Το πείραμα αυτό αποτέλεσε την βάση για να δημιουργηθούν δύο πολύτιμες τεχνολογίες για τις ηλεκτρικές και ηλεκτρομαγνητικές εφαρμογές:

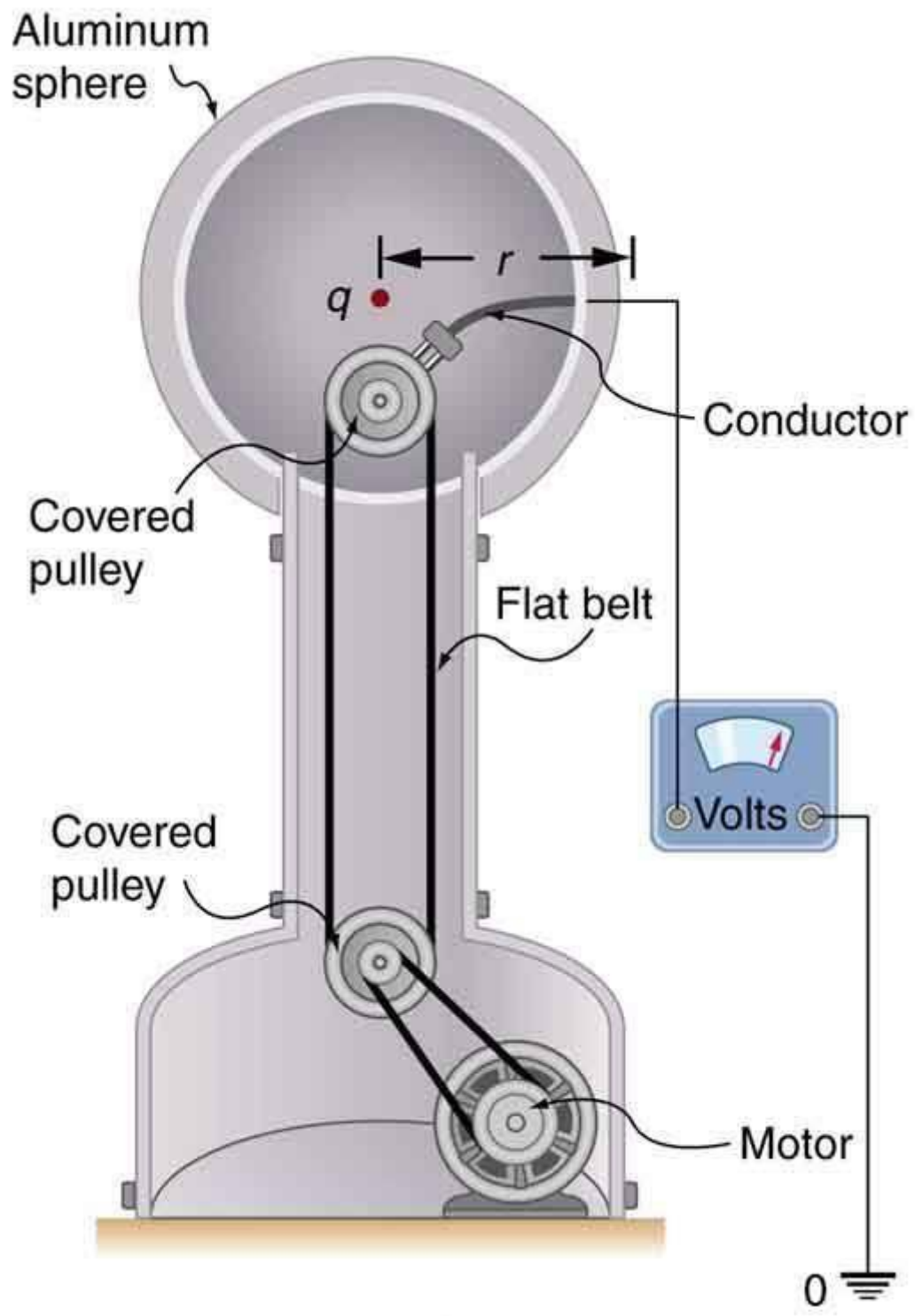
1^{ov}) Η ηλεκτροστατική γεννήτρια Van de Graaff και 1^{ov}) ο περίφημος κλωβός του Faraday.

Η μηχανή του Van de Graaff είναι μια παραλλαγή του πειράματος Faraday, καθώς αποτελείται από δύο ομόκεντρα σφαιρικά δοχεία εν των οποίων το μικρότερο φέρει ένα ηλεκτρόμετρο, δηλαδή μια συσκευή που δείχνει την ύπαρξη φορτίου, όπως επίσης καταγράφει με ακρίβεια ακόμα και τις μικρές του διαφορές. Όπως βλέπουμε, όλη η κατασκευή στηρίζεται επί ενός μονωτικού άξονα στον οποίο είναι βιδωμένα τα δύο σφαιρικά δοχεία και ο όλο το σύστημα εδράζεται επίσης επί ενός μονωτικού βάθρου. Στα δεξιά της διάταξης υπάρχει μια τροφοδοτική συσκευή, που παράγει τα ηλεκτρικά φορτία τα οποία διά ενός αγωγού σύρματος μεταφέρονται στο εξωτερικό σφαιρικό δοχείο, ενώ μέσω ενός αγωγού γείωσης τα ηλεκτρόνια που προκύπτουν από την ηλεκτρίση διοχετεύονται στο έδαφος. Το ηλεκτρόμετρο δείχνει πάντα με ακρίβεια αν γίνεται κάποια μεταφορά φορτίου μεταξύ των ομόκεντρων σφαιρών. Αν ισχύει ο νόμος του Gauss δεν

μπορεί να υπάρξει ποτέ κανένα φορτίο στην εσωτερική επιφάνεια της εξωτερικής σφαίρας, οπότε δεν μπορεί επίσης να υπάρξει ροή φορτίου μεταξύ των ομόκεντρων σφαιρών κατά τους κύκλους φόρτισης – εκφόρτισης της εξωτερικής σφαίρας. Το πείραμα αποδεικνύει ότι ποτέ δεν υπάρχει ροή ρεύματος μεταξύ των σφαιρών κι έτσι επιβεβαιώνεται πειραματικά ο νόμος του Gauss, όπως και κατ' επέκτασιν ο νόμος του Coulomb. Ο περιοριστικός παράγοντας του εν λόγω πειράματος είναι η ακρίβεια του ηλεκτρομέτρου, αλλά σχετικά πρόσφατα πειράματα (1986) έδειξαν ότι ο εκθέτης 2 στον παράγοντα $1/r^2$ στον νόμο του Coulomb, είναι διαφέρει λιγότερο από 10^{-16} και συνεπώς η πρώτη ιστορική διατύπωση του εν λόγω νόμου είναι εξαιρετικά ακριβής, παρά την αδρή τεχνολογία εκείνης της μακρινής εποχής.

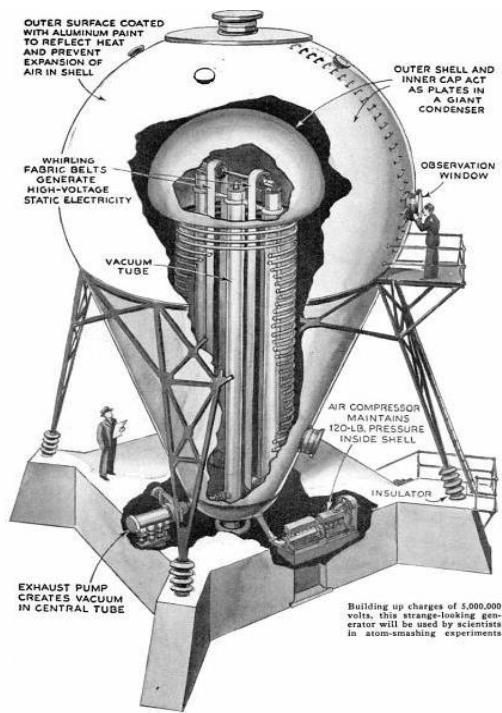


Εικόνα 8 Δοχείο του πάγου, ως αρχή της γεννήτριας Van de Graaff



Εικόνα 9 Κάθετη τομή της γεννήτριας Van de Graaff

Στην γεννήτρια Van de Graaff η φορτισμένη σφαίρα του δοχείου πάγου Faraday έχει αντικατασταθεί από έναν φορτισμένο ιμάντα ο οποίος φέρει διαρκώς ηλεκτρικά φορτία που διοχετεύονται στο εσωτερικό μιας κοίλης μεταλλικής σφαίρας (aluminum sphere) και κατανέμονται κατόπιν στην εξωτερική επιφάνεια αυτής, μέσω ενός αγωγίμου ηλεκτροδίου (conductor) που το ένα άκρο του είναι συγκολλημένο στην μεταλλική σφαίρα και το άλλο φέρει ψηκτροειδή δομή (βούρτσα) με μεταλλικές ίνες που αγγίζουν διαρκώς τον κινούμενο ιμάντα. Ο ιμάντας περιστρέφεται μέσω δύο τύμπανων, το τύμπανο στο εσωτερικό της σφαίρας αλουμινίου (covered pulley) – φτιαγμένο από ακριλικό πλαστικό υλικό ή σκληρό συμπαγές γυαλί, και το τύμπανο (covered pulley) το οποίο είναι μεταλλικό και περιστρέφεται μέσω χαλύβδινου άξονα. Ο ατέρμονος ιμάντας και τα τύμπανα περιστροφής ευρίσκονται στο εσωτερικό ενός κυλίνδρου, που, αναλόγως της περιπτώσεως είναι υάλινος ή εκ διαφανούς πλαστικού (για εκπαιδευτικούς σκοπούς), ή από παχύ μονωτικό υλικό. Ο ιμάντας όταν διέρχεται από το κάτω τύμπανο τρίβεται ελαφρά επί μιας ψήκτρας που ενώνεται με αγωγίμο καλώδιο με την εξωτερική σφαιρική διάταξη. Το ανεχόμενο μέρος του ιμάντα, κατά την κίνησή του, φορτίζεται στην εξωτερική επιφάνειά του θετικά, ενώ στην εσωτερική του αρνητικά. Τα θετικά φορτία απάγονται και διοχετεύονται στην σφαίρα εξωτερικά, ενώ τα αρνητικά φορτία μέσω του αγωγού που συνδέεται με την κάτω ψήκτρα διοχετεύονται στην μικρότερη εξωτερική σφαίρα. Όταν η διαφορά δυναμικού μεταξύ των δύο σφαιρών υπερβεί μια συγκεκριμένη τιμή, τότε μεταξύ αυτών δημιουργείται ένας ηλεκτρικός σπινθήρας, που έχει την μορφή μιας αστραπής. Η ηλεκτροστατική γεννήτρια Van de Graaff χρησιμοποιείται ως εποπτικό εργαλείο για την διδασκαλία της φυσικής, αλλά η σοβαρότερη ερευνητική εφαρμογή της είναι η χρήση αυτής ως συσκευής επιτάχυνσης σωματιδίων. Τα φαινόμενα του μηδενισμού του πεδίου σε δομές βασισμένες στον κάδο του **Michael Faraday** αποτελούν επίσης τον πυρήνα για όλη την τεχνολογία της ηλεκτρικής θωράκισης που είναι κρίσιμης σημασίας για πάρα πολλές εφαρμογές στην καθημερινή ζωή.



Εικόνα 10. Αριστερά: Γεννήτρια Van de Graaff χρησιμοποιούμενη ως επιταχυντής σωματιδίων (1937 Westinghouse). Δεξιά: Το αποτέλεσμα της φόρτισης του σώματος μιας νεαρής γυναίκας μέσω μικρής γεννήτριας Van de Graaff, χρησιμοποιούμενης για εποπτική εκπαίδευση: τα πλούσια μαλλιά της γυναίκας απωθούνται εξ' αιτίας των ομώνυμων φορτίων που φέρνουν καθώς αυτή ακουμπά με το χέρι της την γεννήτρια και φορτίζεται με ηλεκτρισμό.

Ο Κλωβός του Faraday και η ηλεκτρική θωράκιση

Η ηλεκτρική θωράκιση είναι ένα απαραίτητο μέτρο προκειμένου να προστατευτούν τόσο ευαίσθητα όργανα και λειτουργίες, όσο και οι άνθρωποι από διάφορες ηλεκτρικές, μαγνητικές και ηλεκτρομαγνητικές διακυμάνσεις.

Όταν έχουμε ένα ευαίσθητο όργανο η παρουσία ενός ηλεκτρικού πεδίου θα διαταράξει την λειτουργία του, οπότε οι μετρήσεις του δεν θα είναι ακριβείς.

Έχοντας υπόψιν ότι στο εσωτερικό φορτισμένων μεταλλικών δοχείων το πεδίο είναι μηδενικό – όπως έδειξε ο Faraday με τον κουβά του πάγου – τοποθετούμε το όργανο σε ένα αγωγίμο μεταλλικό κιβώτιο.

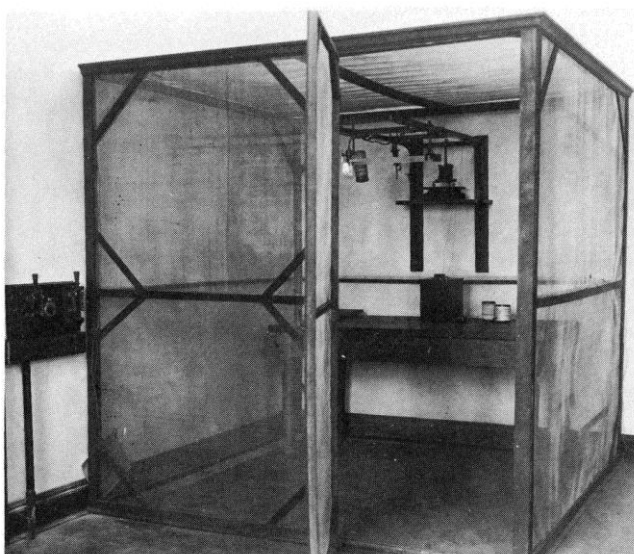
Εναλλακτικά δημιουργούμε ένα δωμάτιο θωρακισμένο στην είσοδο των ηλεκτρικών πεδίων, επιστρώνοντας τα τοιχώματά του με φύλλα μετάλλου, όπως π.χ ο χαλκός ή ο σίδηρος. Η θωράκιση μπορεί να είναι πολύ ενισχυμένη, αλλά επίσης μπορεί να επιτευχθεί και με απλά πλέγματα διασταυρούμενων συρμάτων, αναλόγως ως προς τον σκοπό τον οποίο καλείται να εξυπηρετήσει.

Σε αυτές τις προστατευτικές δομές των κλωβών Faraday το εφαρμοζόμενο εξωτερικώς ηλεκτρικό πεδίο προκαλεί μια ανακατανομή των ελευθέρων φορτίων του αγωγίμου κλωβού, διαμορφώνοντας έναν διαχωρισμό των θετικών και αρνητικών φορτίων που λαμβάνουν πλέον μια διαφορετική διασπορά στους οπλισμούς της θωράκισης. Ο εν λόγω διαχωρισμός των ηλεκτρικών φορτίων προκαλεί την δημιουργία ενός δευτερογενούς ηλεκτρικού πεδίου, ώστε το συνισταμένο άθροισμα των πεδίων να είναι μηδενικό στο εσωτερικό του κιβωτίου, ή του θωρακισμένου δωματίου, όπως προβλέπεται από τον νόμο του Gauss.

Η ένθεση του θωρακισμένου κλωβού στον χώρο εξάπλωσης ενός ηλεκτροστατικού πεδίου, δημιουργεί επίσης μια στρέβλωση των δυναμικών γραμμών του πεδίου, οδηγώντας αυτές, που ευρίσκονται περίξ της θωράκισης, να συγκλίνουν επί αυτής προς τα αρνητικά φορτία και κατόπιν να εξέρχονται από τα θετικά, όπως μας δείχνει το σχηματικό σχέδιο.

Συνεπώς ο κλωβός Faraday είναι μια πολύ σημαντική τεχνολογία, ικανή να προστατεύσει ευαίσθητα όργανα αλλά και ανθρώπους από την δράση εξωτερικών ηλεκτρικών πεδίων. Η εφαρμογή αυτών των κλωβών είναι πάρα πολύ εκτεταμένη σε όλα τα επίπεδα της τεχνολογίας του ηλεκτρισμού.

Στην παρακάτω εικόνα παρουσιάζουμε τον τύπο του κλωβού Faraday που χρησιμοποιήσαμε στην πραγματοποίηση των πειραμάτων μας, προκειμένου να προστατεύσουμε τις συσκευές εκπομπής από εξωγενή ηλεκτρικά πεδία, ώστε να είμαστε βέβαιοι ότι οι συχνότητες που εκπέπαμε ήσαν καθαρές και συγκεκριμένες και δεν αποτελούσαν συνισταμένες και άλλων συχνοτήτων εξωτερικής προέλευσης.



Μοντέλο κλωβού Faraday που χρησιμοποιήσαμε στα πειράματά μας.

ΗΛΕΚΤΡΙΚΟ ΔΥΝΑΜΙΚΟ ΚΑΙ ΠΥΚΝΩΤΕΣ

Το ηλεκτρικό δυναμικό είναι μια μονόμετρη φυσική ποσότητα η οποία μας δείχνει την δυναμική ενέργεια που υπάρχει σε ένα ηλεκτρικό πεδίο ανά μονάδα φορτίου. Ο ακριβής ορισμός του δυναμικού έχει ως εξής:

«Ως **ηλεκτρικό δυναμικό** (ή **δυναμικό ενός ηλεκτρικού πεδίου**) ορίζεται το έργο το οποίο παράγεται από το πεδίο για την μετακίνηση χωρίς επιτάχυνση μιας μονάδας ηλεκτρικού φορτίου από ένα σημείο αναφοράς A προς ένα άλλο οποιοδήποτε σημείο στο εσωτερικό του ηλεκτρικού πεδίου».

Ο γενικός τύπος που ορίζει το δυναμικό σε ένα σημείο A ενός ηλεκτρικού πεδίου είναι ο κάτωθι:

$$V_A = U_A/q \quad (25)$$

Στην ηλεκτροστατική χρησιμοποιείται ένας γενικότερος μαθηματικός τύπος ορισμού για το ηλεκτρικό δυναμικό ενός ηλεκτροστατικού πεδίου, ο οποίος έχει ως εξής:

$$V_E = - \int_C \mathbf{E} \cdot d\boldsymbol{\ell} \quad (26)$$

Όπου C είναι μια αυθαίρετη διαδρομή, η οποία συνδέει το σημείο στο οποίο το δυναμικό του πεδίου είναι μηδέν με ένα σημείο r . Όταν ο στροβιλισμός $\nabla \times \mathbf{E}$ είναι ίσος με το μηδέν τότε το γραμμικό ολοκλήρωμα που παραθέσαμε δεν εξαρτάται από τον τύπο της ακολουθούμενης διαδρομής του φορτίου, αλλά μόνον από το αρχικό και τελικό σημείο αυτής. Στην περίπτωση αυτή το ηλεκτρικό πεδίο είναι ένα πεδίο διατήρησης - στο οποίο το έργο που δαπανάται κατά μήκος μιας κλειστής διαδρομής είναι ίσο με το μηδέν - με αποτέλεσμα το πεδίο αυτού του τύπου να προσδιορίζεται από την κλίση του δυναμικού:

$$\mathbf{E} = - \nabla \cdot V_E \quad (27)$$

Έτσι, σύμφωνα με τον νόμο του Gauss το δυναμικό ακολουθεί την εξίσωση του Poisson: $\nabla \cdot \mathbf{E} = \nabla \cdot (-\nabla V_E) = \nabla^2 V_E = \rho/\epsilon_0$ (28), όπου ρ είναι το ολικό φορτίο και η ποσότητα $(\nabla \cdot)$ δηλώνει την απόκλιση.

Το δυναμικό V σχετίζεται στενά με την δυναμική ενέργεια ενός ηλεκτρικού πεδίου. Ένα δοκιμαστικό φορτίο q έχει μια δυναμική ηλεκτρική ενέργεια U_E η οποία δίνεται από την εξίσωση $U_E = q \cdot V$. Οι εξισώσεις αυτές έχουν έννοια μόνο για το στατικό ηλεκτρικό πεδίο

που εμφανίζει σταθερότητα. Για το εναλλασσόμενο και το εν γένει μεταβαλλόμενο ηλεκτρικό πεδίο ισχύουν άλλες εξισώσεις (εξισώσεις σχετιζόμενες του Maxwell και μετασχηματισμοί του Lorenz).

Η μονάδα μέτρησης του δυναμικού ενός ηλεκτρικού πεδίου στο διεθνές σύστημα μονάδων (SI) είναι το Volt, που υιοθετήθηκε προς τιμήν του μεγάλου Ιταλού επιστήμονα Alessandro Volta. Το volt ορίζεται ως 1 Joule/Coulomb και είναι μια αρκετά μεγάλη μονάδα, ως προς τις μετρητικές εφαρμογές στο πεδίο της βιολογίας, όπου το βασικό υποπολλαπλάσιο είναι το mV, που αναφέρεται κυρίως στο δυναμικό της φόρτισης των κυτταρικών μεμβρανών.

$$1V = 1J/C \quad (29)$$

Σε ότι αφορά το πεδίο που δημιουργείται περίξ ενός σημειακού φορτίου Q το ηλεκτρικό δυναμικό αυτού, σε απόσταση r από το φορτίο, δίνεται από τον τύπο:

$V_E = (1/4\pi\epsilon_0) \cdot (Q/r)$ (30), όπου ϵ_0 είναι η επιτρεψιμότητα (διηλεκτρική σταθερά) του κενού. Στην περίπτωση στην οποία δημιουργείται ένα συνολικό πεδίο από πολλά σημειακά φορτία ή το συνολικό ηλεκτρικό δυναμικό σε ένα σημείο E του συνιστάμενου πεδίου είναι ίσο προς το αλγεβρικό άθροισμα των δυναμικών των επί μέρους πεδίων των σημειακών φορτίων. Ο τρόπος αυτός υπολογισμού του δυναμικού λαμβανόμενο ως μονόμετρο μέγεθος είναι πιο εύκολος αν το δυναμικό ήταν εκφρασμένο διανυσματικά.

Όταν ένα ηλεκτρικό πεδίο μεταβάλλεται συναρτήσει του χρόνου τότε η ικανότητά του για διατήρηση δεν μπορεί να διαρκεί πολύ, παρά να είναι φευγαλέα. Στην περίπτωση αυτή – η οποία είναι πολύ συχνή – το δαπανώμενο έργο εκ μέρους του πεδίου εξαρτάται από το είδος της διαδρομής ενός φορτίου στο εσωτερικό του. Το $V_E = \int_c \mathbf{E} \cdot d\mathbf{l}$ εξαρτάται συνεπώς επίσης από την διαδρομή καθόσον $\nabla \cdot \mathbf{E} \neq 0$ (ο νόμος της επαγωγής του Faraday). Στην περίπτωση αυτή είναι απαραίτητο να οριστεί ένα μονόμετρο δυναμικό που να περιλαμβάνει και το *άνυσμα μαγνητικού δυναμικού* A. Το A πρέπει να οριστεί ώστε να ικανοποιεί την ακόλουθη συνθήκη: $\mathbf{B} = \nabla \times \mathbf{A}$ (31), όπου B είναι το μαγνητικό πεδίο. Εφ' όσον η απόκλιση του μαγνητικού πεδίου είναι μηδέν, καθόσον δεν υπάρχει μονήρης μαγνητικός πόλος, το μαγνητικό πεδίο A μπορεί να προσδιοριστεί. Δοθέντος αυτού η ποσότητα $\mathbf{F} = \mathbf{E} + \partial \mathbf{A} / \partial t$ (32) αποτελεί, βάσει του νόμου του Faraday, ένα πεδίο διατήρησης, οπότε μπορούμε να γράψουμε το εξής: $\mathbf{E} = - \nabla V - \partial \mathbf{A} / \partial t$ (33), όπου V είναι το μονόμετρο μέγεθος του δυναμικού, οριζόμενου από το πεδίο διατήρησης F.

Η έννοια του δυναμικού μπορεί να γενικευτεί για όλα τα πεδία στα οποία, εν γένει ασκούνται δυνάμεις, αλλά η ανάλυσή μας εντοπίζεται εδώ μόνο στο ηλεκτρικό πεδίο, προκειμένου να εκφράσουμε με ένα μονόμετρο μέγεθος την ικανότητά αυτού να παράγει έργο και να δημιουργεί φαινόμενα μετακίνησης φορτίων και φορτισμένων σωμάτων, ή σωματιδίων, όπως π.χ είναι τα ηλεκτρόνια, τα πρωτόνια και τα ποικίλης φύσεως ιόντα μέσα σε αγώγιμα περιβάλλοντα, είτε αυτά είναι στερεά, είτε υγρά, είτε ιονισμένα αέρια ή διαλύματα. Μέσω της εισαγωγής της έννοιας του δυναμικού εισάγεται και μια μαθηματική ανάλυση πιο απλή, εν σχέσει προς την διανυσματική μαθηματική περιγραφή, αν και η τελευταία δίνει με σαφώς μεγαλύτερη ακρίβεια και πληρότητα την εικόνα των φαινομένων.

Στα βιολογικά συστήματα η έννοια του ηλεκτρικού δυναμικού ισχύει κατά κύριο λόγο στο επίπεδο κάθε κυττάρων και αφορά το δυναμικό των κυτταρικών μεμβρανών, το οποίο αποτελεί μια θεμελιακή ιδιότητα του ζωντανού κυττάρου. Στα κύτταρα η κυτταροπλασματική μεμβράνη περιβάλλει συνολικά το πρωτόπλασμα και τα οργανίδια. Από αυτήν επίσης εκφύεται το σύστημα των εσωτερικών μεμβρανικών δομών που διαμερισματοποιούν τα κύτταρα σε μικρότερους χώρους για την επιτέλεση λειτουργικών σκοπών εξειδικευμένων. Επιγραμματικά αναφέρουμε π.χ είναι δύο σπουδαίες ενδοκυττάρια μεμβρανικές δομές, το ενδοπλασματικό δίκτυο και η παραλλαγή του που λέγεται «εργαστόπλασμα» (ή ριβοσωμιακό ενδοπλασματικό δίκτυο) και η μεμβράνη του πυρήνα (ή πυρηνικός φάκελος). Στις μεμβράνες του εργαστοπλάσματος είναι αγκυροβολημένος ένας πολύ μεγάλος αριθμός σωματίων (ριβοσώματα) τοποθετημένα εν σειρά (πολυριβοσώματα), εν είδη κομβολογίων, ή κρίκων αλυσίδων, στα οποία επιτελείται η κρίσιμη σημασίας λειτουργία της συνθέσεως των πρωτεϊνών. Χωρίς τις εσωτερικές μεμβράνες, ως αγκυροβόλια και τοιχώματα περικλείοντα χώρους εξειδικευμένων λειτουργιών, δεν θα ήταν δυνατή η επιβίωση των ευκαρυωτικών κυττάρων, ούτε επί ελάχιστο χρονικό διάστημα. Η εξωτερική κυτταροπλασματική μεμβράνη, η περιβάλλουσα όλες τις κυτταρικές δομές, θεωρείται από τους βιολόγους ως μια ζωντανή δομή, οπότε αντιλαμβανόμαστε ότι αυτή αποτελεί μια σπουδαία συνιστώσα του φαινομένου της ζωής, στην στοιχειώδη του μονάδα, που είναι το κύτταρο.

Συνεπώς, η καλυπτήρια κυτταροπλασματική μεμβράνη έχει δύο βασικές ιδιότητες:

1^{ον}) Αποτελεί το εξωτερικό όριο και ταυτοχρόνως τον κλειστό θύλακα εντός του οποίου ενυπάρχουν όλες οι υπόλοιπες δομές των κυττάρων.

2^{ον}) Αποτρέπει την απώλεια των μορίων τα οποία προκύπτουν από τον συνολικό μεταβολισμό των κυττάρων, μεταξύ των οποίων τα σάκχαρα, τα αμινοξέα, τα ολογοπεπτίδια και πολυπεπτίδια, τα μονονουκλεοτίδια, όπως επίσης και τα μόρια που λειτουργούν ως ενεργειακοί φορείς όπως την μονοφωσφορική αδενοσίνη (AMP), η διφωσφορική αδενοσίνη (ADP), καθώς και τα φωσφορυλιωμένα μόρια της γουανοσίνης (GMP, GDP, GTP αντιστοίχως)

3^{ον}) Εμφανίζει το φαινόμενο της εκλεκτικής διαπερατότητας. Η κυτταροπλασματική μεμβράνη αποτελείται από δύο στοιβάδες φωσφολιπιδίων με τα φωσφολιπίδια διατεταγμένα έτσι ώστε οι υδρόφιλες ανθρακικές αλυσίδες να στρέφονται προς το υδατικό περιβάλλον (εξωκυττάριο και ενδοκυττάριο υγρό αντιστοίχως η κάθε μονήρης στοιβάδα της μεμβράνης), ενώ οι υδρόφοβες κεφαλές να έρχονται μεταξύ τους σε επαφή συγκρατούμενες με ηλεκτρικές δυνάμεις. Επειδή οι πλευρικές δυνάμεις δεν είναι ισχυρές τα φωσφολιπίδια δεν είναι σταθεροποιημένα αυστηρά σε μια γεωγραφική θέση με αμετακίνητες συντεταγμένες κατά τους άξονες x, y, z, αλλά μπορούν να αλλάζουν θέσεις, η δομή που προτάθηκε από τους S. Singer και G. Nicholson (1972 βιβλιογραφία) είναι αυτή του ρευστού μωσαϊκού (The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. Science. Singer SJ, Nicolson GL 1972 Feb 18;175(4023):720-31).

Οι ελκτικές δυνάμεις μεταξύ εκάστου ζεύγους φωσφολιπιδίων μεταξύ των λιπόφιλων κεφαλών αυτών είναι πολύ μικρές, αλλά το διανυσματικό άθροισμα όλων αυτών των δυνάμεων είναι πολύ ισχυρό και συνεπώς το κύτταρο, μπορεί μεν να αλλάζει μορφή, αλλά η μεμβράνη είναι αρκετά σταθερή μέσα σε έναν πολυκύτταρο οργανισμό, ή σε έναν ελεύθερο μονοκύτταρο οργανισμό, που κινείται στο περιβάλλον. Οι δομές των μεμβρανών θα περιγραφούν εκτενέστερα κατωτέρω. Αυτό όμως που έχει σημασία στο συγκεκριμένο σημείο είναι ότι μεταξύ του εξωτερικού της κυτταροπλασματικής μεμβράνης και του εσωτερικού αυτής υπάρχει μια αξιόλογη διαφορά ηλεκτρικού δυναμικού, η οποία μπορεί να φτάσει και έως και λίγο περισσότερο από τα 100 mV. Το ηλεκτρικό δυναμικό της μεμβράνης είναι μια πολύ σοβαρή ιδιότητά της καθόσον οι μεταβολές του εστιακά, πέραν ενός ορίου (ουδός ή «κατώφλι» ενεργοποίησης), μπορούν να οδηγήσουν την μεμβράνη στο να επιτρέψει μια κατακλυσμιαία είσοδο ιόντων νατρίου και έξοδο ιόντων καλίου, φαινόμενο που είναι γνωστό ως «δυναμικό δράσης», το οποίο οδηγεί στην εκλεκτική ενεργοποίηση ενός κυττάρου, προκειμένου αυτό να εκτελέσει ένα συγκεκριμένο έργο για το οποίο εμφανίζει εξειδίκευση, δηλαδή κυτταρολογική διαφοροποίηση. Π.χ ένα μυϊκό

κύτταρο ενεργοποιούμενο με το δυναμικό δράσης θα εκτελέσει συστολή, ένα αδενικό κύτταρο θα εκτελέσει έκκριση, ένα νευρικό κύτταρο θα εκτελέσει την απελευθέρωση του νευροδιαβιβαστή του, από τα συναπτικά του κομβία μέσα στο μεσοσυναπτικό διάστημα κ.ο.κ.

Συνεπώς στα βιολογικά συστήματα η έννοια του ηλεκτρικού δυναμικού ισχύει κατά κύριο λόγο στο επίπεδο κάθε κυττάρου και αφορά το δυναμικό των κυτταρικών μεμβρανών και την ενεργοποίηση των ειδικών λειτουργιών του κυττάρου, εκ μέρους ερεθισμάτων (μηνυμάτων) είτε εξωτερικών, είτε εσωτερικών, που εκκρίνονται από το ίδιο το κύτταρο προς το περιβάλλον του (βιβλιογραφία, αυτοδιέγερση αιμοπεταλίων, αυτοδιαγειρόμενοι νευρώνες).

Ο ΠΥΚΝΩΤΗΣ ΣΑΝ ΣΥΣΣΩΡΕΥΤΗΣ ΗΛΕΚΤΡΙΚΗΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ ΚΑΙ Η ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗ ΜΕΜΒΡΑΝΗ ΩΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΠΥΚΝΩΤΗΣ

Ως πυκνωτής ορίζεται ένα εργαλείο συσσώρευσης ηλεκτρικού φορτίου (ηλεκτρικής ενέργειας) αποτελούμενο από δύο αγωγούς (οπλισμοί) οιοδήποτε σχήματος αλλά συμμετρικούς και συμπίπτοντες κατά αντιτιθέμενη επιφάνεια, μεταξύ των οποίων παρεμβάλλεται ένας μονωτής. Μιλώντας πρακτικά, οι δύο αγωγοί, οι οποίοι αποτελούν τα τμήματα συσσώρευσης της ηλεκτρικής ενέργειας, είναι φορτισμένοι με αντίθετα ηλεκτρικά φορτία, ίσα κατ' απόλυτη τιμή. Συνεπώς όταν ένας πυκνωτής έχει φορτίο Q αυτό σημαίνει ότι το υψηλότερο φορτίο, δηλαδή το θετικό, θα είναι κατανεμημένο ισόπυκνα στον έναν οπλισμό, ενώ ο συμμετρικός οπλισμός θα έχει φορτίο $-Q$. Το ηλεκτρικό πεδίο σε οποιοδήποτε σημείο στην περιοχή μεταξύ των οπλισμών του πυκνωτή είναι ανάλογο του μέτρου του φορτίου Q σε καθέναν από τους οπλισμούς. Από αυτό το δεδομένο συνάγεται το συμπέρασμα ότι η διαφορά δυναμικού V μεταξύ των δύο οπλισμών του πυκνωτή, δηλαδή το δυναμικό του φορτισμένου θετικά αγωγού α , προς τον αρνητικά φορτισμένο αγωγό β) είναι επίσης ανάλογη του φορτίου Q .

Αν διπλασιάσουμε την ποσότητα του φορτίου κάθε οπλισμού, η πυκνότητα του φορτίου διπλασιάζεται, όπως επίσης διπλασιάζεται η διαφορά δυναμικού μεταξύ των οπλισμών του πυκνωτή, καθώς και το μεταξύ αυτών δημιουργούμενο ηλεκτρικό πεδίο. Όμως το πηλίκο του φορτίου διά της διαφοράς δυναμικού παραμένει πάντα σταθερό, παρά την οποιαδήποτε αύξηση όλων των ανωτέρω παραμέτρων.

Ορίζουμε ως χωρητικότητα του πυκνωτή το πηλίκο του μέτρου του φορτίου Q οποιουδήποτε από τους δύο οπλισμούς του διά του μέτρου της διαφοράς δυναμικού V_{ab} μεταξύ των δύο οπλισμών:

$$C = Q / V_{ab} \quad (31\alpha)$$

Η μονάδα χωρητικότητας στο σύστημα SI είναι το *farad* προς τιμή του μεγάλου φυσικού Michael Faraday. Από την εξίσωση (31α) προκύπτει:

$$1\text{farad} = 1 \text{ coulomb ανά volt: } 1F = 1C/V.$$

Οι πυκνωτές στην ηλεκτρονική και ηλεκτρική τεχνολογία έχουν πολύ μεγάλο αριθμό χρήσεων και χωρίς αυτούς δεν θα ήταν δυνατές οι περισσότερες από τις σύγχρονες ηλεκτρονικές κατασκευές. Έτσι οι πυκνωτές χρησιμοποιούνται ως μονάδες για την αποθήκευση ενέργειας σε παλμικά λέιζερ, σε κυκλώματα που βελτιώνουν την απόδοση των γραμμών μεταφοράς ισχύος εναλλασσόμενης τάσης, σε τσιπ υπολογιστών για την αποθήκευση πληροφοριών και γενικά όταν υπάρχει ανάγκη αποθήκευσης ενέργειας σε μια συγκεκριμένη δομή, ώστε κατόπιν να αποδίδεται με συγκεκριμένο τρόπο προς μία έξοδο.

Βεβαίως στον βιολογικό χώρο οι κατασκευές οι οποίες λειτουργούν ως πυκνωτές είναι οι κυτταροπλασματικές μεμβράνες και γενικότερα οι διπλοστοιβαδικές μεμβράνες τόσο στο περίβλημα, όσο και στο εσωτερικό των κυττάρων.

Είναι σαφές ότι το δυναμικό των μεμβρανών, οι νευρικές ώσεις, η ενεργοποίηση των κυττάρων, η αποδέσμευση ορμονών και νευροδιαβιβαστών, τα εκκριτικά φαινόμενα, οι κινήσεις του κυτταροσκελετού και οι μυϊκή συστολή, δεν θα ήσαν δυνατές χωρίς την δομή ηλεκτρικού πυκνωτή που έχουν οι κυτταρικές μεμβράνες. Όλη η κυτταρική λειτουργικότητα δεν θα ήταν δυνατή χωρίς την δομή πυκνωτή που χαρακτηρίζει τις βιολογικές φυσικές μεμβράνες.

Η χωρητικότητα, έχει διαστάσεις [φορτίο][δυναμικό]⁻¹. Ο υπολογισμός της στην περίπτωση του επίπεδου πυκνωτή, που είναι η πιο απλή μορφή. Συνεπώς δύο παράλληλες αγωγίμες πλάκες, με εμβαδό A η κάθε μία, ευρισκόμενες σε απόσταση d μεταξύ τους. Στους πυκνωτές αυτής της δομής το σχηματιζόμενο ηλεκτρικό πεδίο αναπτύσσεται μεταξύ των πλακών. Μεταξύ των δύο οπλισμών το ηλεκτρικό πεδίο είναι κυρίως ομογενές, με δυναμικές γραμμές κατευθυνόμενες από τον θετικά φορτισμένο οπλισμό και απολήγουσες στον αρνητικά φορτισμένο. Στα περιμετρικά όρια των οπλισμών του πυκνωτή οι

δυναμικές γραμμές καμπυλώνονται και σχηματίζουν κυκλοειδείς πορείες, ακολουθώντας τις μικρότερες δυνατές διαδρομές από τα σχετικά θετικά σημεία προς τα αντίστοιχα αρνητικά, δίνοντας έτσι στην όλη αποτύπωση του πεδίου μια **κροσσωτή εικόνα**. Ωστόσο αν οι επιφάνειες των παράλληλων πλακών είναι μεγάλες και η μεταξύ τους απόσταση d είναι πολύ μικρή η εικόνα του ομογενούς πεδίου επικρατεί σαφώς, ενώ τα φαινόμενα των ορίων (άκρα) είναι αμελητέα. Αυτή η διάταξη σημαίνει ότι οι οπλισμοί έχουν ομοιογενή κατανομή φορτίου, ότι το πεδίο μεταξύ τους είναι ομογενές και συνεπώς εύκολο στον λογισμό των ιδιοτήτων του. Το μέτρο του ηλεκτρικού πεδίου δίδεται από τον τύπο $E = \sigma/\epsilon_0$, όπου σ είναι το μέτρο της επιφανειακής πυκνότητας του φορτίου, σε κάθε οπλισμό. Η πυκνότητα ισούται με το μέτρο του ολικού φορτίου Q διά του εμβαδού A της πλάκας. Συνεπώς $\sigma = Q/A$, οπότε το ολικό πεδίο μπορεί να εκφραστεί ως εξής:

$$E = \sigma/\epsilon_0 = Q/\epsilon_0 A \quad (32a)$$

Επειδή το πεδίο είναι ομογενές και η απόσταση μεταξύ των οπλισμών είναι τότε η διαφορά δυναμικού μεταξύ τους είναι

$V_{AB} = E \cdot d = (1/\epsilon_0) (Q \cdot d/A)$ Από την σχέση αυτή συνεπάγεται ότι η χωρητικότητα C ενός επίπεδου πυκνωτή στο κενό είναι:

$$C = Q/V_{AB} = \epsilon_0 A/d \quad (33a)$$

Τα μεγέθη ϵ_0 , A και d είναι σταθερά για έναν δεδομένο πυκνωτή, αποτελώντας τα χαρακτηριστικά του. Από αυτό συνάγεται ότι η χωρητικότητα αυτού C δεν εξαρτάται από το φορτίο του, αλλά είναι ένα δομικό του μέγεθος. Οπότε ανάλογη προς το εμβαδόν A του κάθε οπλισμού και αντιστρόφως ανάλογη προς την μεταξύ τους απόσταση d . Αν το A εκφράζεται σε τετραγωνικά μέτρα και το d σε μέτρα, τότε η C εκφράζεται σε farad. Οι μονάδες του ϵ_0 είναι $C^2/N \cdot m^2$, οπότε έχουμε την εξής σχέση: $1F = 1 C^2/N \cdot m = 1 C^2/J$. Αφού $1V = 1J/C$ (ενέργεια ανά μονάδα φορτίου, συνεπάγεται ότι $1F = 1C/V$). Τελικώς οι μονάδες του ϵ_0 μπορούν να εκφραστούν ως $1C^2/N \cdot m^2 = 1F/m$.

Στην αρχική μας υπόθεση είπαμε ότι μεταξύ των δύο οπλισμών (πλακών) του επίπεδου πυκνωτή υπάρχει κενό. Όταν όμως μεσολαβεί η τοποθέτηση ύλης τα πράγματα διαφοροποιούνται, όπως θα δούμε παρακάτω για τα διηλεκτρικά μέσα. Η χωρητικότητα ενός πυκνωτή που περιέχει αέρα υπό κανονική ατμοσφαιρική πίεση, αντί του κενού διαφέρει από αυτήν που υπολογίζεται από την εξίσωση 33 κατά τι λιγότερο από 0,06%.

Το F είναι μια πολύ μεγάλη μονάδα και με τις παλιές τεχνολογίες δεν μπορούσαν να κατασκευαστούν πυκνωτές τόσο μεγάλης χωρητικότητας καθόσον η επιφάνειά τους θα ήταν ενός μεγέθους 10 τετραγωνικών χιλιομέτρων, αν η απόσταση μεταξύ των οπλισμών ήταν ίση προς 1 mm. Ωστόσο με τις σύγχρονες τεχνολογίες έχουμε την δυνατότητα να κατασκευάσουμε πυκνωτές τόσο μεγάλης χωρητικότητας με ακμή μόνων λίγων εκατοστών.

Το πλαίσιο όμως της έννοιας του πυκνωτή ως μιας δομής ικανής να αποθηκεύσει ηλεκτρική ενέργεια την οποία μπορεί μέσω κατάλληλων τρόπων να αποδώσει για την παραγωγή ωφέλιμου έργου, έχει μια πολύ εκτεταμένη έκφραση στην δομή και στην λειτουργία των κυτταρικών μεμβρανών. Μάλιστα φαίνεται ότι αν δεν υπήρχε η συγκεκριμένη δομή στις βιολογικές μεμβράνες δεν θα ήταν δυνατή η δημιουργία των ηλεκτρικών δυναμικών τα οποία βρίσκονται στην βάση όλων των ενεργειακών φαινομένων κάθε ζωντανού οργανισμού.

Ένα σημαντικό στοιχείο των πυκνωτών είναι η ένθεση μεταξύ των δύο οπλισμών του μιας μονωτικής δομής, η οποία ονομάζεται **διηλεκτρικό**. **Τα διηλεκτρικά είναι παρεμβαλλόμενα σώματα τα οποία εμποδίζουν την εκτόνωση των αντίθετων φορτίων μεταξύ των οπλισμών**. Το φαινόμενο της εκτόνωσης των φορτίων είναι γνωστό και ως «ηλεκτρικός σπινθήρας», το μέγεθος του οποίου είναι ανάλογο με το αναπτυσσόμενο ηλεκτρικό δυναμικό, δηλαδή με το μέγεθος του φορτίου στους οπλισμούς. Αν δεν υπήρχαν τα διηλεκτρικά μονωτικά σώματα δεν θα ήταν δυνατή η συσσώρευση μεγάλων ποσοτήτων ηλεκτρικού φορτίου στους οπλισμούς, οπότε δεν θα ήταν δυνατή η συσσώρευση της ηλεκτρικής ενέργειας και η λειτουργία των ηλεκτρικών τεχνολογιών, πάσης φύσεως. Οπωσδήποτε δεν θα ήταν επίσης δυνατή και η λειτουργία των κυτταρικών μεμβρανών, ως συσσωρευτών ηλεκτρικής ενέργειας μέσω διαχωριστικής διακίνησης ιόντων διά των λιποπρωτεϊνικών μεμβρανών.

Η ανάπτυξη υψηλού δυναμικού μεταξύ των οπλισμών του πυκνωτή, λόγω συσσώρευσης μεγάλων φορτίων φτάνει σε ένα ορισμένο οριακό σημείο, πέραν του οποίου τα ηλεκτρόνια της αρνητικής πλάκας απωθούνται έντονα από την μάζα του οπλισμού και τελικά διαρρέουν προς τον άλλον οπλισμό, δημιουργώντας τον λεγόμενο ηλεκτρικό σπινθήρα, ο οποίος είναι στην πραγματικότητα μια ροή ηλεκτρικού ρεύματος απουσία ενός αγωγού. Η διαρροή αυτή διευκολύνεται διότι ο απέναντι κείμενος οπλισμός, ο φορτισμένος θετικά

έλκει τα ηλεκτρόνια, τα οποία όταν υπερβούν την αντίσταση του λεγόμενου «φρέατος δυναμικού» είναι δυνατόν να ξεφύγουν από τους δομικούς περιορισμούς του μεταλλικού πλέγματος σχηματίζοντας έτσι ροή.

Τα διηλεκτρικά σώματα εμφανίζουν μια δομή, η οποία δεν επιτρέπει την ροή ελεύθερων ηλεκτρονίων μέσα στην μάζα τους. Αν αποτελούνται από δίπολα μόρια, τότε, υπό την δράση του ηλεκτρικού πεδίου, το οποίο σχηματίζεται από τους αντιτιθέμενους, ετερώνυμα φορτισμένους, οπλισμούς του πυκνωτή, τότε ο αρνητικός πόλος των μορίων προσανατολίζεται προς τον θετικά φορτισμένο οπλισμό και ο θετικός πόλος των μορίων στρέφεται προς τον αρνητικά φορτισμένο οπλισμό, ακολουθώντας την κατεύθυνση και φορά των δυναμικών γραμμών του πεδίου. Συνεπώς η δομή της μάζας του διηλεκτρικού αποκτά μεγαλύτερη τάξη μέσω της διαμόρφωσης που δημιουργεί η δράση του ομογενούς ηλεκτρικού πεδίου. Το φαινόμενο της εμφάνισης φορτίων αντιθέτου πολικότητας στο εσωτερικό ενός διηλεκτρικού ονομάζεται *ηλεκτρική επαγωγή*.

Αρνητική εντροπία (νεγκεντροπία) – πληροφορία, πυκνωτές και διηλεκτρικά

Η εμφάνιση τάξης μέσα σε ένα υλικό σώμα, οι δομικές μονάδες του οποίου είχαν προηγουμένως μια τυχαία κατανομή είναι αποτέλεσμα της μείωσης της εντροπίας του εν λόγω σώματος. *Δεδομένου ότι η μείωση της εντροπίας – η αρνητική εντροπία – είναι ισοδύναμη με την φυσική έννοια της πληροφορίας* συνεπάγεται ότι οι διαδικασίες της τακτοποίησης των δομικών μονάδων ενός διηλεκτρικού σώματος, μέσω της επίδρασης ενός ηλεκτρικού πεδίου, προερχομένου από τους οπλισμούς ενός πυκνωτή, *είναι τρόπος ανάπτυξης πληροφορίας μέσα στο θεωρούμενο υλικό σώμα*. Αν η διευθέτηση των δομικών μονάδων του διηλεκτρικού σώματος, σε συγκεκριμένες θέσεις, εξαρτάται από την διαρκή ύπαρξη του πεδίου, ενώ υπάρχουν δυνάμεις εσωτερικού τύπου που τείνουν να τις επαναφέρουν στην προηγούμενη της εφαρμογής του πεδίου ισορροπία, τότε η διακοπή του πεδίου οδηγεί τις δομικές μονάδες σε επαναφορά στην πρότερη θέση και στην απώλεια της δημιουργηθείσας τάξης, με ταυτόχρονη εκτόνωση (σκέδαση) της δυναμικής ενέργειας – που αυτές προσέλαβαν από το πεδίο – και απώλεια της πληροφορίας. Αν, ωστόσο, οι νέες θέσεις των δομικών μονάδων του στερεού, που αποκτήθηκαν μέσω της εφαρμογής του ηλεκτρικού πεδίου, τείνουν να διατηρηθούν σταθερές τότε η πληροφορία, νοούμενη ως αύξηση τάξης και μείωση εντροπίας, θα μείνει επίσης σταθερή. Αν, τέλος, οι αναπροσανατολισμένες δομικές μονάδες του θεωρούμενου στερεού αρχίζουν και επιστρέφουν στις αρχικές τους θέσεις με βραδύ ρυθμό, τότε η πληροφορία φθίνει βραδέως και περιπίπτει, μετά από έναν

ορισμένο χρόνο σε αταξία. Αν στο ενδιάμεσο εφαρμοστεί ξανά το ηλεκτρικό πεδίο τότε η πληροφορία θα επανεμφανιστεί. Τα δεδομένα αυτά μας δίνουν μια εικόνα του πώς μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε τους πυκνωτές και τα διηλεκτρικά ως συσκευές δημιουργίας πληροφορίας, ή αποθήκευσης πληροφορίας, υπό συγκεκριμένες συνθήκες. Σε όλες αυτές τις αλλαγές θέσης υπάρχουν ενεργειακές μεταβολές στις οποίες ισχύει αναγκαστικά το 1^ο και 2^ο αξίωμα της διατήρησης της ενέργειας, δηλαδή ο πρώτος και δεύτερος θερμοδυναμικός νόμος. Συγκεκριμένα:

1^ο) το σύνολο της ενέργειας που υπάρχει στο θεωρούμενο σύστημα – εν προκειμένω τον πυκνωτή και το διηλεκτρικό – είναι σταθερό, παρ' όλες τις ενεργειακές και δομικές μεταβολές που υφίσταται, μέσα στον χρόνο.

2^ο) Οποιαδήποτε ενεργειακή μεταβολή θέσης ή κίνησης, δεν είναι 100% από μια μορφή ενέργειας σε μια άλλη, αλλά σε ένα ποσοστό της μεταπίπτει αναγκαστικά σε ενέργεια υπό την μορφή θερμότητας.

Συνεπώς αναγκαστικά και ένα φαινόμενο δημιουργίας τάξης δεν μπορεί παρά να ακολουθήσει τους δύο νόμους της διατήρησης της υλοενέργειας. Συνεπώς, για να ερμηνεύσουμε την αυθόρμητη ανάδυση τάξης από τις μεταβολές της υλοενέργειας ενός συστήματος πρέπει να δεχτούμε τις εξής υποθέσεις:

1^ο) Είτε το θεωρούμενο σύστημα (εν προκειμένω πυκνωτής και διηλεκτρικό) κείται μακράν της θερμοδυναμικής ισορροπίας.

2^ο) Είτε το φαινόμενο της ανάπτυξης τάξης και δομής μέσα στο σύστημα αυτό δεν αντιφάσκει ούτε με τον πρώτο, ούτε με τον δεύτερο θερμοδυναμικό νόμο, συναρτηθεί του χρόνου.

3^ο) Είναι δυνατόν να ισχύουν και οι δύο ανωτέρω υποθέσεις.

Η θερμοδυναμική που μελετά την δημιουργία τάξης, ταυτόχρονα με την σκέδαση της ενέργειας, έχει αναπτυχθεί σε μεγάλο ποσοστό από την σχολή του Elia Prigogine και σήμερα αποτελεί ένα πυκνό εννοιολογικό χώρο, ο οποίος τείνει να περιλάβει τόσο την κυβερνητική, όσο και την βιοφυσική. Το πρώτο εννοιολογικό παράδοξο το οποίο έθεσε το ζήτημα της δημιουργίας τάξης σε δομημένα συστήματα ευρισκόμενα σε ισορροπία, είναι ο περίφημος «*δαίμονας του Maxwell*».

Η έννοια αυτού του όντος έχει προταθεί από τον μεγάλο φυσικό.

Τα φαινόμενα δημιουργίας τάξης με τον τρόπο αυτό είναι πολύ σημαντικά για την αποθήκευση πληροφορίας σε ηλεκτρονικές συσκευές, κατασκευασμένες με εξειδικευμένους τρόπους. Η ανάλυση αυτού του αντικειμένου βγαίνει από τα όρια της παρούσας διδακτορικής διατριβής, αλλά είναι πολύ σημαντικό να υπογραμμίσουμε ότι οι πυκνωτές και τα διηλεκτρικά είναι συσκευές με τις οποίες δημιουργούμε και αποθηκεύουμε πληροφορίες μέσα σε υλικά σώματα συγκεκριμένης σύστασης και μοριακής δομής. Οι πυκνωτές καθώς και τα διηλεκτρικά τους εμφανίζουν μεγάλες αναλογίες με τις κυτταρικές μεμβράνες, οπότε μπορούμε, κατ' αρχάς, να θεωρήσουμε ότι οι κυτταρικές μεμβράνες μπορούν τόσο να δημιουργήσουν φαινόμενα τάξης, όσο και να άγουν ή να διατηρήσουν πληροφορία, η οποία διευκολύνει την δημιουργία ορισμένων φαινομένων στο εσωτερικό των κυττάρων, που πάντα περιβάλλονται από μια κυτταροπλασματική μεμβράνη, η οποία αποτελεί μεν το εξωτερικό τους όριο, αλλά ταυτόχρονα είναι και μια πολυσχιδής πύλη εισόδου πολλών πληροφοριών, που μπορεί να λειτουργήσουν ως εντολές για την συμπεριφορά των κυττάρων, όπως θα δούμε ευθύς αμέσως. Από την άλλη πλευρά επίσης η κυτταροπλασματική μεμβράνη να λειτουργήσει και ως πύλη εξόδου των αποκρίσεων του κυττάρου, εν σχέσει προς τα μηνύματα που δέχεται από το σύνολο του οργανισμού. Αν η κυτταρική μεμβράνη δεν είχε την δομή ενός πυκνωτή τότε δεν θα ήταν δυνατή η πληροφορική λειτουργία αυτής και συνεπώς δεν θα υπήρχε καμιά δυνατότητα επικοινωνίας των κυττάρων μεταξύ τους, ώστε όλα μαζί να αντιδρούν και να συλλειτουργούν στο ενιαίο σύστημα που είναι ο πολυκύτταρος οργανισμός. Κατά μια έννοια θα μπορούσαμε να παρομοιάσουμε την κυτταροπλασματική μεμβράνη σαν ένα σφαιροειδές ηλεκτρολόγιο, τα πλήκτρα του οποίου είναι οι υποδοχείς πάρα πολλών ουσιών που ο οργανισμός παράγει, προκειμένου να συντονίσει και να ενορχηστρώσει τα τρισεκατομμύρια των κυττάρων του στην ενιαία προσπάθεια της επιβίωσης, της ανάπτυξης, της προσαρμογής και της διάδοσης της ζωής. Οι ουσίες που εκπέμπονται από τα μείζονα κυβερνητικά συστήματα του πολυκύτταρου οργανισμού, δηλαδή το νευρικό και το ενδοκρινικό σύστημα, αποτελούν τα «δάκτυλα» που πιέζουν τα «πλήκτρα» αυτού του κυτταροπλασματικού «κλαβιέ», προκειμένου να υπάρξει η κατάλληλη απάντηση κάθε μεμονωμένου κυττάρου, η μικρή, αλλά ουσιώδης συνεισφορά του στην ολική ζωή του οργανισμού ως ενιαίου συνόλου.

Η δομή και η λειτουργία της κυτταρικής μεμβράνης ως μηχανισμού πληροφόρησης και ενεργοποίησης του κυττάρου

Ήδη από τα τέλη του 18^{ου} αιώνα είχαν πραγματοποιηθεί στην Ιατρική Σχολή της Μπολόνια της Ιταλίας μια σειρά πειραμάτων, σε παρασκευάσματα ποδιών βατράχων, από τον καθηγητή Ανατομίας **Luigi Galvani** και τον **Giovanni Aldini** που έδειχναν μια άμεση σχέση της μυϊκής συστολής αλλά και της νευρικής λειτουργίας με την ικανότητα των ζωντανών ιστών να παράγουν ηλεκτρική ενέργεια. Τα παρασκευάσματα ποδιών βατράχων που παρέμειναν ακόμη ζωντανά, εμφάνιζαν μυϊκή συστολή όταν οι πειραματιστές άγγιζαν τους μυς του ποδιού με ένα σύρμα καθαρού μετάλλου, το οποίο βρισκόταν σε επαφή με ένα σύρμα ενός διαφορετικού καθαρού μετάλλου, το οποίο όμως έρχονταν σε επαφή με τα υγρά των ιστών του ποδιού. Με τις σημερινές μας γνώσεις μπορούμε να κατανοήσουμε ότι τα δύο διασταυρούμενα σύρματα των διαφορετικών μετάλλων μαζί με τους μυς του ποδιού και τα υγρά των ιστών, σχημάτιζαν ένα κλειστό κύκλωμα, το οποίο διήγειρε την μυϊκή συστολή. Βεβαίως στην περίπτωση αυτού του πειράματος δεν υπήρχε μια εξωτερική πηγή ηλεκτρισμού, οπότε οι δύο ερευνητές ερμήνευσαν το φαινόμενο «ως μια εκφόρτιση ζωικού ηλεκτρισμού» ο οποίος έρρεε από τα νεύρα και συσσωρευόταν στους μυς». Οι ερευνητές υπέθεσαν ότι το «ηλεκτρικό ρευστό» διήλθε από τον μυ, μέσω του μετάλλου στο νεύρο και η συνακόλουθη ηλεκτρική εκφόρτιση προκάλεσε την σύσπαση. Οι παρατηρήσεις των φαινομένων αυτών δημοσιεύτηκαν το 1791, αλλά οι αρχικές ερμηνείες τους αποδείχτηκαν σε μεγάλο βαθμό εσφαλμένες από μεταγενέστερες έρευνες. Ωστόσο η εργασία των δύο Ιταλών επιστημόνων ενεργοποίησε το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας να ερευνηθεί με έμπνευση δύο σημαντικά πεδία της Φυσιολογίας: την νευρική και μυϊκή διέγερση, καθώς και την χημική προέλευση του ηλεκτρισμού.

Ο φυσικός **Alessandro Volta** συνέχισε τα πειράματα των Galvani και Aldini και το 1792 πρότεινε μια πιο απλή ερμηνεία των φαινομένων της σύσπασης των μυών του νευρομυϊκού παρασκευάσματος ποδιού βατράχου, η οποία συνοψίστηκε στην ακόλουθη πρόταση: «Ο ηλεκτρικός ερεθισμός που οδήγησε σε μυϊκή σύσπαση στα πειράματα των Galvani και Aldini δημιουργήθηκε έξω από τον ιστό με την επαφή των δύο διαφορετικών μετάλλων με το υγρό του ιστού». Συνεπώς δεν είχε σχέση με την εκφόρτιση συσσωρευμένου ηλεκτρισμού στον μυ. Μετά από αρκετά χρόνια ο Volta απέδειξε την ηλεκτρολυτική προέλευση του ηλεκτρικού ρεύματος από διαφορετικά μέταλλα. Η απόδειξη αυτή καθυστέρησε διότι εκείνη την εποχή δεν υπήρχαν ακριβή όργανα για την

ανίχνευση ασθενών ηλεκτρικών ρευμάτων. Είναι πολύ σημαντικό να υπογραμμίσουμε ότι το νευρομυϊκό παρασκεύασμα του ποδιού του βατράχου τότε ήταν ο πλέον ευαίσθητος μηχανισμός καταγραφής ενός ασθενούς ηλεκτρικού ρεύματος.

Ο Alessandro Volta βρήκε εν συνεχεία ότι μπορούσε να αυξήσει τον ηλεκτρισμό που παραγόταν ηλεκτρολυτικά, τοποθετώντας μέταλλο, ορό, ζωντανούς ιστούς, εν σειρά. Το αποτέλεσμα της εργασίας του ήταν μια συσκευή παραγωγής ηλεκτρικού ρεύματος, που ονομάστηκε Βολταϊκός συσσωρευτής, η οποία αποτελεί την βάση για την κατασκευή των λεγόμενων συσσωρευτών. Ο συσσωρευτής του Volta ήταν μια κατασκευή, εν είδει πακέτου, από εναλλασσόμενες πλάκες αργύρου και ψευδαργύρου, που διαχωριζόταν από χαρτί εμποτισμένο σε ορό. Συνεπώς με το έργο του Volta τεκμηριώθηκε κατά αναντίρρητο τρόπο η ηλεκτρολυτική προέλευση του ηλεκτρισμού και η ηλεκτροχημική βάση των φαινομένων που παρατήρησαν οι Galvani και Aldini. Οι ερευνητές αυτοί απέτυχαν να αποδείξουν την ύπαρξη ζωικού ηλεκτρισμού, αλλά έδειξαν πολύ καλά την ευαισθησία των ζωικών ιστών στο ηλεκτρικό ρεύμα. Πενήντα χρόνια μετά, το 1840, ο επίσης Ιταλός επιστήμων **Carlo Matteucci** χρησιμοποίησε το ρεύμα ενός συσπώμενου μυός για να διεγείρει ένα δεύτερο νευρομυϊκό παρασκεύασμα. *Με το συγκεκριμένο πείραμα ο Matteucci έδειξε ότι ο διεγέρσιμος ιστός παράγει ηλεκτρικό ρεύμα.*

Μετά τον 19^ο αιώνα αποδείχτηκε πλέον ότι η παραγωγή και επεξεργασία μηνυμάτων από το νευρικό σύστημα, όπως επίσης και η μυϊκή συστολή, είναι φαινόμενα που εξαρτώνται από τις ηλεκτρικές ιδιότητες των κυτταρικών μεμβρανών.

Πώς όμως οι κυτταρικές μεμβράνες είναι δυνατόν να παράγουν ηλεκτρικό φορτίο και να δημιουργήσουν ηλεκτρικά ρεύματα;

Οι κυτταρικές μεμβράνες – και κυρίως η περιβάλλουσα μεμβράνη των κυττάρων – είναι δομές οι οποίες από την φύση τους άγουν ελάχιστα ή και καθόλου τον ηλεκτρισμό. Αποτελούνται από δύο παράλληλες στοιβάδες φωσφολιπιδίων, που απέχουν ελάχιστα μεταξύ τους (σημείο στο οποίο θα επανέλθουμε όταν μελετήσουμε την αναλογία τους με τους πυκνωτές). Σε κάθε στοιβάδα της μεμβράνης τα υδρόφοβα άκρα των φωσφολιπιδίων συμπλησιάζουν μεταξύ τους εξ αιτίας της λιποδιαλυτής τους φύσης και τείνουν να διαταχθούν παράλληλα.

Από την άλλη πλευρά τα υδρόφιλα άκρα των φωσφολιπιδίων τείνουν να στραφούν προς τα περιβάλλοντα που περιέχουν μεγάλη ποσότητα ύδατος. Τα περιβάλλοντα αυτά είναι το

εξωκυττάριο υγρό και το ενδοκυττάριο υγρό. Συνεπώς και μόνο από την αμφίφυλη, ως προς την διαλυτότητα φύση τους, τα φωσφολιπίδια τείνουν να σχηματίσουν εύτακτες δομές, που είναι οι μεμβράνες και τα μικροσφαιρίδια, τα οποία είναι σφαιρικές διαμορφώσεις που μοιάζουν με μικρά σταγονίδια ή κυτταροειδείς σχηματισμούς, αιωρούμενους στο εξωτερικό διάλυμα. Αυτό το κάνουν όλα τα φωσφολιπίδια, ακόμη και τα συνθετικά και όχι μόνον εκείνα που έχουν βιολογική προέλευση. Οποσδήποτε οι μεμβράνες, ως φυσικοχημικές δομές, αυθόρμητα δημιουργούμενες μέσα σε υδατικά διαλύματα, είναι σχηματισμοί οι οποίοι δημιουργούν οργάνωση, διαμερισματοποίηση και τάξη. Επίσης είναι πολύ σημαντικό να υπογραμμίσουμε ότι εξ αιτίας του γεγονότος ότι δημιουργούν σφαιρικούς σχηματισμούς, κοίλους ή συμπαγείς, μέσα σε αυτούς μπορεί να εγκλωβιστεί ένα ένζυμο, που λόγω του περιορισμένου χώρου μπορεί να τροφοδοτείται διαρκώς με το υπόστρωμά του και έτσι μειώνοντας τον χρόνο πρόσφυσης του εξειδικευμένου υποστρώματος στο ενεργό κέντρο του, να επιταχύνει τον ρυθμό παραγωγής μοριακών μεταβολιτών, κρατώντας, φυσικά την ίδια απόδοση.

Οι βιολογικές μεμβράνες διαθέτουν εκτός από τα φωσφολιπίδια και πρωτεΐνες, οι οποίες ως επί το πλείστον, τις διαπερνούν, δημιουργώντας γέφυρες μεταξύ εξωκυτταρίου και ενδοκυτταρίου περιβάλλοντος. Συχνά οι εν λόγω πρωτεΐνες διαθέτουν δυνατότητα κάθετης και πλάγιας κίνησης. Συνήθως, αλλάζοντας θέση δημιουργούν έναν πόρο στην μεμβράνη, από τον οποίο μπορεί να διέλθουν εξειδικευμένα μόρια συγκεκριμένων δομών που μοιάζουν μεταξύ τους. Είναι σημαντικό να υπογραμμίσουμε ότι οι μεμβράνες παρουσιάζουν την ιδιότητα της λεγόμενης *εκλεκτικής διαπερατότητας*, επιτρέποντας να τις διασχίσουν μόνο ορισμένα μόρια και στοιχεία, ενώ αποκλείουν την διάβασή τους από άλλους συγκεκριμένους τύπους μορίων.

Έτσι:

1^{ον}) όλα τα λιποειδή – και γενικότερα τα λιποδιαλυτά μόρια – μπορούν να διέλθουν εύκολα από τις μεμβράνες με απλή ωσμωτική διάχυση.

2^{ον}) Το ύδωρ, όπως και τα υδρόφιλα μόρια, συναντούν μεγαλύτερη δυσκολία διέλευσης από τις μεμβράνες, σε σύγκριση με τα λιπόφιλα μόρια.

3^{ον}) Τα ιόντα δεν μπορούν να διέλθουν από τις μεμβράνες, παρά μόνο μέσα από εξειδικευμένους πόρους, οι οποίοι δημιουργούνται από διάφορες πρωτεΐνες που είναι τοποθετημένες στις μεμβράνες και διαπερνούν συνήθως την διπλοστοιβάδα.

4^{ον}) Χρήσιμα μόρια, όπως τα αμινοξέα, τα σάκχαρα, τα νουκλεοτίδια, οι βιταμίνες κ.α συνήθως διέρχονται από συγκεκριμένους πόρους μέσω ενός εξειδικευμένου μηχανισμού που ονομάζεται *συνεξυγμένη ενεργός μεταφορά*.

5^{ον}) Μόρια τα οποία παίζουν τον ρόλο επικοινωνίας μεταξύ των κυττάρων του οργανισμού και συντονίζουν την λειτουργία όλων των κυττάρων του, συζευγνύονται με ειδικές θέσεις της μεμβράνης, που ονομάζονται υποδοχείς και η σύζευξη αυτή δημιουργεί την δίοδο ιόντων Na^+ , K^+ και Ca^{2+} , ενεργοποιώντας συγκεκριμένες λειτουργίες των κυττάρων – στόχων. Τα μόρια επικοινωνίας μεταξύ των κυττάρων είναι πολλών ειδών, όπως: α) ορμόνες, β) νευροδιαβιβαστές, γ) αυτακοειδή, δ) φερομόνες, ε) εξωγενή μη βιολογικής προέλευσης μόρια (φάρμακα, ρύποι, δηλητήρια κ.ο.κ). Από όσα γνωρίζουμε όλα αυτά τα μόρια αποτελούν, τρόπον τινά, εντολές προκειμένου τα κύτταρα να ενεργοποιήσουν εξειδικευμένες λειτουργίες, ακόμη και τον θάνατό τους, για να συνεισφέρουν θετικά στην συνολική επιτυχία της ομοιοστασίας του οργανισμού, θεωρούμενου ως ενιαίου συνόλου.

Γενικότερα οι μεμβράνες έχουν την ιδιότητα να μετακινούν συγκεκριμένα μόρια μέσα από αυτές. Οι τρόποι μεταφοράς αυτών των μορίων είναι:

- A) η διάχυση
- B) η διευκολυνόμενη μεταφορά
- Γ) η ενεργός μεταφορά και οι παραλλαγές της
- Δ) Η φαγοκύτωση
- Ε) Η πινοκύτωση
- ΣΤ) Η εξωκύτωση

Οι τρεις τελευταίες μπορούν να θεωρηθούν τρόποι ενεργού μεταφοράς, αλλά μέσω της παρέμβασης του κυτταροσκελετού, και όχι μέσω της απλής ενεργού μεταφοράς ενός τύπου μορίου.

Η διάχυση και η διευκολυνόμενη μεταφορά είναι παθητικές ιδιότητες της μεμβράνης βασισόμενες κυρίως στην ώσμωση και στην κυκλική κίνηση μιας μεταφορικής πρωτεΐνης, μέσω της φωσφολιπιδικής διπλοστοιβάδας.

Η ενεργός μεταφορά και οι παραλλαγές της, όπως η συμμεταφορά, απαιτούν ενέργεια υπό την μορφή τριφωσφορικής αδενοσίνης για να πραγματοποιηθούν, όπως θα δούμε παρακάτω.

Οι τρόποι αυτοί της μεταφοράς θα αναλυθούν κατωτέρω. Ωστόσο είναι σημαντικό να αναφέρουμε, εκ των προτέρων, ότι δεν είναι σημαντική μόνον η είσοδος μορίων στα κύτταρα, αλλά και η έξοδος μορίων από αυτά. Π.χ το CO₂ είναι ένας σημαντικός καταβολίτης, προερχόμενος από τις οξειδώσεις των υδατανθράκων, των λιπών και των απαμινωμένων αμινοξέων με την συνεισφορά του O₂. Αν το CO₂ δεν φύγει από το εσωτερικό του κυττάρου, τότε θα υδρολυθεί παρουσία ενός ενζύμου εξειδικευμένου και θα παράγει ανθρακικό οξύ, που διϊστάμενο σε H⁺ και HCO₃⁻ θα ρίξει το pH του κυττάρου αν δεν εκδιωχθεί από το εσωτερικό του. Για να μην συμβούν όλα αυτά η λιποδιαλυτότητα του CO₂ είναι πολύ υψηλή (20 φορές μεγαλύτερη από την αντίστοιχη του O₂), με αποτέλεσμα να βγαίνει με αυξημένο ρυθμό από τα κύτταρα. Επίσης πολλά μόρια που μπορούν να βοηθήσουν την επιβίωση μεγάλων πληθυσμών άλλων κυττάρων παράγονται και εκκρίνονται από έναν συγκεκριμένο τύπο κυτταρικού ιστού. Οπότε η διέλευση της μεμβράνης τόσο από το εξωτερικό προς το εσωτερικό και αντιστρόφως έχει πολύ μεγάλη σημασία για την ενιαία ομοιοστασία του πολυκύτταρου οργανισμού.

Οι δύο σημαντικές παθητικές ηλεκτρικές ιδιότητες της μεμβράνης

Οι παθητικές ηλεκτρικές ιδιότητες της κυτταρικής μεμβράνης είναι πολύ σημαντικές για την κατανόηση της συνολικής της λειτουργίας. Για τις ηλεκτρικές ιδιότητες αυτής είναι υπεύθυνα τα εξής δομικά της στοιχεία:

1^{ον}) Η λιπιδική διπλοστοιβάδα, επειδή είναι αδιαπέραστη από ιόντα, μπορεί να διαχωρίσει φορτίο. Η διπλοστοιβάδα αυτή προσδίδει στην μεμβράνη την ιδιότητα της **χωρητικότητας** ενός πυκνωτή.

2^{ον}) Τα ιοντικά κανάλια δημιουργούν μια δίοδο διακινήσεως ανόργανων ιόντων (ηλεκτρικού φορτίου) διαμέσου της μεμβράνης και της προσδίδουν την ιδιότητα της **αγωγιμότητας**.

Οι δύο αυτές ιδιότητες είναι εξ ολοκλήρου υπεύθυνες για την παθητική ηλεκτρική συμπεριφορά των κυτταρικών μεμβρανών.

Πειραματικός έλεγχος των ηλεκτρικών φαινομένων των κυττάρων

Τα ηλεκτρικά φαινόμενα των ιστών μπορούν να ελεγχθούν με την τοποθέτηση δύο ηλεκτροδίων στον υπό μελέτη ιστό για τον προσδιορισμό του πεδίου που δημιουργείται από το ηλεκτρικό ρεύμα το οποίο διέρχεται από τα εξωκυττάρια υγρά. Επειδή τα ρεύματα αυτά προέρχονται από την κυτταρική μεμβράνη, μια άμεση και ποσοτική προσέγγιση είναι η καταγραφή των ηλεκτρικών φαινομένων της μεμβράνης ενός κυττάρου. Η μέτρηση αυτή γίνεται συγκρίνοντας το ηλεκτρικό δυναμικό της μιας πλευράς της μεμβράνης με αυτό της άλλης πλευράς της. Αφαιρώντας το ένα από το άλλο παίρνουμε την *διαφορά δυναμικού*, η οποία ονομάζεται κοινώς *μεμβρανικό δυναμικό* (V_m).

Η ΜΕΜΒΡΑΝΙΚΗ ΧΩΡΗΤΙΚΟΤΗΤΑ

Η ταχύτητα με την οποία τα ιόντα διασχίζουν μια μεμβράνη είναι μόνον 10^{-8} φορές μικρότερη από την ταχύτητα με την οποία διαχέονται μέσω μιας αντίστοιχης απόστασης (50 – 100 Å) ενδοκυττάρου ή εξωκυττάρου υγρού. Επειδή το ηλεκτρικό ρεύμα σε ένα διάλυμα φέρεται αναγκαστικά από ιόντα, η σχετικά χαμηλή ταχύτητα κίνησης των ιόντων διαμέσου της μεμβρανικής διπλοστοιβάδας δημιουργεί μια υψηλή ηλεκτρική αντίσταση. Επειδή οι κυτταρικές μεμβράνες είναι πολύ λεπτές (<100 Å) και είναι ουσιαστικά αδιαπέραστες από ιόντα ως προς το μεγαλύτερο μέρος της επιφάνειάς τους, δεν υπακούουν στο μικροσκοπικό επίπεδο στην αρχή της ουδετερότητας ηλεκτρικού φορτίου. Αυτό σημαίνει ότι οι μεμβράνες των κυττάρων μπορούν να διαχωρίζουν ιοντικό φορτίο μιας μικροσκοπικής κλίμακας. Έτσι αρνητικό φορτίο συσσωρευμένο πάνω ή κοντά στην επιφάνεια της μεμβράνης θα αντιδράσει ηλεκτροστατικά κατά μήκος ενός μικρού τμήματος του πάχους της μεμβράνης που φέρει θετικό φορτίο στην άλλη της πλευρά.

Η χωρητικότητα αυξάνεται ανάλογα με την διηλεκτρική σταθερά του υλικού το οποίο διαχωρίζει το φορτίο και μειώνεται με την αύξηση της απόστασης μεταξύ των φορτίων. Οι περισσότερες μεμβράνες φαίνεται να περιέχουν μια λιπιδική επιφάνεια πάχους 50 Å. Εάν θεωρήσουμε ότι τα λίπη έχουν διηλεκτρική σταθερά 3, που είναι η τιμή ενός λιπαρού οξέος με 18 άτομα άνθρακα, τότε η μεμβρανική χωρητικότητα είναι περίπου ένα microfarad ($1 \mu F = 10^{-6} \text{ fd}$) ανά τετραγωνικό εκατοστόμετρο. Πειραματικές μετρήσεις σε κυτταρικές μεμβράνες έχουν δώσει τιμές της τάξεως των 1 – 3 $\mu \text{ fd/cm}^2$).

Τα ηλεκτρικά φαινόμενα των ιστών τα σχετιζόμενα με ρεύματα και διαφορά δυναμικού μπορούν να ελεγχθούν με την τοποθέτηση δύο ηλεκτροδίων στον ιστό, για τον προσδιορισμό του ηλεκτρικού πεδίου που δημιουργείται από το ηλεκτρικό ρεύμα που διέρχεται από τα εξωκυττάρια υγρά.

Επειδή αυτά τα ασθενή ηλεκτρικά ρεύματα παράγονται από την κυτταρική μεμβράνη έπεται ότι μια άμεση και ποσοτική προσέγγιση αντιπροσωπεύεται από την καταγραφή των ηλεκτρικών φαινομένων της μεμβράνης του κυττάρου. Η πιο απλή μέτρηση που μπορούμε να κάνουμε γίνεται με το να συγκρίνουμε το ηλεκτρικό δυναμικό της μιας πλευράς της κυτταρικής μεμβράνης με εκείνο της άλλης πλευράς. Αφαιρώντας την τιμή του δυναμικού της μιας πλευράς, από εκείνη της άλλης λαμβάνουμε την *διαφορά δυναμικού* μεταξύ τους, η οποία ονομάζεται απλώς *δυναμικό της μεμβράνης* ή *μεμβρανικό δυναμικό* (V_m).

Η τεχνική της μέτρησης του μεμβρανικού δυναμικού έχει ως εξής:

Χρησιμοποιώντας ένα σύστημα οδηγών πολύ μεγάλης ακρίβειας, εφοδιασμένου με μικρομετρικούς κοχλίες που μετακινούν αρπάγες σε εκάστη των οποίων έχουμε προσδέσει ένα μικροσκοπικό ηλεκτρόδιο. Τοποθετούμε το ένα μικροηλεκτρόδιο στην εξωτερική επιφάνεια της μεμβράνης ενός σταθεροποιημένου κυττάρου, ενώ το άλλο μικροηλεκτρόδιο φέρεται σε επαφή με την εσωτερική όψη της συγκεκριμένης μεμβράνης, μέσω ήπιας διάτρησης αυτής. Τα δυναμικά των δύο όψεων της κυτταρικής μεμβράνης προσδιορίζονται από δύο βολτόμετρα της ίδιας δομής και εταιρείας που εργάζονται υπό τις ίδιες συνθήκες και τάσεις δικτύου. Επίσης μπορούν να καταγραφούν από βολτόμετρο πολλών διαύλων. Οι καταγραφές γίνονται τουλάχιστον τρεις φορές. Τα βολτόμετρα μπορεί να είναι αναλογικά ή ψηφιακά. Είναι καλύτερο, για τα εν λόγω πειράματα, να χρησιμοποιούνται αναλογικά όργανα συνδεδεμένα σε οικιακό ηλεκτρικό δίκτυο (220 Volt, 50 Hz) και σε κανονικές συνθήκες πειραματισμού (Κ.Σ, δηλαδή ατμοσφαιρική πίεση 1 ατμόσφαιρα (1 tor), θερμοκρασία 20°C). Η καταγραφή του δυναμικού σε κάθε μια όψη της κυτταρικής μεμβράνης ενισχύεται και κατόπιν τροφοδοτεί την είσοδο ενός καθοδικού σωλήνα ώστε να προβάλλεται σε μια φθορίζουσα οθόνη φέρουσα ένα δικτυωτό ορθογώνιο μετρικό σύστημα με πλευρά τετραγωνιδίου 1 mm. Ο καθοδικός σωλήνας είναι ενσωματωμένος σε παλμογράφο, ο οποίος καταγράφει την ροή του χρόνου με ταχύτητα ρυθμιζόμενη από 0,001 mm/sec έως 1 mm/sec. Η ταχύτητα ροής της εικόνας μπορεί να αυξηθεί. Επίσης η εικόνα μπορεί να οδηγηθεί σε καταγραφικό με χαρτί ή να καταχωρηθεί σε αρχείο ηλεκτρονικού υπολογιστή.

Ο εν λόγω τρόπος πειραματισμού δεν ήταν δυνατόν να επιτευχθεί με ακρίβεια παρά μόνον όταν οι ερευνητές χρησιμοποιούσαν πολύ μεγάλα κύτταρα και συγκεκριμένα τα νευρικά κύτταρα του γιγαντιαίου καλαμαριού (*Loligo gigas*). Κατόπιν οι ερευνητές G. Ung & W. Gerard (1949) τελειοποίησαν μια σημαντική τεχνολογία καταγραφής – το γυάλινο τριχοειδές μικροηλεκτρόδιο. Τα μικροσκοπικά αυτά ηλεκτρόδια μπορεί να διαπεράσουν την κυτταρική μεμβράνη και να βυθιστούν μέσα στο κύτταρο, υπό την οδήγηση της μικρομετρικής διάταξης που περιγράψαμε ανωτέρω. Η βλάβη που προκαλεί στην εξωκυττάρια μεμβράνη η εισαγωγή του γυάλινου μικροηλεκτροδίου είναι ανεπαίσθητη και συνεπώς δεν διαταράσσει την ομοιοστασία και την λειτουργία του κυττάρου στόχου. Πρέπει να γνωρίζουμε ότι όλο το χρησιμοποιούμενο σύστημα είναι, λόγω της εργασίας του, εξαιρετικά ευαίσθητο σε μικροδιαταραχές, όπως τυχαία ρεύματα αέρα (ακόμη και της ήπιας αναπνοής, δονήσεις μικρού εύρους, όπως η λειτουργία ενός ψυγείου κ.ο.κ), οπότε για την επιτυχία των πειραμάτων έχει πολύ μεγάλη σημασία η τράπεζα στην οποία είναι τοποθετημένη η όλη διάταξη καταγραφής, καθώς και η πολύ στερεά κι αμετακίνητη πρόσδεση του καταγραφικού συστήματος επί αυτής. Η εν λόγω τράπεζα πρέπει να απορροφά και να αποσβήνει πλήρως κάθε κραδασμό μικρού μεγέθους. Επίσης το όλο σύστημα πρέπει να είναι απομονωμένο και ο έλεγχος της εισόδου του ηλεκτροδίου στο κύτταρο-στόχο γίνεται μόνο με οδηγητικό μικροσκόπιο. Τα πειράματα αυτά απαιτούν πολύ εξειδικευμένο κι έμπειρο τεχνικό προσωπικό. Ο Αγγλοσαξονικός όρος αυτών των διατάξεων είναι *patch clamp electrode systems* και μία από αυτές τις συσκευές.

Εφ' όσον το τριχοειδές ηλεκτρόδιο της πειραματικής διάταξης διαπεράσει την κυτταροπλασματική μεμβράνη το κυτόπλασμα του συνδέεται με το καλώδιο, που οδηγεί στον ενισχυτή. Η σύνδεση αυτή γίνεται μέσω μιας λεπτής στήλης περιέχουσας ηλεκτρολύτη 3M KCl, στο εσωτερικό του τριχοειδούς ηλεκτροδίου. *Το μεμβρανικό δυναμικό δίνεται πάντα ως το ενδοκυττάριο δυναμικό, σε σχέση με το εξωκυττάριο δυναμικό, το οποίο ορίζεται συμβατικά μηδενικό.*

Μια απλή και καθιερωμένη διάταξη εργασίας περιλαμβάνει ένα υδατόλουτρο μικρού μεγέθους (100 μ L) στο οποίο ένα κύτταρο βρίσκεται βυθισμένο σε φυσιολογικό διάλυμα, που είναι σε επαφή με το ηλεκτρόδιο αναφοράς. ***Αρχικά το μικροηλεκτρόδιο καταγραφής και το ηλεκτρόδιο αναφοράς έχουν το ίδιο δυναμικό.*** Την στιγμή που το ηλεκτρόδιο καταγραφής εισέρχεται στο κύτταρο διαπερνώντας την μεμβράνη του παρατηρούμε ***μια απότομη μετακίνηση προς τα κάτω της βολταϊκής καταγραφής, δηλαδή την καταγραφή ενός αρνητικού δυναμικού.***

Στις ηλεκτροφυσιολογικές καταγραφές το ηλεκτρικό δυναμικό παρουσιάζεται ως μια βύθιση της δέσμης του παλμογράφου, ή ως μια μετακίνηση προς τα κάτω της γραφίδας του φυσιογράφου με τον οποίο καταγράφουμε γραπτά το φαινόμενο. Η συνεχής αρνητικότητα, που καταγράφεται από το ηλεκτρόδιο στο εσωτερικό του κυτταροπλάσματος ονομάζεται **δυναμικό ηρεμίας** (V_{rest}) της κυτταρικής μεμβράνης το οποίο μετράται σε millivolt (mV).

Οι πολυάριθμες μετρήσεις από εκείνη την εποχή, που συνεχίζονται μέχρι και σήμερα, έχουν δείξει ότι όλα τα κύτταρα παρουσιάζουν δυναμικό ηρεμίας και συνεπώς αυτό είναι αναπόσπαστο με την ύπαρξη της κυτταρικής μεμβράνης στο ζωντανό κύτταρο. Το μέγεθος του αρνητικού ηλεκτρικού δυναμικού ηρεμίας φτάνει μέχρι τα -100 mV.

Οι ηλεκτρικές ιδιότητες της κυτταρικής μεμβράνης μπορούν να μελετηθούν διοχετεύοντας μεμονωμένους παλμούς ρεύματος με ένα δεύτερο ηλεκτρόδιο κατά τρόπο ώστε να προκληθεί μια διαταραχή του δυναμικού της μεμβράνης.

Το ρεύμα αυτό μπορεί να διοχετευτεί προς δύο κατευθύνσεις:

1^ο) Διασχίζοντας την μεμβράνη προς το εσωτερικό του κυττάρου (από το περιβάλλον προς το κυτταρόπλασμα).

2^ο) Ξεκινώντας από το κυτταρόπλασμα προς την μεμβράνη (από το ενδοκυττάριο χώρο προς το εξωκυττάριο μέσον).

Η επιλογή της μιας ή της άλλης κατεύθυνσης γίνεται με βάση την πολικότητα του ηλεκτρικού ρεύματος που συνδέεται με το ηλεκτρόδιο διέγερσης.

Όταν η σύνδεση είναι τέτοια ώστε να απομακρύνεται θετικό ηλεκτρικό φορτίο από το εσωτερικό του κυττάρου διά μέσου του ηλεκτροδίου, η διαφορά δυναμικού μεταξύ των δύο πλευρών της μεμβράνης αυξάνεται (**υπερπόλωση**). Με τον τρόπο αυτό το ενδοκυττάριο ηλεκτρικό δυναμικό μπορεί να χαμηλώσει π.χ από τα -60 στα -70 mV.

Όταν η κυτταρική μεμβράνη βρίσκεται στην κατάσταση της **υπερπόλωσης** δεν αντιδρά, εξαιρουμένων λίγων περιπτώσεων. Φυσικά υφίσταται την παθητική μεταβολή του δυναμικού της που οφείλεται στο επιβαλλόμενο ρεύμα.

Βεβαίως τα πράγματα μεταβάλλονται απόλυτα, όταν μέσα στο εσωτερικό του κυττάρου διοχετευτεί ένας **ηλεκτρικός παλμός**, μέσω του ηλεκτροδίου, προσθέτοντας θετικό φορτίο στην εσωτερική επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης. Το μεταφερόμενο αυτό

φορτίο προκαλεί μείωση της διαφοράς δυναμικού της μεμβράνης, οπότε το κύτταρο *εκπολώνεται*, υφιστάμενο μείωση του ενδοκυτταρικού αρνητικού δυναμικού (π.χ από -60 στα -50 mV).

Η σταδιακή αύξηση της ισχύος του ρεύματος – το οποίο κατευθύνεται από το εσωτερικό προς το εξωτερικό του κυττάρου – έχει σαν συνέπεια την αύξηση της *εκπόλωσης*. Τα διεγέρσιμα κύτταρα – όπως είναι τα κύτταρα των αισθητήριων υποδοχέων, αλλά επίσης τα μυϊκά και τα νευρικά κύτταρα – εμφανίζουν μια οριακή βαθμίδα αύξησης του δυναμικού (αύξησης της εκπόλωσης) η οποία ονομάζεται *κατώφλιο δυναμικού*.

Μόλις το όριο της αύξησης του δυναμικού υπερβεί το *κατώφλιο* (ή *ουδό*) *δυναμικού* παρουσιάζεται μια ισχυρή ενεργός ηλεκτρική αντίδραση εκ μέρους της μεμβράνης. Η αντίδραση αυτή ονομάζεται *δυναμικό ενέργειας* ή *δυναμικό δράσης* ή ακόμη *νευρική ώση*.

Το *δυναμικό ενέργειας* προκύπτει από διάνοιξη στην κυτταροπλασματική μεμβράνη μιας σειράς προϋπαρχόντων καναλιών, τα οποία είναι εξειδικευμένα για την εκλεκτική διόδο του ιόντος νατρίου. Τα κανάλια αυτά είναι κλειστά, όσο στην κυτταρική μεμβράνη επικρατεί η διαφορά δυναμικού ηρεμίας (Vm), όσο και στην υπερπόλωση (δηλαδή την πτώση του δυναμικού προς αρνητικότερες τιμές). Όταν όμως η μείωση της διαφοράς δυναμικού περάσει το *κατώφλιο δυναμικού* τα κανάλια ενεργοποιούνται διανοιγόμενα και ακολουθεί μέσω αυτών μια ροή ιόντων νατρίου προς το εσωτερικό της μεμβράνης, δηλαδή προς το εσωτερικό του κυττάρου. Η διέλευση αυτή των ιόντων νατρίου γίνεται παθητικά, ακολουθώντας την διαφορά συγκέντρωσης αυτού του ιόντος, η οποία στο εξωκυττάριο υγρό είναι αυξημένη, ενώ στο ενδοκυττάριο υγρό είναι χαμηλότερη. Η εισροή των ιόντων νατρίου θετικοποιεί ακόμη περισσότερο το ενδοκυττάριο φορτίο και συνεπώς μειώνει την διαφορά δυναμικού μεταξύ των δύο επιφανειών της μεμβράνης. Η φυσικοχημεία της μεμβρανικής διέγερσης θα αναλυθεί παρακάτω, αλλά οπωσδήποτε βασίζεται σημαντικά στην διαφορά συγκέντρωσης δύο τύπων κοινών ιόντων που επικρατεί μεταξύ του εξωκυττάρου και ενδοκυττάρου υγρού και η οποία εξασφαλίζεται από τις ιδιότητες εκλεκτικής διαπερατότητας της μεμβράνης καθώς και τις μεταβολές της με την μεταβολή της διαφοράς δυναμικού μεταξύ της εξωτερικής και εσωτερικής πλευράς της.

Τα δύο αυτά είδη ιόντων είναι τα αλκαλικά μέταλλα Na^+ & K^+ , τα οποία αφθονούν στα σωματικά υγρά. Οι διαφορετικές τους συγκεντρώσεις και η υπό ηλεκτρικούς ή χημικούς όρους διέλευση τους μέσω εξειδικευμένων πόρων της μεμβράνης είναι το βασικό στοιχείο

του μηχανισμού διέγερσης των κυτταρικών μεμβρανών και η δημιουργία δυναμικού δράσης ή νευρικής ώσης. Η συγκέντρωση των ιόντων νατρίου είναι υψηλή στο εξωκυττάριο υγρό ($[Na^+]$ εξωκυττάριου υγρού = 145 meq, $[Na^+]$ ενδοκυττάριου = 10 meq). Ενώ για τα ιόντα καλίου ισχύει το αντίθετο καθώς η συγκέντρωσή τους είναι χαμηλή στο εξωκυττάριο υγρό και υψηλή στο ενδοκυττάριο ($[K^+]$ εξωκυττάριο υγρό = 4 meq, $[K^+]$ ενδοκυττάριο υγρό = 160 meq).

Εκτός από τα ιόντα νατρίου και καλίου συμμετέχουν στα φαινόμενα της εκλεκτικής διέγερσης ενδοκυττάρων φαινομένων τα δισθενή ιόντα του ασβεστίου και του μαγνησίου, τα οποία παρουσιάζουν επίσης διαφορετικές συγκεντρώσεις μεταξύ εξωκυττάριου και ενδοκυττάριου υγρού ($[Ca^{++}]$ εξωκυττάριο υγρό = 5 meq, $[Ca^{++}]$ ενδοκυττάριο υγρό = 2 meq και $[Mg^{++}]$ εξωκυττάριο υγρού = 2 meq $[Mg^{++}]$ ενδοκυττάριου υγρού = 26 meq). Τα ανωτέρω τέσσερα ιόντα είναι απολύτως απαραίτητα για την ηλεκτρική δραστηριότητα των κυτταρικών μεμβρανών, όπως επίσης και για την εκλεκτική ενεργοποίηση ενδοκυττάρων λειτουργιών.

Εν κατακλείδι, από τα ανωτέρω κατανοούμε ότι οι φορτισμένες κυτταρικές μεμβράνες αντιδρούν σε ερεθίσματα με δύο γενικούς τρόπους ηλεκτρικής συμπεριφοράς, έναν παθητικό και έναν ενεργό.

1^{ον}) Ο **παθητικός τρόπος ηλεκτρικής αντίδρασης** λαμβάνει χώρα λόγω των βασικών ηλεκτρικών ιδιοτήτων της μεμβράνης, όταν έχουμε διέλευση ηλεκτρικού ρεύματος μέσω αυτής. Στην συγκεκριμένη παθητική αντίδραση οι βασικές ηλεκτρικές μεμβρανικές ιδιότητες που εμπλέκονται είναι η *χωρητικότητα* και η *αγωγιμότητα* (ή *αντίσταση*). Φαίνεται ότι η παθητική αντίδραση δεν σχετίζεται με κάποια μεταβολή μοριακού επιπέδου, δηλαδή δεν λαμβάνει χώρα διάνοιξη ή κλείσιμο κάποιων μεμβρανικών διαύλων διέλευσης ιόντων ή ουσιών. Στον παθητικό τρόπο αντίδρασης δυνατόν να έχουμε υπερπόλωση της μεμβράνης ή ελαφρά πτώση του μεμβρανικού δυναμικού.

2^{ον}) Ο **ενεργητικός τρόπος ηλεκτρικής αντίδρασης** εμφανίζεται ως *μεμβρανική διέγερση*, ή ως *ώση*, σε ιστούς που έχουν την ικανότητα της διέγερσης, όπως είναι ο μυϊκός και ο νευρικός ιστός, καθώς και τα κύτταρα των ποικίλων αισθητήριων υποδοχέων. Ο ενεργητικός τρόπος αντίδρασης προκύπτει από την διάνοιξη ή το κλείσιμο των πολυπληθών μικροσκοπικών ιοντικών διαύλων (καναλιών), ως απάντηση στην άφιξη ενός ερεθίσματος. Αρκετοί διάλυτοι μπορούν να αντιδράσουν διανοιγόμενοι, μέσω μεταβολών στο δυναμικό της μεμβράνης, με την χρησιμοποίηση ηλεκτροδίων ή ηλεκτρικού ρεύματος.

Επιπλέον φαίνεται ότι τουλάχιστον θεωρητικά η έκθεση των κυττάρων σε **κατάλληλα ηλεκτρικά, ή ηλεκτρομαγνητικά πεδία, θα ήταν, ενδεχομένως σε θέση, να προκαλέσει την αντίδραση διάνοιξης των διαύλων, φαινόμενο που μελετήθηκε στην εν λόγω διδακτορική διατριβή, ως προς τις βιολογικές αποκρίσεις ζωντανών κυττάρων, ιστών και οργανισμών.**

Επίσης η διάνοιξη των μικροσκοπικών ιοντικών διαύλων μπορεί να λάβει χώρα με την έλευση, επί της εξωτερικής επιφάνειας της μεμβράνης, κατάλληλων μηνυματοφόρων μορίων, τα οποία δεσμεύονται από εξειδικευμένους προς αυτά υποδοχείς – μέσω της αρχής κλειδί – κλειδαριάς – προκαλώντας μεμβρανική ενεργοποίηση. Τέλος σε κύτταρα αισθητήριων υποδοχέων οι ιοντικοί δίαυλοι ενεργοποιούνται από την ειδική ενέργεια του αφικνούμενου ερεθίσματος, όπως είναι π.χ το φως (φωτοϋποδοχείς), ή η μηχανική παραμόρφωση (μηχανοϋποδοχείς). Από την στιγμή που γίνει η διάνοιξη ενός συνόλου μεμβρανικών διαύλων που είναι εξειδικευμένων για την μεταφορά ενός συγκεκριμένου είδους ιόντος (π.χ νατρίου, καλίου, ασβεστίου κ.α) τα διακινούμενα ιόντα δημιουργούν ένα μικρό ηλεκτρικό ρεύμα, το οποίο έχει έναν συγκεκριμένο χρόνο διάρκειας, προσδιοριζόμενο από τις διαφορές των συγκεντρώσεων του εν λόγω ιόντος στον εξωκυττάριο και στον ενδοκυττάριο χώρο.

Συνήθως ένα τέτοιο ιοντικό ρεύμα προκαλεί μια μεταβολή στην διαφορά δυναμικού στην κυτταροπλασματική μεμβράνη. Είναι σημαντικό να υπογραμμιστεί με έμφαση ότι η διάνοιξη και το κλείσιμο των διαύλων είναι το άμεσο αίτιο για την τροποποίηση όλης της ενεργού δραστηριότητας η οποία χαρακτηρίζει κάθε ζωντανό κύτταρο που μεταβάλλει τις αποκρίσεις του διαρκώς, προκειμένου να αντιμετωπίσει τις διακυμαινόμενες εξωτερικές πιέσεις από το περιβάλλον και να ομοιοστατήσει σε αυτές.

Μεμβρανική χωρητικότητα και μεμβρανική αγωγιμότητα – η μεταξύ τους σχέση και το ηλεκτρικό τους ισοδύναμο κύκλωμα

Στις ανωτέρω σελίδες περιγράψαμε ορισμένα στοιχεία της μεμβρανικής χωρητικότητας, ορίζοντας ως χωρητικότητα την ικανότητα της κυτταρικής μεμβράνης να διαχωρίζει και να συσσωρεύει ηλεκτρικό φορτίο. Συνεπώς η χωρητικότητα της μεμβράνης αποτελεί μια ένδειξη του ποσού των ιόντων που είναι σε θέση να διαχωρίσει υπό το καθεστώς μιας συγκεκριμένης διαφοράς δυναμικού. Οι βλάβες της μεμβράνης μειώνουν και την

χωρητικότητά τους καθόσον ο διαχωρισμός των ιόντων γίνεται δυσχερής ή και αδύνατος. Επίσης η μείωση της μεταβολικής ενέργειας των κυττάρων έχει σφοδρή επίπτωση επί της ικανότητας ιοντικού διαχωρισμού και συνεπώς επί της χωρητικότητας της μεμβράνης, καθώς η αντλία Νατρίου – Καλίου υπολειτουργεί λόγω μείωσης της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP). Μπορούμε να συμπεράνουμε μια εικόνα της δομής και της διαχωριστικής λειτουργίας της κυτταροπλασματικής μεμβράνης. Όπως ήδη έχουμε αναφέρει ανωτέρω η χωρητικότητα είναι ευθέως ανάλογη της διηλεκτρικής σταθεράς του υλικού που διαχωρίζει τα φορτία και που εν προκειμένω είναι τα φωσφολιπίδια. Η μαθηματική φόρμουλα για την χωρητικότητα είναι η ακόλουθη και ισχύει βεβαίως για τις εξωκυττάρια μεμβράνες:

$$C = Q / V_{AB} = \epsilon_0 A / d \quad (33a)$$

Όπου A είναι η επιφάνεια της κυτταροπλασματικής μεμβράνης, d είναι το πάχος της και ϵ_0 η διηλεκτρική της σταθερά, η οποία για τα λιπαρά οξέα με 18 άτομα άνθρακος είναι ίση με 3. Η μεμβρανική χωρητικότητα φυσιολογικών κυττάρων είναι περίπου ίση προς ένα μfarad (10^{-6} Farad).

Μεγάλοι αριθμοί πειραματικών μετρήσεων σε φυσιολογικές κυτταρικές μεμβράνες πολλών ειδών κυττάρων έδειξαν ότι η χωρητικότητά τους κυμαίνεται μεταξύ 1 – 3 $\mu\text{fd}/\text{cm}^2$.

Από την μεθοδολογική σκοπιά για την έρευνα των κυτταρικών αντιδράσεων είναι ωφέλιμο και σκόπιμο να προσομοιάζονται οι ιδιότητες χωρητικότητας και αγωγιμότητας της κυτταροπλασματικής μεμβράνης, με ένα ισοδύναμο κύκλωμα. Στο ισοδύναμο αυτό κύκλωμα ένας πυκνωτής συνδέεται εν παραλλήλω με μια αντίσταση. Το κύκλωμα του πυκνωτή και της αντίστασης αντιπροσωπεύουν αντιστοίχως την χωρητικότητα και την αντίσταση της κυτταρικής μεμβράνης. Πιο συγκεκριμένα η αντίσταση σχετίζεται με την αγωγιμότητα που προσδίδει στην μεμβράνη η ύπαρξη των ιοντικών διαύλων, ενώ η χωρητικότητα αντιστοιχεί στην φωσφολιπιδική διπλοστοιβάδα, η οποία είναι σχεδόν αδιάβατη από τα ιόντα. Έτσι έχουμε την σχηματοποίηση μιας πειραματικής διάταξης μελέτης των ηλεκτρικών αποκρίσεων ενός ευμεγέθους κυττάρου, εμβαπτισμένου σε ένα ηλεκτρολυτικό ρυθμιστικό διάλυμα που λειτουργεί ως εξωκυττάριο υγρό. Το υπό μελέτη κύτταρο είναι σταθεροποιημένο, ή προσκολλημένο, σε ένα υπόβαθρο, ώστε να μην μετακινείται και το ηλεκτρολυτικό δοχείο είναι πολύ σταθερό, ώστε να μην δονείται από

εξωτερικούς κραδασμούς ακόμη και πολύ μικρούς. Η σταθερότητα της διάταξης εξασφαλίζεται από τράπεζες και συστήματα πλήρους απόσβεσης των εξωτερικών κραδασμών, διαφορετικά η μεμβράνη σχίζεται από τα μικροηλεκτρόδια. Τα ηλεκτρόδια που χρησιμοποιούμε είναι ένα ηλεκτρόδιο διέγερσης και ένα ηλεκτρόδιο καταγραφής. Το ηλεκτρόδιο καταγραφής συνδέεται με ένα ηλεκτρόδιο αναφοράς βυθισμένο στο διάλυμα. Επίσης η έξοδος του εισέρχεται σε έναν ενισχυτή και καταγράφεται ως τάση σε ένα βολτόμετρο. Το ηλεκτρόδιο διέγερσης συνδέεται μέσω μιας υψηλής αντίστασης στον ένα πόλο μιας ηλεκτρικής πηγής, ενώ ο άλλος πόλος συνδέεται με ένα ηλεκτρόδιο αναφοράς βυθισμένο στο ηλεκτρολυτικό διάλυμα που περιβάλλει το κύτταρο. Επίσης στο κύκλωμα αυτό υπάρχει ένα αμπερόμετρο, το οποίο καταγράφει την ροή του ρεύματος. Μέσω αυτής της πειραματικής διάταξης υποθέτουμε ότι ένα ρεύμα σταθερής έντασης διασχίζει την μεμβράνη από το ηλεκτρόδιο αναφοράς, που είναι τοποθετημένο στο υδατόλουτρο, προς το ηλεκτρόδιο διέγερσης, που είναι βυθισμένο στο κύτταρο. Το ρεύμα αυτό δίνεται απότομα με την μορφή ενός ορθογώνιου παλμού. Προκειμένου να δημιουργηθεί ένα πλήρες κύκλωμα όλο το ρεύμα πρέπει να διέλθει από την κυτταροπλασματική μεμβράνη του σταθεροποιημένου κυττάρου, στο οποίο είναι βυθισμένο το ηλεκτρόδιο διέγερσης. Ενώ το ρεύμα διασχίζει την μεμβράνη κατανέμεται μεταξύ του αγωγίμου τμήματος της και του πυκνωτή της που ευρίσκονται σε παράλληλη σύνδεση. Το δυναμικό της μεμβράνης του κυττάρου απαντά παθητικά προς την είσοδο ενός παλμού ρεύματος κι εν λόγω μεταβολή του ονομάζεται **ηλεκτροτονικό δυναμικό**. Αυτή η διαφορά δυναμικού παράγεται από το **προστιθέμενο ρεύμα** που διέρχεται μέσω της αντίστασης και του πυκνωτή της μεμβράνης.

Πρέπει να σημειώσουμε ότι όταν χορηγείται ένας παλμός ρεύματος σε μια κυτταρική μεμβράνη κατανέμεται μεταξύ της μεμβρανικής χωρητικότητας και της αντίστασης με έναν τρόπο χρονοεξαρτώμενο. Στην αρχή το περισσότερο ρεύμα διέρχεται διάμεσου του μεμβρανικού πυκνωτή. Ας θεωρήσουμε την υπόθεση που προαναφέραμε, δηλαδή την περίπτωση διοχέτευσης ενός ορθογώνιου παλμού σταθερού ρεύματος σε έναν πυκνωτή που ευρίσκεται σε παράλληλη σύνδεση με μια αντίσταση. Γνωρίζουμε ήδη ότι το δυναμικό V_c (Volt) που αναπτύσσεται σε έναν πυκνωτή είναι ανάλογο προς το ηλεκτρικό φορτίο q (Coulomb), που συσσωρεύεται από τον πυκνωτή. Η σταθερά αναλογίας C (Farad), δηλαδή η χωρητικότητα του πυκνωτή είναι μια ένδειξη της ικανότητάς του να συσσωρεύει φορτίο.

Έτσι έχουμε: $q = V_c C$. (a)

Το ρεύμα του πυκνωτή ορίζεται ως το φορτίο που συσσωρεύεται ανά μονάδα χρόνου: $i_c = dq/dt$ (b). Η ταχύτητα συσσώρευσης του φορτίου είναι ανάλογη προς την ταχύτητα μεταβολής του δυναμικού του πυκνωτή (εξίσωση a). Επειδή το C παραμένει σταθερό έχουμε την εξής εξίσωση:

$i_c = dq/dt = C.dV/dt$ (c). Οπότε από τις εξισώσεις (b) & (c) προκύπτει:

$i_c = C.dV/dt$ (d). Αυτό σημαίνει ότι το ρεύμα που διέρχεται μέσω του πυκνωτή σε κάθε χρονική στιγμή είναι ανάλογο προς την ταχύτητα μεταβολής του δυναμικού κατά την στιγμή αυτή. Καθώς το ρεύμα περνά μέσω του πυκνωτή, το συσσωρευόμενο φορτίο προκαλεί αύξηση του δυναμικού του πυκνωτή. Η διαφορά δυναμικού, που δημιουργείται μεταξύ των δύο πλευρών, απωθεί την άφιξη νέου φορτίου και η ταχύτητα συσσώρευσης φορτίου μειώνεται. Με τον τρόπο αυτό το ρεύμα πυκνωτή i_c (B μέρος του ένθετου σχήματος) μεταβάλλεται αντιστρόφως ανάλογα με το V_c και μειώνεται εκθετικά με τον χρόνο. Η εν λόγω εκθετική μείωση του δυναμικού με τον χρόνο κατά την φόρτιση του πυκνωτή παρέχεται από την ακόλουθη εξίσωση:

$V_t = V_\infty (1 - e^{-t/RC})$ (e), όπου V_∞ το δυναμικό του πυκνωτή που παράγεται από ένα σταθερό φορτίο που προστίθεται στο κύκλωμα για $t = \infty$, t ο χρόνος σε δευτερόλεπτα, R η αντίσταση του κυκλώματος σε Ohm, C η χωρητικότητα σε Farad και V_t το δυναμικό μεταξύ των δύο πλευρών του πυκνωτή στην χρονική στιγμή t .

Όταν το t εξισωθεί με το γινόμενο RC τότε:

$V_t = V_\infty (1 - 1/e) = 0,63 V_\infty$, τότε η συγκεκριμένη τιμή του $t = RC$, εκφραζόμενη σε δευτερόλεπτα, ορίζεται ως η **χρονική σταθερά (τ)** της πορείας.

Είναι σημαντικό να υπογραμμιστεί ότι η χρονική σταθερά είναι ανεξάρτητη από την V_∞ και την ισχύ του ρεύματος και **αντιπροσωπεύει τον χρόνο που απαιτείται για να προσλάβει το δυναμικό μεταξύ των πλευρών ενός φορτιζόμενου πυκνωτή την τιμή του 63% της ασυμπτωτικής τιμής V_∞ .**

Το φορτίο που προστίθεται στην μεμβράνη μετακινείται αρχικά μέσω του πυκνωτή της μεμβράνης. Καθώς όμως αυτός φορτίζεται – ή εκφορτίζεται – εκθετικά, ένα αυξανόμενο κλάσμα του συνολικού ρεύματος διέρχεται μέσω της αγωγίμης συνιστώσας της μεμβράνης, δηλαδή διά των πόρων αυτής. **Μετά την πάροδο αρκετών χρονικών σταθερών το δυναμικό προσεγγίζει μια ασυμπτωτική τιμή, και όλο το προστιθέμενο φορτίο διέρχεται δια μέσου της μεμβρανικής αντίστασης.**

Με τον τερματισμό του προστιθέμενου φορτίου, το φορτίο που αποθηκεύτηκε στον πυκνωτή διαρρέει προς την αντίσταση (R_m) και το δυναμικό επανέρχεται στο επίπεδο ηρεμίας με ρυθμό που ακολουθεί μίαν χρονική συνάρτηση εκθετικού τύπου.

Σε ό,τι αφορά την μεμβρανική αγωγιμότητα αυτή σχετίζεται με την διαπερατότητά της σε ιόντα κι αποτελεί μια ένδειξη της λειτουργικότητάς της. Όσο μεγαλύτερη είναι η αγωγιμότητα τόσο περισσότερα ιόντα μπορούν να διέρχονται μέσω της μεμβράνης στην μονάδα του χρόνου και υπό συγκεκριμένη διαφορά δυναμικού οπότε, υπό φυσιολογικές συνθήκες, οι δίαυλοί της είναι εν δυνάμει λειτουργικοί και μπορούν να διανοίγονται κάτω από τα ποικίλα ερεθίσματα που εμπίπτουν στον προγραμματισμό της δεκτικότητάς της.

Όταν ένας συνεχής παλμός ρεύματος εφαρμόζεται στην μεμβράνη, το μεμβρανικό δυναμικό, όπως ήδη είπαμε ανωτέρω, μετατοπίζεται ακολουθώντας μια εκθετική συνάρτηση προς ένα σταθερό επίπεδο. Η μετατόπιση του μεμβρανικού δυναμικού (V_m) από την τιμή ηρεμίας προς την ασυμπτωτική τιμή, είναι συνάρτηση του επιβαλλόμενου ρεύματος (ΔI) και της αγωγιμότητας ($G_{\text{εισόδου}}$) στην οποία προσκρούει το ρεύμα καθώς εισέρχεται στην μεμβράνη. Η σχέση μεταξύ της αγωγιμότητας του προστιθέμενου ρεύματος και του καταγραφόμενου δυναμικού σταθεράς καταστάσεως δίνεται από τον νόμο του Ohm. Ο νόμος του Ohm ορίζει ότι *το διαμεμβρανικό δυναμικό είναι ανάλογο προς το ρεύμα που διέρχεται διαμέσου της μεμβράνης και αντιστρόφως ανάλογο προς την αγωγιμότητα της μεμβράνης.*

$$\Delta V_m = \Delta I / G_{\text{εισόδου}}$$

$$G_{\text{εισόδου}} = \Delta I / \Delta V_m$$

Υπενθυμίζουμε ότι το αντίστροφο της αγωγιμότητας (η οποία μετράται σε μονάδες Siemens) είναι η αντίσταση R σε Ohms.

Όταν θεωρούμε δύο σφαιρικά κύτταρα διαφορετικών διαμέτρων των οποίων οι μεμβράνες εμφανίζουν την ίδια ειδική αντίσταση (R_m), δηλαδή την αντίσταση ανά cm^2 , όταν αυξηθεί το διερχόμενο ηλεκτρικό ρεύμα ΔI το μεγαλύτερο κύτταρο θα παρουσιάσει μικρότερη αύξηση δυναμικού, επειδή το ρεύμα θα περάσει μέσα από μια μεμβράνη μεγαλύτερης επιφάνειας. Στην περίπτωση αυτή θα έχουμε μια μικρότερη πυκνότητα ρεύματος διερχόμενου από τις δύο πλευρές της μεμβράνης του μεγαλύτερου κυττάρου. Το φαινόμενο αυτό ερμηνεύεται από τον νόμο ότι όταν ένα ρεύμα σταθερής έντασης διέρχεται

ταυτοχρόνως από δύο ίσες αντιστάσεις, τοποθετημένες εν παραλλήλω, προκαλεί μόνο το μισό της πτώσης τάσεως (δηλαδή δυναμικού) από το ότι αν διερχόταν μόνο από την μια αντίσταση, οπότε αυτό επικυρώνει σημαντικά την επιλογή μας να προσομοιώσουμε την μεμβράνη με ένα ηλεκτρικό κύκλωμα. Βάσει των δεδομένων που έχουμε, αλλά και της θεωρητικής προσέγγισης, όταν όλες οι άλλες παράμετροι παραμένουν σταθερές τα κύτταρα μεγαλύτερου μεγέθους θα έχουν μικρότερη αντίσταση σε σύγκριση με τα μικρότερου μεγέθους κύτταρα.

Αφού η ολική ηλεκτρική αντίσταση R των κυττάρων εν γένει είναι συνάρτηση της ολικής επιφάνειας αυτών (A) και της ειδικής αντίστασής της μεμβράνης τους (R_m) επιβάλλεται να γίνεται διόρθωση για την επίδραση της μεμβρανικής επιφάνειας στην πυκνότητα του ρεύματος, όταν συγκρίνονται κύτταρα διαφορετικής μορφολογίας και διαφοροποίησης. Π.χ μια γραμμωτή μυϊκή ίνα του τετρακέφαλου μυός του μηρού ενός ανθρώπου έχει πολύ μεγαλύτερη μεμβρανική επιφάνεια, σε σύγκριση με μια αντίστοιχη μυϊκή ίνα του ελμινθοειδούς καμπήρα μυός της ακραίας φάλαγγας του μικρού δακτύλου. Συνεπώς στην περίπτωση της ίνας του τετρακέφαλου αναμένουμε μια πολύ μεγαλύτερη πτώση της ηλεκτρικής αντίστασης λόγω εκτεταμένης επιφάνειας σε σύγκριση με την πτώση αυτής στον ελμινθοειδή μυ, λόγω διαφοράς κυτταρικών επιφανειών.

Η ειδική αντίσταση R_m (αντίσταση ανά cm^2) υπολογίζεται ως: $R_m = R.A$ και στην περίπτωση των ινών του τετρακέφαλου μυός θα έχουμε μια R μικρή – λόγω μεγέθους της επιφάνειας των ινών άρα και της πυκνότητας ρεύματος – και μια αυξημένη γεωμετρική επιφάνεια A της κυτταρικής μεμβράνης, προκειμένου η R_m να έχει μια τιμή που προσεγγίζει αυτήν της R_m του ελμινθοειδούς μυός.

Εφ' όσον $R = \Delta V_m / \Delta I$ (34), τότε συνεπάγεται η εξής σχέση:

$$R_m = (\Delta V_m / \Delta I) \cdot A \quad (35)$$

Δοθέντος ότι η αντίσταση $R = \Delta V_m / \Delta I$ μετράται σε μονάδες Ohm και η επιφάνεια σε τετραγωνικά εκατοστά τότε η $R_m = R.A$ ως *γινόμενο εκφράζεται σε Ohm επί εκατοστόμετρα στο τετράγωνο*. Συνεπώς η μεμβρανική επιφάνεια A και η αντίσταση εισόδου R *σχετίζονται αντιστρόφως ανάλογα ως μεγέθη*. Η *ειδική αντίσταση R_m* της μεμβράνης αποτελεί μια χαρακτηριστική ιδιότητα της δομής της και στην περίπτωση των διαφόρων κυτταρικών μεμβρανών κυμαίνεται από εκατοντάδες έως δεκάδες χιλιάδες **Ohm x cm^2** . Το αντίστροφο της ειδικής αντίστασης της μεμβράνης είναι η *ειδική μεμβρανική*

αγωγιμότητα (G_m), που εκφράζεται σε μονάδες Siemens. Η αγωγιμότητα σχετίζεται στενά με την μεμβρανική διαπερατότητα, αλλά δεν είναι ταυτόσημες. Η αγωγιμότητα για ένα συγκεκριμένο ιόν, σύμφωνα με τον νόμο του Ohm, ορίζεται ως το ηλεκτρικό φορτίο του εν λόγω ιόντος διά την ηλεκτρεγερτική δύναμη που δρα επί αυτού. Συνεπώς η αγωγιμότητα της μεμβράνης σε μια ουσία X ορίζεται ως εξής:

$g_{(x)} = I_{(x)}/\eta\epsilon\delta_{(x)}$ (36), όπου $g_{(x)}$ η μεμβρανική αγωγιμότητα ως προς το ιόν X, $I_{(x)}$ το ρεύμα που φέρεται από το συγκεκριμένο ιόν και $\eta\epsilon\delta_{(x)}$ η ηλεκτρεγερτική δύναμη σε Volt που επενεργεί στο εν λόγω ιόν. Αν και η $\eta\epsilon\delta_{(x)}$ λαμβάνει διαφορετικές τιμές ανάλογα με το υφιστάμενο μεμβρανικό δυναμικό εν τούτοις δεν ταυτίζεται με αυτό, όπως θα αναλύσουμε κατωτέρω.

Στο σημείο αυτό είναι σημαντικό να υπογραμμιστεί ότι η διαπερατότητα μιας μεμβράνης, σε ουσίες που δεν έχουν ηλεκτρολυτική φύση, δεν επηρεάζει την αγωγιμότητά της, καθόσον οι μη ηλεκτρολύτες εφ' όσον δεν μεταφέρουν φορτίο δεν δημιουργούν ηλεκτρικά φαινόμενα κατά την μετακίνησή τους, παρά μόνο φαινόμενα ωσμωτικά.

Η ειδική αγωγιμότητα $g_{(x)}$ ενός ιόντος X δεν εξαρτάται μόνο από το αν η κυτταροπλασματική μεμβράνη είναι διαπερατή στο συγκεκριμένο ιόν, αλλά εξαρτάται προφανώς από την ύπαρξή και την συγκέντρωσή του στο διάλυμα εργασίας στο οποίο είναι βυθισμένο το κύτταρο.

ΔΥΝΑΜΙΚΑ ΙΣΟΡΟΠΙΑΣ – ΕΝΝΟΙΑ ΚΑΙ ΡΟΛΟΣ

Μετά τους ορισμούς και την περιγραφή των δύο κύριων ιδιοτήτων της κυτταροπλασματικής μεμβράνης – της χωρητικότητας και της αγωγιμότητας – έχουμε πλέον την εννοιολογική και φαινομενολογική βάση για να εισέλθουμε στην ερμηνεία της γένεσης του **ηλεκτροχημικού δυναμικού** και των εν γένει ειδών του, ανάλογα με τα υφιστάμενα ιόντα του διαλύματος της κυτταρικής καλλιέργειας και γενικότερα του εξωκυττάριου και ενδοκυττάριου υγρού. Τα δυναμικά αυτά προκύπτουν από δύο φυσικοχημικές ιδιότητες των κυτταρικών μεμβρανών, οι οποίες είναι οικουμενικές και αφορούν όλα τα ευκαρυωτικά είδη κυττάρων. Οι εν λόγω ιδιότητες είναι:

1^{ov}) Η εκλεκτική διαπερατότητα της μεμβράνης.

2^{ov}) Η ασύμμετρη κατανομή των ιόντων μεταξύ του ενδοκυτταρικού και του εξωκυτταρικού περιβάλλοντος.

Η ηλεκτρική ενέργεια που προκύπτει από αυτά τα ηλεκτροχημικά δυναμικά είναι η πηγή κάθε ηλεκτρικού φαινομένου που παρατηρείται σε όλους τους ζωικούς οργανισμούς, δηλαδή αφορά ουσιαστικά την βάση όλων των βιολογικών φαινομένων και η ζωή χωρίς την ύπαρξή τους θα ήταν αδύνατη.

Για να κατανοήσουμε την φύση των εν λόγω δυναμικών ας θεωρήσουμε την διάταξη ενός πειράματος:

Στο σχέδιο παρουσιάζεται η σχηματική τομή ενός δοχείου που διαιρείται σε δύο ίσους χώρους, οι οποίοι διαχωρίζονται γεωμετρικά μέσω μια μεμβράνης επιλεκτικά διαπερατής στα κατιόντα του καλίου (K^+) και όχι σε άλλα ιόντα. Αρχικά τοποθετούμε στα δύο ίσου χώρου διαμερίσματα την ίδια ποσότητα διαλύματος KCl ίσης συγκέντρωσης 0,01 M. Με δύο όμοια ηλεκτρόδια καταγράφουμε διαρκώς την διαφορά δυναμικού και στις δύο όψεις της μεμβράνης και παρατηρούμε ότι δεν υπάρχει καμιά απόκλιση.

Δοθέντος ότι η εν λόγω μεμβράνη είναι περατή μόνο στο K^+ και όχι στο Cl^- , το K^+ μπορεί να διαχυθεί ελεύθερα μέσω της μεμβράνης χωρίς την ταυτόχρονη μετακίνηση ανιόντων Cl^- . Η διέλευση των ιόντων K^+ προς την μια πλευρά είναι ίση στατιστικώς με την διέλευση K^+ προς την άλλη, οπότε η καθαρή ροή είναι μηδενική, οπότε και η διαφορά δυναμικού μεταξύ των πλευρών της μεμβράνης θα βρίσκεται επίσης στο μηδέν, εφ' όσον οι συγκεντρώσεις του KCl παραμένουν ίσες. Εν συνεχεία προσθέτουμε KCl στο διαμέρισμα 1, ώστε να ανέλθει προσωρινά η συγκέντρωσή του στα 0,1 M, δηλαδή σε δεκαπλάσια τιμή ως προς την συγκέντρωση του άλατος στο διαμέρισμα 2. Αμέσως μετά την αύξηση της συγκέντρωσης του KCl η ροή των κατιόντων K^+ από το διαμέρισμα 1 προς το 2 αυξάνεται ενώ παράλληλα μέσω των ηλεκτροδίων καταγράφεται μια αντίστοιχη αύξηση της διαφοράς δυναμικού στις δύο πλευρές της μεμβράνης. Έτσι βλέπουμε ότι η πλευρά της μεμβράνης στο δοχείο I γίνεται σαφώς αρνητικότερη από την πλευρά αυτής στο δοχείο II. Εφ' όσον τα κατιόντα χλωρίου δεν μπορούν να μετακινηθούν η διαφορά αυτή θα παραμείνει μόνιμα και συνεπώς θα έχουμε την ύπαρξη μιας καθαρής ηλεκτρικής ανισορροπίας μεταξύ των δύο διαμερισμάτων του δοχείου. Από την άλλη πλευρά οι συγκεντρώσεις του ιόντος καλίου μετά την παρέλευση κάποιου χρόνου θα γίνουν οι αυτές και στα δύο διαμερίσματα, αλλά η συγκέντρωση του ανιόντος Cl^- θα παραμείνει υψηλότερη στο διαμέρισμα I οπότε αυτό θα είναι ωσμωτικότερο από το διαμέρισμα II.

Ας κάνουμε μια λεπτομερέστερη ανάλυση των φαινομένων που λαμβάνουν χώρα μετά την προσθήκη της περίσσειας του KCl στο διαμέρισμα I για να ερμηνεύσουμε τις αιτίες της δημιουργίας και της διατήρησης της σταθερής διαφοράς δυναμικού μεταξύ των πλευρών της μεμβράνης:

Για κάθε κατιόν K^+ , που διατίθεται στατιστικώς για διάχυση μέσω της μεμβράνης από το διαμέρισμα II στο I, αντιστοιχούν δέκα ιόντα K^+ στο διαμέρισμα I για να διέλθουν διά της μεμβράνης στο διαμέρισμα II, την στιγμή της προσθήκης του διαλύματος KCl δεκαπλάσιας συγκέντρωσης, από την αρχική συγκέντρωση των 0,01 M. Συνεπώς η δεκαπλάσια συγκέντρωση του KCl στο διαμέρισμα I αποτελεί, σε σύγκριση με την αντίστοιχη του διαμερίσματος II, ένα ισχυρό **χημικό δυναμικό** που προκαλεί αρχικά μια καθαρή διάχυση ιόντων K^+ , μέσω της μεμβράνης, από το διαμέρισμα I στο διαμέρισμα II. Κάθε επιπλέον K^+ , που μετακινείται από το I προς το II, προσθέτει ένα θετικό φορτίο στην πλευρά αυτή και αφήνει ένα ασύζευκτο ανιόν Cl^- , το οποίο δεν μπορεί να το ακολουθήσει εξ αιτίας του ότι εμποδίζεται από την μεμβράνη. Όσο διαρκεί η μετακίνηση του K^+ , παρατηρούμε έναν υψηλό ρυθμό ανόδου της διαφοράς δυναμικού μεταξύ των δύο πλευρών της μεμβράνης, καθώς αυτή διαχωρίζει αυτόν τον χρόνο της μεταβολής μια περίσσεια θετικών φορτίων στην μια πλευρά και μια περίσσεια αρνητικών φορτίων στην άλλη.

Όμως καθώς το K^+ περνά από το διαμέρισμα I στο II, η αύξηση της συγκέντρωσής του δημιουργεί ένα πεδίο απωστικής δύναμης στο διαμέρισμα II, που δυσχεραίνει όλο και περισσότερο την καθαρή ροή του K^+ , συναρτήσκει του χρόνου και της μετάβασης προς την ισορροπία των συγκεντρώσεων του συγκεκριμένου κατιόντος, εκατέρωθεν της διαχωριστικής μεμβράνης. Η εν λόγω απωστική δύναμη είναι παρεμποδιστική για την καθαρή ροή καλίου. Ταυτόχρονα, καθ' όλη την δυναμική φάση, όπου αναδιατάσσονται οι συγκεντρώσεις των ιόντων, στο διαμέρισμα I, δημιουργείται ένα πλεόνασμα ανιόντων χλωρίου, οπότε το αρνητικό πεδίο που αναπτύσσεται εξ αιτίας του, ασκεί μια ελκτική δύναμη επί όλων των κατιόντων K^+ που τείνουν να εξέλθουν από το διαμέρισμα I προς το II. Οι δύο αυτές ηλεκτρικές δυνάμεις προκαλούν μια ανασχεση προς την διάχυση του K^+ από το διαμέρισμα I στο II και συνεπώς αντιτίθεται στην δύναμη του χημικού δυναμικού.

Συνεπώς κάθε κατιόν K^+ , που εισέρχεται τώρα στην μεμβράνη υπόκειται στην δράση δύο τύπων δυνάμεων: 1^ο) του χημικού δυναμικού που ωθεί σε μια καθαρή διάχυση από το I στο II. 2^ο) του ηλεκτρικού δυναμικού που ωθεί σε μια καθαρή διάχυση από το διαμέρισμα II στο I.

Όταν οι δύο αυτές αντίθετες δυνάμεις εξισορροπηθούν τότε παραμένουν σε ισορροπία με την ηλεκτροστατική δύναμη του ηλεκτρικού δυναμικού να αναστέλλει πλήρως την τάση διάχυσης του K^+ , σύμφωνα με την κλίση της συγκέντρωσής του. Η διαφορά δυναμικού, που δημιουργείται με αυτόν τον τρόπο ορίζεται ως **δυναμικό ισορροπίας** του συγκεκριμένου ιόντος K^+ και η έννοιά της είναι γενικεύσιμη σε κάθε είδος ιόντος, που διακινείται μέσω μιας κυτταρικής μεμβράνης. Όταν το ιόν βρίσκεται σε ηλεκτροχημική ισορροπία δεν υπάρχει καθαρή ροή διαμέσου της μεμβράνης, αν και η μεμβράνη είναι ελεύθερα διαπερατή σε αυτό. Αν για οποιοδήποτε λόγο το μεμβρανικό δυναμικό (V_m) δεν είναι σε ισορροπία με το δυναμικό ενός ιόντος X (E_x) θα υπάρξει μια ηλεκτρεγερτική δύναμη που ενεργεί επί αυτού του ιόντος, συμβολιζόμενη ως $\eta\epsilon\delta_x$ ίση προς την διαφορά μεταξύ V_m και E_x :

$$\eta\epsilon\delta_x = V_m - E_x \quad (37)$$

Όταν $V_m - E_x$ το ιόν X δεν δέχεται $\eta\epsilon\delta_x$ και ευρίσκεται σε ηλεκτροχημική ισορροπία μεταξύ των δύο πλευρών της μεμβράνης. Έτσι περιγράφεται το μεμβρανικό δυναμικό στο ισοδύναμο ηλεκτρικό κύκλωμα. Μια ποσότητα θετικού φορτίου φερόμενου επάνω σε κατιόντα καλίου, δέχεται την επίδραση μιας ηλεκτρεγερτικής δύναμης ($V_m - E_K$), που δρα επάνω στο κάλιο και διασχίζει την κυτταρική μεμβράνη, μέσω της ειδικής αγωγιμότητάς του (R_{K^+}) και συσσωρεύεται στην άλλη πλευρά της μεμβράνης.

Όταν το δυναμικό μεταξύ των δύο πλευρών του ισοδύναμου πυκνωτή της μεμβράνης εξισώνεται με το δυναμικό ισορροπίας του καλίου, δηλαδή όταν $V_m - E_K = 0$, τότε η καθαρή διάχυση του καλίου σταματά. Τότε το σύστημα βρίσκεται σε ισορροπία και η πλευρά II είναι θετική σε σχέση με την πλευρά I. Η ηλεκτροχημική κλίση που δημιουργήθηκε, αν και το ιόν του χλωρίου είναι αντίθετης κατεύθυνσης, δεν έχει επίδραση, επειδή η υποθετική μεμβράνη του πειράματος είναι αδιαπέραστη στο εν λόγω ιόν. Το ποσό του K^+ που διέρχεται από την μεμβράνη και δημιουργεί την διαφορά δυναμικού είναι τόσο μικρό, ώστε η μεταβολή στην συγκέντρωσή του εν λόγω ιόντος στα δύο διαμερίσματα να θεωρείται πρακτικά αμελητέα.

Μεμβρανικός διαχωρισμός φορτίου

Ουσιαστικά πολύ λίγα ιόντα διαχέονται μέσω ενός cm^2 της μεμβράνης, πριν το δυναμικό της αποκτήσει τιμή ίση με το E_K . Ο ουσιαστικός αριθμός της περίσσειας ιόντων, που διέρχονται μέσω της μεμβράνης, ως διαχυτά ιόντα σε αυτήν, μπορεί εύκολα να

υπολογιστεί. Ο αριθμός της περίσσειας ιόντων καλίου στο διαμέρισμα II (και της περίσσειας ιόντων χλωρίου που μένουν πίσω στο διαμέρισμα II) εξαρτάται από δύο παράγοντες: 1) Το δυναμικό ισορροπίας του καλίου και 2) την χωρητικότητα της μεμβράνης. Υπενθυμίζεται ότι το φορτίο (q) σε Coulomb που συσσωρεύεται είναι ανάλογο και προς την χωρητικότητα C του πυκνωτή και προς το δυναμικό V που αναπτύσσεται στον πυκνωτή. Οι τυπικές βιολογικές μεμβράνες έχουν κατά προσέγγιση μια χωρητικότητα ίση προς $1 \mu\text{fd}/\text{cm}^2$. Μπορούμε να υπολογίσουμε τα Coulomb φορτίου που διέρχονται από 1 cm^2 μεμβράνης, όταν η μεμβράνη διαχωρίζει μια δεκαπλάσια διαφορά συγκέντρωσης ενός διαχυτού μονοσθενούς κατιόντος (π.χ μια διαφορά δυναμικού 58 mV μετά την επίτευξη της ισορροπίας) με τον ακόλουθο τρόπο:

$Q = C.V = (10^{-6} \text{ fd}/\text{cm}^2) (5,8 \cdot 10^{-2} \text{ V}) = 5,8 \times 10^{-8} \text{ C}/\text{cm}^2$. Υπάρχουν 96.500 C φορτίου (1F) σε ένα γραμμοϊσοδύναμο, ή 1 mol ενός μονοσθενούς ιόντος. Έτσι το ποσό ιόντων K^+ σε moles που απαιτείται για να μεταφερθεί $5,8 \times 10^{-8} \text{ C}$ 1 cm^2 της μεμβράνης υπολογίζεται διαιρώντας τον αριθμό των Coulomb διά 1F :

$$5,8 \times 10^{-8} \text{ C}/\text{cm}^2 : 9,65 \times 10^4 \text{ C/mol K}^+ = 6 \times 10^{-13} \text{ mol K}^+/\text{cm}^2$$

Ο αριθμός των κατιόντων K^+ που συσσωρεύονται στο διαμέρισμα II της μεμβράνης βρίσκεται πολλαπλασιάζοντας τον αριθμό των mol με την σταθερά του Avogadro (6×10^{23} μόρια/mol):

$$(6 \times 10^{-13}) (6 \times 10^{23}) = 3,6 \times 10^{11} \text{ K}^+/\text{cm}^2$$

Ένας ίσος αριθμός Cl^- βρίσκεται σε περίσσεια στο διαμέρισμα I της μεμβράνης. Ο αριθμός αυτός είναι μικρότερος από τον αριθμό των ιόντων K^+ ανά κυβικό εκατοστόμετρο, που ευρίσκονται στο διαμέρισμα II, δηλαδή $6 \times 10^{18} \text{ K}^+/\text{cm}^3$. Έτσι, παρά τον διαχωρισμό των ιόντων (των φορτίων) οι συγκεντρώσεις μένουν κατά προσέγγιση αμετάβλητες στις δύο διαφορετικές πλευρές της εκλεκτικά διαπερατής μεμβράνης. Δηλαδή παρά το γεγονός ότι πραγματοποιείται ο συγκεκριμένος διαχωρισμός κατιόντων και ανιόντων αυτό είναι κατά κύριο λόγο ένα φαινόμενο πολύ μικρής κλίμακας και δεν διαταράσσει σημαντικά τις συγκεντρώσεις των ιόντων. Ο νόμος της ουδετερότητας του ηλεκτρικού φορτίου σε αυτό το συγκεκριμένο παθητικό σύστημα μεμβράνης εκλεκτικής διαπερατότητας δεν παραβιάζεται ουσιαστικά στην μικροσκοπική κλίμακα του πειράματος. Ωστόσο η εκλεκτική διαπερατότητα της μεμβράνης είναι ο κύριος μοχλός για να δημιουργηθούν

κλίσεις ιόντων στις δύο πλευρές αυτής. Το συγκεκριμένο πείραμα αποτελεί ένα αδρό μοντέλο της συμπεριφοράς της κυτταρικής μεμβράνης απέναντι στην μετακίνηση των ιόντων με παθητικό τρόπο.

Χρησιμοποιώντας αυτό το μοντέλο μεμβράνης, χαρακτηριζόμενης από εκλεκτική διαπερατότητα, και εφοδιάζοντας την δομή της με διαύλους ικανούς για μεταφορά ιόντων, μέσω δαπάνης ενέργειας πλησιάζουμε πολύ πιο κοντά σε ό,τι συμβαίνει στις βιολογικές μεμβράνες των ζωντανών κυττάρων. Στις πραγματικές βιολογικές μεμβράνες υπάρχει ένα ενζυμικό σύστημα, ενσωματωμένο σε διάφορα σημεία διαύλων της μεμβράνης, το οποίο ονομάζεται αντλία Νατρίου – Καλίου, η οποία μεταφέρει προς το εξωτερικό του κυττάρου τρία ιόντα Na^+ ωθώντας προς τα μέσα δύο ιόντα K^+ . Η μεταφορά αυτή γίνεται με την χρησιμοποίηση της ενέργειας των φωσφορικών δεσμών της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP), που παράγεται από τον ενεργειακό μεταβολισμό των κυττάρων. Με τον τρόπο αυτό δημιουργείται μια άνιση μεταφορά ιόντων, προς και από το εσωτερικό του κυττάρου, δημιουργώντας έτσι μια αρνητικοποίηση του κυτταροπλάσματος και συνεπώς αύξηση της διαφοράς του δυναμικού μεταξύ των δύο όψεων της κυτταρικής μεμβράνης. Η παύση της παραγωγής ενέργειας στο εσωτερικό του κυττάρου προκαλεί και παύση της λειτουργίας της αντλίας $\text{Na}^+ - \text{K}^+$, γεγονός που οδηγεί στην πρόκληση κυτταρικού οιδήματος, ρήξη των μεμβρανών και θάνατο των κυττάρων. Η κυτταρική μεμβράνη θεωρείται ως ζωντανό μέρος των κυττάρων.

Η Εξίσωση του Nerst

Το μέτρο του δυναμικού ισορροπίας ενός ιόντος πρέπει να αυξάνεται, αυξανόμενης της κλίσης συγκέντρωσής του μέσω της μεμβράνης. Συνεπώς όσο μεγαλύτερη είναι η διαμεμβρανική διαφορά χημικού δυναμικού (συγκεντρώσεων εκατέρωθεν της μεμβράνης), για να μπορέσει να υφίσταται πρέπει να δημιουργεί μια μεγαλύτερη διαφορά ηλεκτρικού δυναμικού ώστε να εμποδίζει τα ιόντα να διαχυθούν σύμφωνα με την κλίση της συγκέντρωσής τους. Το δυναμικό ισορροπίας είναι ανάλογο προς τον λογάριθμο του λόγου των συγκεντρώσεων των διαμερισμάτων I & II που θεωρήσαμε στην υπόθεση του ως άνω περιγραφέντος πειράματος.

Η σχέση των λόγων των συγκεντρώσεων και του μεμβρανικού δυναμικού περιεγράφηκε αρχικά από τον W. Nerst, περί τα τέλη του 19^{ου} αιώνα, μέσω των νόμων των αερίων.



Walter Nernst 1864 - 1941

Το δυναμικό ισορροπίας κατά τον Nerst εξαρτάται από τους εξής παράγοντες: 1^{ον}) το σθένος των διαχεόμενων ιόντων, 2^{ον}) τον λόγο των συγκεντρώσεών τους στις δύο πλευρές της μεμβράνης, 3^{ον}) την απόλυτη θερμοκρασία. Αυτά λαμβάνονται για τις δύο πλευρές της μεμβράνης. Η μαθηματική διατύπωση έχει ως εξής:

$$E_x = (RT/F \cdot z) \ln[X]_I/[X]_{II} \quad (38)$$

όπου R η παγκόσμια σταθερά των αερίων, T η απόλυτη θερμοκρασία σε βαθμούς Kelvin, F, η σταθερά του Faraday (96.500 Coulomb/γραμμοϊσοδύναμο φορτίου), z, το σθένος του ιόντος X, [X]_I και [X]_{II} οι συγκεντρώσεις (ενεργότητες) του ιόντος X στα διαμερίσματα I και II, που διαχωρίζονται από την μεμβράνη και E_x το δυναμικό ισορροπίας του ιόντος X, δηλαδή το δυναμικό της πλευράς II μείον το δυναμικό της πλευράς I.

Για ένα μονοσθενές ιόν σε θερμοκρασία 18°C και μετά από μετατροπή του φυσικού λογαρίθμου ln σε log (δεκαδικό λογάριθμο), η εξίσωση του Nerst απλουστεύεται ως εξής:

$$E_x = 0,058 \cdot V \cdot \log[X]_I/[X]_{II} \quad (39)$$

Έχοντας υπόψιν τις ιδιότητες των λογαρίθμων σημειώνουμε ότι το E_x θα είναι θετικό όταν ο λόγος [X]_I/[X]_{II} είναι μεγαλύτερος από την μονάδα, και αρνητικό εάν ο λόγος των συγκεντρώσεων είναι μικρότερος από την μονάδα. Η εξίσωση του Nerst δείχνει μια ανύψωση κατά 58 mV στην διαφορά δυναμικού κάθε φορά που ο λόγος των συγκεντρώσεων αυξάνεται κατά 10. Εκφράζοντας το δυναμικό γραφικά σε συνάρτηση με τον λόγο $\log[X]_I/[X]_{II}$ η σχέση είναι γραμμική κι έχει κλίση - 58mV ανά δεκαπλασιασμό του λόγου των συγκεντρώσεων.

Στα ζωντανά κύτταρα το ηλεκτρικό δυναμικό στο εσωτερικό του κυττάρου (V_{εσ}) περιγράφεται εν σχέσει προς το δυναμικό που επικρατεί στο εξωτερικό του (V_{εξ}), οπότε το δυναμικό της μεμβράνης V_m δίνεται από την σχέση V_m = V_{εσ} - V_{εξ} και για αυτό το δυναμικό στο εξωτερικό του κυττάρου ορίζεται ως μηδέν. Για τον λόγο αυτό κατά τον προσδιορισμό του δυναμικού ισορροπίας ενός ιόντος τοποθετούμε την εξωκυτταρική συγκέντρωση του ιόντος στον αριθμητή και την ενδοκυττάρια στον παρονομαστή. Π.χ στην περίπτωση του Καλίου K⁺ εφαρμόζοντας την εξίσωση του Nerst μπορούμε να υπολογίσουμε το δυναμικό ισορροπίας E_{K⁺} αυτού του ιόντος σε ένα θεωρούμενο υποθετικά κύτταρο στο οποίο [K⁺]_{εσ} = 0,01 M και [K⁺]_{εξ} = 0,1 M:

$$E_{K^+} = 0,058 \text{ V} \times \log [K^+]_{εξ}/[K^+]_{εσ} = 58 \text{ mV} \times \log 0,1/0,001 = 58 \text{ mV} (-1) = -58 \text{ mV}.$$

Το E_{K⁺} είναι αρνητικό καθόσον θα προκύψει ενδοκυτταρική αρνητικότητα όταν ένα ελάχιστο ποσό K⁺ απομακρύνεται από το κύτταρο λόγω της υψηλής ενδοκυτταρικής και χαμηλής εξωκυτταρικής του συγκέντρωσης. Είναι προφανές ότι εφαρμόζοντας την εξίσωση για ένα δισθενές ιόν (z = +2), έχοντας τον δεκαπλασιασμό του λόγου των συγκεντρώσεων η κλίση της ευθείας θα γίνει - 29 mV.

ΤΟ ΔΥΝΑΜΙΚΟ ΗΡΕΜΙΑΣ

Η παθητική κατανομή φορτίου

Η επεξήγηση που δώσαμε ανωτέρω με την χρήση ενός απλού και ιδανικού συστήματος των δύο διαμερισμάτων διαχωρισμένων μέσω μιας μεμβράνης εφοδιασμένης με εκλεκτική διαπερατότητα ενός μόνο διαχυτού ιόντος, μπορεί να επεκταθεί και στις ζωντανές βιολογικές μεμβράνες οι οποίες εμφανίζουν διαφορετικού βαθμού διαπερατότητες προς όλα τα ανόργανα ιόντα των βιολογικών υγρών.

Εάν η κυτταρική μεμβράνη δεν είναι περατή προς ένα ιόν τότε η ηλεκτροχημική κλίση της συγκέντρωσης ενός ιόντος δεν καθορίζει σε κανένα ποσοστό το δυναμικό της μεμβράνης, εφόσον δεν υπάρχει μεταφορά των εν λόγω ιόντων από την μία πλευρά της μεμβράνης προς την άλλη. Έχοντας υπόψιν από το φαινόμενο μπορούμε να πούμε ότι όταν ένα ιόν είναι λιγότερο περατό από ένα ιόν άλλου στοιχείου ή ρίζας, τότε η δράση του στην μεταβολή του δυναμικού της κυτταρικής μεμβράνης θα είναι μικρότερη από ότι η αντίστοιχη του δευτέρου, πιο περατού, ιόντος. Συνεπώς η ιδιότητα που καθορίζει το ποσοστό συνεισφοράς ενός συγκεκριμένου ιόντος, στοιχείου ή χημικής ρίζας, είναι ο βαθμός διέλευσής του μέσα από την λιποπρωτεϊνική μεμβράνη των κυττάρων. Θεωρώντας ότι σε όλη την έκταση και στο πάχος της μεμβράνης οιοδήποτε κυττάρου υπάρχει ομοιόμορφο ηλεκτρικό δυναμικό και λαμβάνοντας υπόψιν την βιβλιογραφία της εποχής, αναπτύχθηκε εκ μέρους του D.E. Goldman (1943). Potential, Impedance, and rectification in membranes. *J Gen Physiol* (1943) 27 (1): 37–60. <https://doi.org/10.1085/jgp.27.1.37>, μια εξίσωση, στην κατεύθυνση της εξίσωσης του Nerst, στην οποία λαμβάνεται υπόψιν η σχετική διαπερατότητα και οι συγκεντρώσεις των κοινότερων και υψηλής συγκέντρωσης ιόντων, K^+ , Na^+ , Cl^- , τα οποία είναι τα πλέον σπουδαία για την ποσοτική διαμόρφωση του ηλεκτρικού δυναμικού της κυτταρικής μεμβράνης. Η εξίσωση του Goldman έχει ως εξής:

$$Vm = \frac{RT}{F} \cdot \ln \left(\frac{P_{K^+}[K^+]_{εξ} + P_{Na^+}[Na^+]_{εξ} + P_{Cl^-}[Cl^-]_{εξ}}{P_{K^+}[K^+]_{εξ} + P_{Na^+}[Na^+]_{εξ} + P_{Cl^-}[Cl^-]_{εξ}} \right) \quad (40)$$

Στην εξίσωση οι παράμετροι P_{K^+} , P_{Na^+} , P_{Cl^-} , είναι οι σταθερές διαπερατότητας των ιόντων Καλίου, Νατρίου και Χλωρίου – δηλαδή των κυρίων ιόντων που συμμετέχουν ποσοτικά στην διαμόρφωση των ηλεκτρικών δυναμικών των κυτταρικών μεμβρανών. Στην εξίσωση του Goldman περιλαμβάνονται οι ενδοκυττάριας και εξωκυττάριας συγκεντρώσεις των συγκεκριμένων ιόντων.

Από τα ανωτέρω καθώς και από την επίλυση της εξίσωσης η πιθανότητα ενός περατού ιόντος να διασχίσει την μεμβράνη είναι ανάλογη του γινομένου της συγκέντρωσής του δηλαδή της ισχύος του δεύτερου θερμοδυναμικού νόμου (θερμοδυναμική ενεργότητα) καθώς και του βαθμού διαπερατότητας της μεμβράνης απέναντι σε κάθε ένα από τα προαναφερθέντα ιόντα. Φυσικά η αρχή αυτή επεκτείνεται σε όλα τα ιόντα που ευρίσκονται είτε στο εξωτερικό, στο εσωτερικό, ή και στα δύο αυτά διαμερίσματα ενός κυττάρου. Γενικότερα πρέπει να σημειώσουμε ότι δεν υπάρχει μηδενική διαπερατότητα ενός ιόντος στην κυτταρική μεμβράνη, αλλά τα ιόντα, που θεωρούνται μηδενικής διαπερατότητας, αλλά αυτό ισχύει μόνον κατά προσέγγιση, διότι η διαπερατότητα της μεμβράνης απέναντί τους είναι πολύ μικρή και συνεπώς λαμβάνεται ως αμελητέα για την συμμετοχή τους στην διαμόρφωση του δυναμικού της κυτταρικής μεμβράνης. Είναι σαφές ότι η συνεισφορά ενός είδους ιόντος στο μεμβρανικό δυναμικό μειώνεται καθώς η συγκέντρωσή του μειώνεται. Στο ακόλουθο το μεμβρανικό δυναμικό ενός ζωντανού κυττάρου δίδεται ως συνάρτηση της εξωκυττάριας συγκέντρωσης του ιόντος Καλίου [K^+], το οποίο έχει τον σημαντικότερο ρόλο στον καθορισμό του δυναμικού ηρεμίας. Στις υψηλές συγκεντρώσεις K^+ η κλίση της γραμμής είναι κατά προσέγγιση ίση με +58 mV ανά δεκαπλασιασμό της συγκέντρωσής του.

Σε συγκεντρώσεις Καλίου μικρότερες έχουμε απόκλιση της εν λόγω γραμμής του E_K από την θεωρητικώς αναγραφόμενη κλίση. Αυτό συμβαίνει διότι το Na^+ παρά την χαμηλή διαπερατότητα που εμφανίζει γίνεται τότε σημαντικότερος συντελεστής της εξίσωσης, καθόσον το γινόμενο $P_{Na^+}[Na^+]_{εξ}$ τείνει να ταυτιστεί με το αντίστοιχο γινόμενο $P_{K^+}[K^+]_{εξ}$.

Το 1954 έγινε η χρήση της διακίνησης ραδιοϊσοτόπων διά μέσω των κυτταρικών μεμβρανών και με την μέθοδο αυτή προσδιορίστηκαν οι σταθερές διαπερατότητας των κυρίων ιόντων σε κύτταρα βατράχου (R.D.Keynes 1954). (Βιβλιογραφία Keynes R. D, 1954. The ionic fluxes in frog muscle. Proc. Roy. Soc. (London) Ser. B.142: 359-382). Έτσι η διαπερατότητα του κατιόντος Na^+ είναι ίση με το 0,01 της αντίστοιχης διαπερατότητας του καλίου. Από την άλλη πλευρά το σημαντικό ανιόν του Cl^- βρίσκεται σε δυναμική ηλεκτροχημική ισορροπία δια μέσω της κυτταρικής μεμβράνης, δηλαδή $E_{Cl} = V_m$. Επειδή μάλιστα δεν μεταφέρεται ενεργά δεν λαμβάνεται υπόψιν. Συνεπώς η ενεργός μεταφορά των ιόντων είναι σημαντικός παράγοντας για να υπάρχει στην εξωτερική και εσωτερική πλευρά της μεμβράνης διαφορά συγκέντρωσης αυτών, στο βαθμό που τα συγκεκριμένα ιόντα είναι διαπερατά, όπως θα δούμε και στις σελίδες που ακολουθούν.

Περνώντας στο επίπεδο των κυτταρικών μεμβρανών του μυός η εξίσωση του Goldman λαμβάνει την ακόλουθη, απλούστερη διατύπωση:

$$V_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_{εξ} + 0,01[Na^+]_{εξ}}{[K^+]_{ες} + 0,01[Na^+]_{ες}} = 0,058 \log \frac{2,5 + (0,01) \cdot (120)/140 + (0,01) \cdot (10)}{1} = -92 \text{ mV} \quad (41)$$

Οι προσδιορισμοί των δυναμικών ηρεμίας σε νευρικά και γραμμωτά μυϊκά (σκελετικά) κύτταρα, μέσω των τεχνικών των μικροηλεκτροδίων, δίνουν τιμές κυμαινόμενες μεταξύ 90 – 100 mV. Τα δεδομένα δείχνουν καθαρά ότι τα δυναμικά ηρεμίας των μεμβρανών των κυττάρων των ιστών είναι πολύ ευαίσθητα σε μεταβολές των συγκεντρώσεων του καλίου στο εξωκυττάριο υγρό, ενώ λιγότερο ευαίσθητα σε μεταβολές των συγκεντρώσεων άλλων φυσιολογικώς απαντώντων κατιόντων. Αυτό συμβαίνει διότι το κάλιο εμφανίζει μεγάλη μεμβρανική διαπερατότητα εν σχέσει με άλλα κατιόντα, όπως π.χ το νάτριο, οι διακυμάνσεις του οποίου στο εξωκυττάριο υγρό προκαλούν μικρότερες ηλεκτρικές μεταβολές καθόσον η μεμβρανική του διαπερατότητα είναι μειωμένη και συνεπώς δεν αλλάζει εύκολα η δράση του στην κατανομή των ιόντων στο εξωτερικό και εσωτερικό του κυττάρου και στην γένεση της διαμεμβρανικής διαφοράς δυναμικού.

Μπορούμε συνεπώς να συμπεράνουμε ότι το αρνητικό δυναμικό ηρεμίας των κυττάρων οφείλεται στην υψηλή ενδοκυτταρική συγκέντρωση καλίου, σε σχέση με την χαμηλή εξωκυττάρια συγκέντρωση αυτού, όπως επίσης στην ισχυρή τάση του εν λόγω κατιόντος να φεύγει από το κύτταρο αποσύροντας ένα θετικό φορτίο, με αποτέλεσμα την δημιουργία ενός αρνητικού φορτίου, σύμφωνα με την αρχή της ηλεκτρικής ουδετερότητας. Ιόντα όμως με χαμηλή μεμβρανική διαπερατότητα ελάχιστα συνεισφέρουν στο δυναμικό ηρεμίας, πράγμα το οποίο συμβαίνει με το νάτριο ή το ασβέστιο. Ωστόσο ειδικά στην περίπτωση του Ca^{+2} η διακίνησή του προς το εσωτερικό του κυττάρου επιφέρει μεγάλες λειτουργικές μεταβολές, καθόσον τον δισθενές αυτό κατιόν λειτουργεί ως σηματοδότης δευτέρου είδους.

Η ΕΝΕΡΓΟΣ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΣΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΝΕΥΡΙΚΩΝ ΚΑΙ ΜΥΪΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Στα θεωρητικά μοντέλα μεμβρανών, όπως επίσης και στις τεχνητές μεμβράνες, που από την κατασκευή τους επιτρέπουν την επιλεκτική μεταφορά ενός είδους ιόντος, βλέπουμε ότι προκύπτει ένα σταθερό δυναμικό που διατηρείται επ' αόριστο μέσα στον χρόνο χωρίς ενεργειακή δαπάνη, από την στιγμή που η μεμβράνη θα έρθει στην κατάσταση της

ισορροπίας. Αυτό λαμβάνει χώρα ως συνέπεια των νόμων της διατήρησης και κυρίως του δεύτερου θερμοδυναμικού νόμου. Ωστόσο για τις πραγματικές φυσικές μεμβράνες, που απαντώνται σε όλα τα ευκαρυωτικά κύτταρα η κατάσταση είναι πολύ διαφορετική, καθόσον σε αυτές, ακόμη και στις καλύτερες συνθήκες δομικής σταθερότητας, υπάρχει πάντοτε μια διαρροή ανόργανων ιόντων, η οποία είναι διαφορετικού βαθμού, ανάλογα με την φύση και την εξειδίκευση της μεμβράνης. Υπενθυμίζουμε ότι στην ανάλυσή μας έχουμε ως πρότυπο μεμβρανών αυτές που καλύπτουν τα νευρικά και τα σκελετικά μυϊκά κύτταρα.

Θεωρώντας την περίπτωση του αφθονότερου φυσιολογικός απαντώντος ιόντος, δηλαδή του Na^+ , βλέπουμε στις σκελετικές μυϊκές ίνες του βατράχου ότι οι συγκεντρώσεις του εν λόγω ανόργανου ιόντος είναι 10 mM στο ενδοκυττάριο υγρό και 120 mM στο εξωκυττάριο. Βάσει αυτών των διαφορών μπορούμε να προσδιορίσουμε το δυναμικό ισορροπίας του Na^+ , ως εξής:

$$E_{\text{Na}^+} = 0,058V \times \log 120/10 = +63 \text{ mV}$$

Βάσει των μετρήσεών μας προκύπτει ότι υπό φυσιολογικές συνθήκες για την περίπτωση του κατιόντος Na^+ το μεμβρανικό δυναμικό V_m του μυϊκών κυττάρων του σκελετικού μυός του βατράχου περιέχεται μεταξύ -90 και 100 mV . Εφόσον το δυναμικό ισορροπίας E_{Na^+} είναι $+63 \text{ mV}$ και το μεμβρανικό δυναμικό V_m κυμαίνεται μεταξύ -90 mV και 100 mV , οπότε τα ιόντα Na^+ είναι μακράν της ισορροπίας κατά 150 mV περίπου. Δηλαδή $V_m - E_{\text{Na}^+} = -90 - 63 = -150 \text{ mV}$. Στην περίπτωση των -100 mV η διαφορά $-V_m - E_{\text{Na}^+} = -163 \text{ mV}$. Συνεπώς υπό συνθήκες πλήρους παθητικής μεταφοράς νατρίου, ακόμη και με μια μικρή μεμβρανική διαπερατότητα του ιόντος αυτού, θα είχαμε μια σταθερή του εισροή στο κύτταρο εξ αιτίας της ηλεκτρεγερτικής δύναμης που δρα επί του κατιόντος νατρίου. Συνεπώς αν δεν υπάρχει ένας μηχανισμός ικανός να απομακρύνει το εισερχόμενο νάτριο δημιουργώντας μια εξίσωση εισόδου – εξόδου του εν λόγω ιόντος, τότε αυτό θα συσσωρευόταν στο εσωτερικό του κυττάρου και θα απωθούσε το ομώνυμα φορτισμένο K^+ , ώστε αυτό να διαφύγει προς τον εξωκυττάριο χώρο, λόγω της μεγάλης εισόδου του Na^+ . Αυτή η κατάσταση εν τούτοις δεν συμβαίνει στα υγιή φυσιολογικά κύτταρα. Ο μηχανισμός εξουδετέρωσης της υπερβολικής εισόδου Na^+ και της διατήρησης των υψηλών ενδοκυττάρων συγκεντρώσεων K^+ επιτυγχάνεται μέσω της λεγόμενης αντλίας $\text{Na}^+ - \text{K}^+$, η οποία λειτουργεί με την κατανάλωση ενέργειας υπό την μορφή ATP και

αποτελεί τον ακρογωνιαίο λίθο των συστημάτων ενεργού μεταφοράς ατόμων και μορίων δια μέσου των κυτταρικών μεμβρανών. Η αντλία $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ λειτουργεί μεταφέροντας τρία κατιόντα Na^+ από τον ενδοκυττάριο χώρο προς το εξωκυττάριο υγρό και παραλλήλως δύο κατιόντα K^+ προς το εσωτερικό του κυττάρου. Η μεταφορά αυτού του ασύμμετρου αριθμού ιόντων Na^+ και K^+ έχει ως αποτέλεσμα την απομάκρυνση του νατρίου από τα κύτταρα και την συνεξυγμένη προς αυτήν συγκέντρωση του καλίου στο κυτταρόπλάσμα. Κατά την ενεργό μεταφορά τριών Na^+ γίνεται μια αναγκαστική πρόσληψη δύο K^+ , με αποτέλεσμα το εσωτερικό του κυττάρου να αρνητικοποιείται ως προς το εξωτερικό του. Έτσι η αντλία νατρίου – καλίου είναι ένας ηλεκτρογόνος μηχανισμός, ο οποίος παίζει ουσιαστικό ρόλο στην διαμόρφωση του αρνητικού δυναμικού των ζωντανών κυττάρων και της μεμβρανικής διαφοράς δυναμικού. Ακόμη και αν η μεταφορά του νατρίου δεν ήταν συνεξυγμένη με την μεταφορά του καλίου προς το εσωτερικό του κυττάρου εν τούτοις το κάλιο θα κινούταν παθητικά προς τα μέσα για να αντικαταστήσει το νάτριο, διατηρώντας έτσι την ηλεκτρική ουδετερότητα του κυτταροπλάσματος.

Σε πειράματα στα οποία η αερόβια παραγωγή ενέργειας διακόπτεται δηλητηριάζοντας την αναπνευστική αλυσίδα των μιτοχονδρίων με ανιόντα κυανίου (CN^-) ή αζίδια, το Na^+ παρουσιάζει μια έντονη διεύδυση στο εσωτερικό του κυττάρου, ενώ το ενδοκυττάριο K^+ διαφεύγει προς τα έξω εκτοπιζόμενο λόγω θετικότητας φορτίου. Το ίδιο φαινόμενο εκδίωξης του ενδοκυττάρου καλίου παρατηρείται όταν η ενεργός μεταφορά νατρίου ανασταλεί μέσω της χρήσης στροφανθίνης. Το δυναμικό ηρεμίας αρχικά μειώνεται σημαντικά, παρακολουθώντας την βαθμιαία ελάττωση του πηλίκου των συγκεντρώσεων $[\text{K}^+]/\epsilon\zeta/[\text{K}^+]/\epsilon\xi$. Η εξώθηση του Na^+ που βασίζεται στην μεταβολική παραγωγή ενέργειας, υπό την μορφή ATP από το κύτταρο εμποδίζει την κλίση του Na^+ και του K^+ να φτάσουν σε ισορροπία. Από αυτά συνάγεται ότι η διατήρηση μιας συνεχούς κλίσης συγκέντρωσης καλίου η αντλία νατρίου παίζει έναν σημαντικό ρόλο στον καθορισμό του δυναμικού ηρεμίας. Αυτό συμβαίνει διότι το ποσό του Na^+ που μεταφέρεται εκτός του κυττάρου σε έναν πλήρη κύκλο λειτουργίας της αντλίας είναι κατά ένα κατιόν ενός θετικού φορτίου μεγαλύτερο από το θετικό φορτίο (το οποίο φέρεται από το κατιόν του καλίου) που εισέρχεται στο κύτταρο εφ' όσον σε κάθε κύκλο της αντλίας εξέρχονται τρία Na^+ και εισέρχονται τρία K^+ , καθόσον η μεταφορά των δύο ειδών ιόντων είναι ασύμμετρη αριθμητικά. Εξ αιτίας αυτής της θεμελιώδους ιδιότητας της η αντλία είναι ηλεκτρογεννητική (ή ηλεκτρογόνος) επειδή προφανώς είναι άμεσα υπεύθυνη για την

εκδίωξη ενός θετικού φορτίου από το εσωτερικό του κυττάρου σε κάθε κύκλο της, οπότε συμβάλει σταθερά στην δημιουργία του ενδοκυττάρου αρνητικού δυναμικού. Το μέγεθος του φορτίου που οφείλεται στην λειτουργία της αντλίας εξαρτάται άμεσα από τον ρυθμό επαναφοράς του φορτίου στο εσωτερικό του κυττάρου. Η συνεισφορά της αντλίας δεν μπορεί να υπερβεί μερικά mV διότι όταν δημιουργηθεί το δυναμικό ηρεμίας αυτό είναι πιο αρνητικό από τα δυναμικά ισορροπίας των ιόντων K^+ και Cl^- , στα οποία η μεμβράνη παρουσιάζει σχετικά υψηλή διαπερατότητα.

Η ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗ ΤΗΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΜΕΝΗΣ ΗΛΕΚΤΡΙΚΗΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ

Η δραστηριότητα της ενεργού μεταφοράς σε αντίθετες κατευθύνσεις των ιόντων νατρίου και καλίου έχει ως αποτέλεσμα την βαθμιαία συσσώρευση ηλεκτρικής ενέργειας που αποθηκεύεται μεταξύ των δύο πλευρών της κυτταρικής μεμβράνης. Η αποθήκευση της εν λόγω ενέργειας παρουσιάζει ένα μέγιστο στις κυτταρικές μεμβράνες και απελευθερώνεται ως ιοντικό ρεύμα γεννώντας το ενεργό δυναμικό καθώς και άλλα ηλεκτρικά σήματα που είναι χαρακτηριστικά των ζωντανών ιστών και τα οποία με την σειρά τους στηρίζουν αλληλουχίες βιολογικών φαινομένων απαραίτητες για τις διεργασίες της ζωής, ειδικότερα στους πολυκύτταρους ζωικούς οργανισμούς. Οι εν λόγω δραστηριότητες στα ζώα είναι 1^{ον}) η νευρωνική λειτουργία, 2^{ον}) η μυϊκή συστολή, 3^{ον}) η έκκριση. Είναι και πάλι χρήσιμο να υπενθυμίσουμε την προσομοίωση της μεμβράνης με έναν πυκνωτή στον οποίο είναι συνδεδεμένοι δύο αγωγοί (ένας ως αγωγός του ιόντος νατρίου και ένας ως αγωγός του ιόντος καλίου), όπως επίσης και μερικές μπαταρίες οι οποίες αντιπροσωπεύουν το δυναμικό ισορροπίας κάθε ιόντος.

Όταν η μεμβράνη βρίσκεται σε ηρεμία εξακολουθεί να είναι περισσότερο διαπερατή στα κατιόντα K^+ με αποτέλεσμα το μεμβρανικό δυναμικό ηρεμίας να πλησιάζει στο δυναμικό ισορροπίας αυτού (E_K) με συνέπεια τα ιόντα K^+ να προσεγγίζουν την ηλεκτροχημική ισορροπία εφ' όσον το νάτριο έχει μεγαλύτερη συγκέντρωση στο εξωκυττάριο διαμέρισμα απ' ό,τι στο ενδοκυττάριο, σε αντίθεση με το κάλιο η συγκέντρωση του οποίου είναι μεγάλη στο εσωτερικό του κυττάρου και μικρή στο εξωτερικό αυτού. Άρα η πολικότητα του δυναμικού ισορροπίας και η ηλεκτροχημική κλίση του νατρίου είναι αντίθετες από τις αντίστοιχες του καλίου. Το δυναμικό του νατρίου (E_{Na}) είναι θετικό ενώ το δυναμικό του καλίου (E_K) είναι αρνητικό.

Επειδή το δυναμικό ισορροπίας του νατρίου βρίσκεται μακριά από το δυναμικό ηρεμίας υπάρχει μια μεγάλη ηλεκτρεγερτική δύναμη που δρα επάνω στο Na^+ και ισούται με την διαφορά μεταξύ του δυναμικού της μεμβράνης και του δυναμικού ισορροπίας του νατρίου ($V_m - E_{\text{Na}}$). Η εν λόγω ηλεκτρεγερτική δύναμη αποτελεί μια ισχυρή πηγή δυναμικής ενέργειας που ορισμένα κύτταρα την αποδίδουν διεγερόμενα από ερεθίσματα τα οποία αυξάνουν την διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης στο νάτριο. Συνεπώς από τα ερεθίσματα αυτά προκύπτει η παροδική είσοδος νατρίου στο κύτταρο, που αποτελεί και το λεγόμενο ρεύμα νατρίου.

Στο παράδειγμα που προαναφέρουμε το δυναμικό της μεμβράνης είναι αρχικά -90 mV ενώ το $E_{\text{Na}} = +63 \text{ mV}$. Η ηλεκτρεγερτική δύναμη που επενεργεί πάνω στο νάτριο είναι ίση προς την διαφορά μεταξύ αυτών των δυναμικών εφαρμόζοντας την σχέση

$$H\epsilon\delta_{\text{Na}} = V_m - E_{\text{Na}} = -90 \text{ mV} - 63 \text{ mV} = -153 \text{ mV}. \quad (42)$$

Εδώ το αρνητικό πρόσημο δηλώνει ότι το ρεύμα του νατρίου θα κατευθύνεται προς το εσωτερικό του κυττάρου. Δίνοντας την τιμή -102 mV στο E_K για το εν λόγω παράδειγμα θα έχουμε:

$$H\epsilon\delta_K = V_m - E_K = -90 \text{ mV} - (-102 \text{ mV}) = +12 \text{ mV}. \quad (43)$$

Από την θετική τιμή βλέπουμε ότι το ρεύμα που μεταφέρεται από το K^+ κατευθύνεται προς το εξωτερικό του κυττάρου.

Παρουσιάζεται το αποτέλεσμα μιας στιγμιαίας αύξησης της αγωγιμότητας του νατρίου (g_{Na}). Όταν η αγωγιμότητα αυτή αυξάνεται το Na^+ εισχωρεί στο κύτταρο προσθέτοντας θετικό φορτίο στην εσωτερική επιφάνεια του πυκνωτή (στην εσωτερική επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης, C_m , μέχρι να επιτευχθεί μια νέα σταθερή κατάσταση μεταξύ του E_K και του E_{Na} . Το K^+ που δεν βρίσκεται στην κατάσταση αυτή σε ισορροπία μεταφέρει φορτίο από το εσωτερικό του κυττάρου προς το εξωτερικό αυτού με τον ίδιο ρυθμό που το νάτριο εισάγει τα αντίστοιχα φορτία του στο εσωτερικό του κυττάρου. Συνεπώς με αυτόν τον μηχανισμό θα προκύψει μια εκπόλωση της μεμβράνης σαν άμεσο αποτέλεσμα της αύξησης της αγωγιμότητας της ως προς το κατιόν του νατρίου. Όταν η αγωγιμότητα του νατρίου (g_{Na}) επανέλθει στην προηγούμενη – αρχική – της χαμηλή τιμή το μεμβρανικό δυναμικό θα επανέλθει στο αρχικό του επίπεδο – που βρίσκεται κοντά στο E_K . Αν υπάρξει μια αύξηση στην αγωγιμότητα ενός ιόντος (π.χ του Καλίου) με δυναμικό ισορροπίας πιο

αρνητικό από το μεμβρανικό δυναμικό που επικρατεί, το μεμβρανικό δυναμικό V_m θα πολωθεί πλησιάζοντας το δυναμικό ισορροπίας του εν λόγω ιόντος (δηλαδή, εν προκειμένου το E_K), όπως γίνεται στην περίπτωση του υποθετικού μας πειράματος.

Συνεπώς για την δημιουργία μιας ηλεκτρικής ώσης εκ μέρους της κυτταρικής μεμβράνης απαιτούνται οι ακόλουθες δύο προϋποθέσεις:

1^ο) Η ύπαρξη μιας ηλεκτροχημικής κλίσης λόγω ανισότιμης κατανομής ιόντων.

2^ο) Η διάνοιξη των ιοντικών μεμβρανικών καναλιών (διαύλων) που επιτρέπουν την ροή συγκεκριμένων ιόντων - και συνεπώς ηλεκτρικού ρεύματος - διά μέσου της μεμβράνης.

Όταν η διάνοιξη αυτή προκύψει τότε ακριβώς η προϋπάρχουσα κλίση συγκέντρωσης, που βρίσκεται μακριά από την ηλεκτροχημική ισορροπία θα δώσει την ηλεκτρεγερτική δύναμη για την διαμεμβρανική μετακίνηση ηλεκτρικού φορτίου, αποδίδοντας την ενέργεια που είχε συσσωρευτεί στην μεμβράνη. Η αντλία Na^+-K^+ αποκαθιστά τις σωστές συγκεντρώσεις των ιόντων και έτσι το κύτταρο ανακτά τις προηγούμενες φορτίσεις και την ικανότητά του να επαναλάβει έναν ακόμη κύκλο πόλωσης – εκπόλωσης και συνεπώς ώσης.

Πρέπει να υπογραμμίσουμε ότι το φαινόμενο της μεμβρανικής ενεργοποίησης ευρίσκεται στην βάση όλων των φαινομένων μυϊκής συστολής, και συνεπώς της κίνησης των οργανισμών, της επικοινωνίας μεταξύ των νευρώνων του νευρικού συστήματος (κεντρικού και αυτόνομου), της μεταφοράς πληροφορίας σε εκκριτικά κύτταρα, καθώς της ενεργοποίησης μεμονωμένων κυττάρων. Όμως κυτταρικές σειρές όπως τα λευκοκύτταρα και τα αιμοπετάλια φαίνεται να ακολουθούν άλλους μηχανισμούς διέγερσης βασισμένους σε τοπικά εστιασμένα σήματα, τα οποία διεγείρουν συγκεκριμένους και εξειδικευμένους, προς αυτά, υποδοχείς. Οι δράσεις των νευροδιαβιβαστών, των ορμονών του αυτόνομου νευρικού συστήματος, των ορμονών του θυρεοειδούς αδένος και άλλων ορμονών, των αυτακοειδών και των κυτταροκινών έχουν ως βάση τους την τοπική αλλαγή της πολικότητας και τα ηλεκτροτονικά φαινόμενα της περιβάλλουσας κυτταρικής μεμβράνης. Όπως είναι ευνόητο δεν καταλήγουν απαραίτητα σε πλήρη ενεργοποίηση της μεμβράνης, όταν το εισερχόμενο ερέθισμα είναι μικρότερο από ένα επίπεδο. Ωστόσο όταν το ερέθισμα υπερβεί ποσοτικά το εν λόγω επίπεδο – το οποίο χαρακτηρίζεται ως «κατώφλι» ή «ουδός», τότε αναγκαστικά θα προκύψει πλήρης ενεργοποίηση της μεμβράνης και δυναμικό δράσης ή ώση.

Συνεπώς αυτά τα ηλεκτροφυσιολογικά φαινόμενα που περιγράφουμε εδώ αποτελούν ουσιαστικά όλη την βάση της ηλεκτροφυσιολογίας του ανθρώπου και των ζώων σε όλα τα επίπεδα της εξελικτικής ιεραρχίας των οργανισμών, καθώς και σε όλες τις συνομοταξίες, ξεκινώντας ήδη από το ταξινόμημα των Πρώτιστων.

Τα βασικά χαρακτηριστικά του δυναμικού ενέργειας και οι νόμοι που το προσδιορίζουν ως φαινόμενο

Το δυναμικό ενέργειας, ή δυναμικό δράσης, ή ώση εμφανίζεται σε ορισμένα είδη κυττάρων και συγκεκριμένα στα νευρικά και μυϊκά κύτταρα. Επίσης εμφανίζεται σε κύτταρα που ανήκουν στην ομάδα των αισθητήριων δεκτών, καθώς και σε κύτταρα εκκριτικά. Τα ανωτέρω αφορούν τους πολυκύτταρους ζωικούς οργανισμούς, αλλά επίσης παρατηρούνται συχνά και στα είδη της μεγάλης ταξινομικής ομάδας των Πρωτόζωων.

Τα δυναμικά ενέργειας ασκούν δύο κύριες λειτουργίες:

1^{ον}) Την ταχεία και υψηλής συχνότητας μετάδοση πληροφοριών σε νευρικές και μυϊκές ίνες.

2^{ον}) Την πρόκληση και το έλεγχο αντιδράσεων εκτελεστικού χαρακτήρα, όπως η πρόκληση μυϊκών συστολών, η έκκριση ουσιών από αδενικά κύτταρα, η απελευθέρωση νευροδιαβιβαστών και ορμονών.

Ο μηχανισμός με τον οποίο προκαλείται γενικά το δυναμικό ενέργειας ή δράσης είναι ο εξής: Εφ' όσον η διαπερατότητα της μεμβράνης αλλάξει ένα ρεύμα κινείται από το εσωτερικό του διεγέρσιμου κυττάρου προς το εξωτερικό του καταγραφόμενου στον παλμογράφο ως μικρής χρονικής διάρκειας παλμός. Το ρεύμα αυτό προκαλεί μια παθητική εκπόλωση της μεμβράνης. Αν είναι αρκετά ισχυρό θα εκπολώσει την μεμβράνη φτάνοντάς την στο δυναμικό κατώφλιου (ή ουδού). Αν η εκπόλωση δεν είναι ικανή ώστε να προσεγγιστεί το κατώφλιο τότε παρουσιάζεται μια διέγερση περιορισμένη η οποία δεν μεταδίδεται καθόσον δεν μπορεί να αυτοτροφοδοτηθεί. Αυτή η περιορισμένη ανταπόκριση ονομάζεται **τοπική αντίδραση**. Αν η ισχύς του ρεύματος είναι επαρκώς μεγάλη και προσεγγίσει το κατώφλι τότε θα έχουμε την δημιουργία ενός δυναμικού ενέργειας. Το ρεύμα που χαρακτηρίζεται από την ελάχιστη και αναγκαία ένταση που είναι ικανή να φέρει το δυναμικό της μεμβράνης στο κατώφλιο δυναμικό ονομάζεται **κατώφλιο ρεύμα**. Η

τιμή του κατώφλιου ρεύματος δεν είναι η ίδια για όλες τις κυτταρικές μεμβράνες και εξαρτάται από ένα σύνολο παραγόντων, μεταξύ των οποίων οι σημαντικότεροι είναι οι εξής:

1^{ον}) η αντίσταση της μεμβράνης

2^{ον}) η δομική κατάσταση αυτής

3^{ον}) το εξωτερικό περιβάλλον της μεμβράνης

4^{ον}) η διάρκεια του παλμού ρεύματος

Από την στιγμή που το ρεύμα οδηγήσει στην επίτευξη του κατωφλίου δυναμικού τότε λαμβάνει χώρα μια ποιοτική αλλαγή και το φαινόμενο αύξησης του δυναμικού της μεμβράνης γίνεται αυτοτροφοδοτούμενο, ακολουθώντας το προφίλ ενός θετικού feedback. Συνεπώς στο εσωτερικό του κυττάρου το αρνητικό δυναμικό ανεβαίνει προς θετικές τιμές, υπερβαίνει το μηδέν και συνεχίζει την θετικοποίηση μέχρις ότου φτάσει σε μια ακραία τιμή κυμαινόμενη από +30 mV – 50 mV. Το τμήμα του δυναμικού ενέργειας πάνω από το μηδέν ονομάζεται *δυναμικό αιχμής (Spike)* και χαρακτηρίζεται από το φαινόμενο της *αυτεπαγωγής*, οπότε επεκτείνεται σε όλη την μεμβράνη του κυττάρου. Στην περίπτωση των νευρικών κυττάρων, που οι άξονές τους παρουσιάζουν μεγάλο μήκος, όπως επίσης και στην περίπτωση των γραμμωτών μυϊκών ινών η αυτομετάδοση του δυναμικού αιχμής λαμβάνει την μορφή της ώσης, χωρίς να υπάρχει καμιά μείωση στην απόλυτη τιμή του. Συνεπώς όταν έχουμε τον ερεθισμό ενός διεγέρσιμου κυττάρου και προκύψει δυναμικό ενέργειας ισχύει ο κανόνας του «*όλον ή ουδέν*», δηλαδή ή θα έχουμε δυναμικό δράσης ή δεν θα έχουμε. Είναι σαφές ότι σε αυτή την κατάσταση δεν υπάρχουν αντιδράσεις ενδιάμεσου μεγέθους κυμαινόμενες μεταξύ αυτής της εν λόγω πλήρους αντίδρασης και μιας μικρής αντίδρασης. Η έλλειψη των ενδιάμεσων αυτών καταστάσεων δίνεται με τον γλαφυρό χαρακτηρισμό του νόμου του «*όλα ή ουδέν*». Η μελέτη του φαινομένου του δυναμικού ενέργειας μας αποκαλύπτει ότι ναι μεν το ύψος του δυναμικού αιχμής μπορεί να αλλάξει, ανάλογα με την κατάσταση της μεμβράνης, την σύσταση του εξωτερικού περιβάλλοντος, του κυτταροπλασματικού υγρού, όπως επίσης και της ενεργειακής κατάστασης του κυττάρου, αλλά πάντα θα ισχύει η αρχή του «*όλα ή τίποτα*». Ουσιαστικά η εν λόγω αρχή σημαίνει ότι το μέγεθος της αντίδρασης (το δυναμικό ενέργειας) θα παραμείνει το αυτό, ανεξάρτητα αν η ένταση του ερεθισμού αυξηθεί, φτάνει να έχει ξεπεράσει το κατώφλι δυναμικού.

Σημαντική ιδιότητα των διεγέρσιμων κυττάρων είναι η ταχύτατη επαναπόλωσή τους από την αιχμή του δυναμικού ενέργειας στο δυναμικό ηρεμίας. Με την αποκατάσταση του αρχικού δυναμικού κατά την επαναπόλωση αποκαθίσταται η ικανότητα της κυτταρικής μεμβράνης να ενεργοποιηθεί ξανά και να παράγει κι άλλο δυναμικό ενέργειας, στέλνοντας μια διαδοχική ώση. Τα δυναμικά ενέργειας έχουν χρονική διάρκεια η οποία ποικίλει σε ορισμένα νευρικά κύτταρα από κλάσματα του χιλιοστού του sec έως 0,5 sec στην περίπτωση του δυναμικού ενέργειας των καρδιακών μυϊκών κυττάρων. Η καθυστέρηση αυτή στα μυοκαρδιακά κύτταρα έχει την σκοπιμότητα οι κοιλίες της καρδιάς να γεμίσουν αίμα, έτσι ώστε κατόπιν η μυϊκή τους συστολή να στείλει επαρκή ποσότητα αίματος στην περιφέρεια της μικρής και μεγάλης κυκλοφορίας, μέσω της πνευμονικής αρτηρίας και της αορτής αντιστοίχως. Στα νευρικά κύτταρα η μικρή διάρκεια του δυναμικού ενέργειας έχει την σκοπιμότητα της διαδοχικής μετάδοσης μεγάλων αριθμών ώσεων στην μονάδα του χρόνου για τον πλήρη έλεγχο της επικοινωνίας μεταξύ νευρικών κέντρων μεταξύ τους, όπως επίσης και για την καίρια κυβέρνηση των περιφερικών οργάνων που νευρώνονται τόσο από το κεντρικό όσο και από το αυτόνομο νευρικό σύστημα. Ανάλογα με τον τύπο των νευρικών ιών διακρίνουμε και διαφορετικούς χρόνους μετάδοσης ώσεων, ώστε τα νευρικά σήματα να έχουν κάθε φορά την κατάλληλη χρονική δομή προς τα όργανα που καθοδηγούνται από τα αντίστοιχα νευρικά κέντρα.

Ισχύει γενικά ότι η μείωση του χρόνου μεσολάβησης μεταξύ δύο διαδοχικών δυναμικών ενέργειας έχει ως συνέπεια την μείωση του αντίστοιχου δυναμικού ενέργειας. Συνεπώς όταν ο χρόνος μεταξύ δύο διαδοχικών δυναμικών ενέργειας μειώνεται το δεύτερο δυναμικό θα εξασθενεί βαθμιαία και αν ο ερεθισμός δοθεί σε βραχύτερο χρονικό διάστημα από ένα συγκεκριμένο ελάχιστο χρόνο τότε δεν θα προκύψει δυναμικό δράσης. Το χρονικό διάστημα κατά το οποίο το δεύτερο δυναμικό εκλείπει εξαρτάται από την ισχύ του ερεθισμού επί φυσιολογικών κυττάρων. Αν το κύτταρο έχει υποστεί μεμβρανική βλάβη ή και ενεργειακή ανεπάρκεια, όπως στην περίπτωση της υποξίας, ο ερεθισμός του θα αποβεί άκαρπος και δεν θα υπάρξει φυσιολογική απάντηση. Στα φυσιολογικά κύτταρα κανένας ερεθισμός δεν μπορεί να προκαλέσει ένα δεύτερο δυναμικό ενέργειας κατά ένα συγκεκριμένο χρονικό διάστημα που ονομάζεται **απόλυτη ανερέθιστη περίοδος** η οποία διαρκεί όσο το δυναμικό δράσης με μια μικρή χρονική επιμήκυνση μετά το τέλος του.

Μετά την λήξη της απόλυτης ανερέθιστης περιόδου τα ηλεκτρικά χαρακτηριστικά της μεμβράνης αποκαθίστανται σταδιακά, ούτως ώστε αυτή να είναι έτοιμη να δημιουργήσει

και ένα δεύτερο δυναμικό ενέργειας (δράσης). Η περίοδος αυτή πριν την πλήρη λειτουργική αποκατάσταση ονομάζεται *περίοδος σχετικής ανερεθιστικότητας*, τα χαρακτηριστικά της οποίας είναι:

1^ο) μια μικρή υπερύψωση του κατωφλίου ερεθισμού.

2^ο) μια μικρή ελάττωση του ύψους του δυναμικού ενέργειας.

Αυτά σημαίνουν ότι για να υπάρξει ένα νέο δυναμικό δράσης κατά την διάρκεια της περιόδου της σχετικής ανερεθιστικότητας απαιτείται η εφαρμογή ενός μεγαλύτερου ερεθίσματος (π.χ ηλεκτρικό ρεύμα υψηλότερης έντασης). Από την άλλη πλευρά το πλάτος του νέου δυναμικού ενέργειας θα είναι χαμηλότερο. Το κατώφλιο ενεργοποίησης αποκαθίσταται στην αρχική τιμή ηρεμίας αυτού όταν παρέλθει και ο χρόνος της περιόδου σχετικής ανερεθιστικότητας.

Είναι σημαντικό να αναφέρουμε ότι η μείωση της διεγερσιμότητας μετά το δυναμικό ενέργειας έχει σκοπό της την αποτροπή της συνάθροισης των ώσεων, επιτρέποντας όμως την εκπομπή ώσεων μικρότερου πλάτους δυναμικού ενέργειας.

Η κυτταρική μεμβράνη των διεγερσιμων κυττάρων παρουσιάζει μια αύξηση του κατωφλίου μετά από έκθεση της σε υποκατώφλιες εκπολώσεις. Αυτό έχει ως συνέπεια την χρονοεξαρτώμενη μείωση της διεγερσιμότητας. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να επιδειχθεί αν με *αργή βαθμίδωση* εκπολώσουμε την πλήρως φορτισμένη κυτταρική μεμβράνη με την εφαρμογή, στην επιφάνειά της, ενός ρεύματος αυξανόμενης έντασης. Αυτό διαφέρει από την διέγερση μέσω ενός απότομου κλιμακωτού εφαρμοζόμενου ρεύματος. Για να προκληθούν δυναμικά ενέργειας με έναν ρεύμα αυτής της αργής αύξησης απαιτούνται μεγαλύτερες εκπολώσεις.

Υπάρχουν τέτοιες διεγερσιμες μεμβράνες και το χαρακτηριστικό τους αυτό προκύπτει μέσω μιας χρονοεξαρτώμενης μεταβολής στην ευαισθησία διάνοιξης των ιοντικών διαύλων της μεμβράνης από τα οποία κινούνται τα ιόντα που προκαλούν την εκπόλωση. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται *προσαρμογή*. Η προσαρμογή επίσης μπορεί να επιτευχθεί κατά την διέλευση ενός ρεύματος σταθερής έντασης. Είναι μάλιστα ένα φαινόμενο το οποίο αφορά κάθε κυτταρική μεμβράνη και μπορούμε να το προκαλέσουμε εύκολα σε πολλές ομάδες νευρώνων μέσω εφαρμογής κατάλληλων σταθερών διεγέρσεων. Η προσαρμογή είναι ένα προστατευτικό φαινόμενο. Οι μεμβράνες κάποιων τύπων νευρικών κυττάρων εγκαθιστούν προσαρμογή ταχέως και παράγουν μικρό αριθμό ώσεων (μία ή δύο

ώσεις) κατά την εφαρμογή ενός παρατεταμένου σταθερού ρεύματος ως ερεθισμού. Άλλες μεμβράνες προσαρμόζονται πιο αργά εκπέμποντας με προοδευτικά μειούμενη συχνότητα σε απάντηση στην εφαρμογή ενός ρεύματος σταθερής έντασης.

Το φαινόμενο της προσαρμογής είναι πολύ σημαντικό καθώς αποτελεί ένα φαινόμενο οικονομίας στην νευρωνική διέγερση και στα αποτελέσματά της στα κύτταρα και στα όργανα στόχους που οι νευρώνες κυβερνούν. Ειδικά στην νευροφυσιολογία των αισθητηρίων την βλέπουμε πολύ συχνά, γενικά στα ζώα, συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπου. Η διέγερση των κυττάρων σημαίνει αύξηση της έντασης λειτουργίας τους και συνεπώς αύξηση της παραγωγής και της κατανάλωσης ενέργειας, μεγαλύτερες αναβολικές συνθέσεις, περισσότερη κατανάλωση οξυγόνου στα μιτοχόνδρια, άρα και μεγαλύτερη παραγωγή ελευθέρων ριζών. Η υπερδιέγερση οδηγεί σε οξειδωτικό stress. Τα φαινόμενα αυτά συμβαίνουν με μεγάλη συχνότητα στον τραυματισμό του νευρικού ιστού, τόσο στα περιφερικά νεύρα, αλλά κυρίως στο εσωτερικό του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος. Π.χ σε μια συμπίεση του εγκεφαλικού παρεγχύματος εξ αιτίας μιας υποαραχνοειδούς αιμορραγίας, ή μιας εγκεφαλικής θλάσης, ή ακόμη ενός θρομβοεμβολικού επεισοδίου, ή μιας ρήξης ενός εγκεφαλικού αγγείου, η πίεση του εγκεφαλικού παρεγχύματος αυξάνει με αποτέλεσμα τα τριχοειδή αγγεία του εγκεφάλου, αλλά και μεγαλύτερα αγγεία (π.χ αρτηρίδια) να συμπιέζονται μέχρι του σημείου η πίεση ενσφήνωσης στο εσωτερικό τους να μην είναι επαρκής ώστε να διέλθει το αίμα και να οξυγονώσει τους ιστούς. Αυτό επίσης μπορεί να γίνει απλώς και με την εκτεταμένη φλεγμονή. Πέραν του ότι πρέπει να γίνουν οι χειρισμοί που θα μειώσουν την ενδοκράνια πίεση, ώστε να υπάρξει ξανά οξυγονώση του ισχαιμούντος ιστού, πρέπει η φαρμακολογική παρέμβαση να μειώσει την δραστηριότητα των νευρώνων και κυρίως των διεγερτικών νευρώνων. Οπότε στις περιπτώσεις αυτές χορηγούνται συνήθως βαρβιτουρικά τα οποία καταστέλλουν ισχυρά όλα τα εγκεφαλικά κύτταρα αυξάνοντας πάρα πολύ το κατώφλιο διέγερσης. Αυτό το πολύ καθαρό παράδειγμα μας δίνει την σημασία της καταστολής ως μια πολύ μεγάλη ενίσχυση της προσαρμογής μέσω φαρμακευτικών ουσιών. Ο ύπνος είναι μια άλλη μορφή όπου η νευρωνική προσαρμογή κυριαρχεί καθώς στην φάση REM υπάρχει ένας γενικευμένος φραγμός στην αισθητική και κινητική διαβίβαση, ενώ η θερμοκρασία του σώματος είναι πολύ χαμηλή. Στην απλή μας καθημερινότητα η προσαρμογή μας κάνει να μην αισθανόμαστε την επαφή μας με τα ρούχα που φοράμε, ή ακόμη να χάνουμε την οπτική εικόνα ενός αντικειμένου, ή ενός σταθερού ηχητικού ερεθίσματος. Ειδικά σε ορισμένα

είδη ζώων, όπως στην οικογένεια των αιλουροειδών (*Felidae*) όταν ένα αντικείμενο σταματήσει να κινείται η προσαρμογή των οπτικών υποδοχέων του ζώου καθιστά το αντικείμενο αυτό αόρατο. Δηλαδή το ζώο δεν το βλέπει πλέον. Αυτό ισχύει και για τον άνθρωπο όταν εστιάζει ένα αντικείμενο. Για τον λόγο αυτό οι οφθαλμοί μας ευρίσκονται σε μια διαρκή κίνηση μικρής έκτασης, η οποία ονομάζεται μικροζαχαδική κίνηση και η οποία προκαλεί συνεχείς απεστιάσεις ώστε να μην προσαρμόζονται οι οφθαλμοί και η αισθητική τους λειτουργία λιγιστέψει.

Ο ρόλος του Νατρίου (Υπόθεση Νατρίου) στο δυναμικό ενέργειας

Η έναρξη των κύριων μελετών που μας έδωσαν τις βάσεις των γνώσεων μας για την ηλεκτρική διέγερση των κυτταρικών μεμβρανών, μέσα στις οποίες συμπεριλαμβάνεται το δυναμικό ενέργειας, άρχισε τα τέλη της δεκαετίας του 1930 από το ανατομικό έργο του Άγγλου Ζωολόγου J.Z. Young. Ο ερευνητής αυτός το 1936, σε μια αναφορά του, υποδεικνύει ότι κάποιες επιμήκεις δομές που διατρέχουν το σώμα των γιγαντιαίων καλαμαριών *Loligo gigas*) όπως επίσης απαντούν στο σώμα του σκυλόψαρου δεν είναι αγγεία, όπως θεωρούντο παλαιότερα, αλλά είναι νευράξονες πολύ μεγάλων μηκών, δηλαδή ανήκουν σε νευρολογικές δομές μετάδοσης ώσεων. Από την πειραματική σκοπιά ο Young σκέφτηκε ότι αυτές οι γιγάντιοι νευράξονες θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως πειραματικά μοντέλα για την μελέτη της ηλεκτροφυσιολογίας των κυτταρικών μεμβρανών. Αυτό το επισήμανε αμέσως, εξ αιτίας των μεγάλων διαστάσεών τους, εφόσον η ευμεγέθης διάμετρός τους – που προσεγγίζει το 1 mm – τους αποδίδει ένα πειραματικό πλεονέκτημα, αφού επιτρέπει την τοποθέτηση ηλεκτροδίων τόσο διέγερσης όσο και καταγραφής των ηλεκτρικών φαινομένων.

Εφ' όσον οι νευράξονες του γιγαντιαίου καλαμαριού άρχισαν να χρησιμοποιούνται σαν βασικό ερευνητικό μοντέλο άρχισαν σε λίγα χρόνια να δημοσιεύονται εργασίες από ξεχωριστούς ερευνητές, σχετικές με την λειτουργία των συγκεκριμένων νευραξόνων. Οι ερευνητές που δημοσίευσαν ήσαν οι K.S.Cole & H.J.Curtis, που εργαζόταν στο Woods Hole Massachusetts, όπως επίσης οι A.L. Hodgkin & A.F. Huxley που εργαζόταν στο Plymouth της Αγγλίας. Οι Cole & Curtis ανέφεραν μια σημαντική αύξηση στην αγωγιμότητα της μεμβράνης, χωρίς αξιοσημείωτη μεταβολή στην χωρητικότητά της, ταυτοχρόνως με την εμφάνιση του δυναμικού.

Οι Hodgkin & Huxley διαπίστωσαν ότι το δυναμικό της μεμβράνης δεν μηδενίζεται κατά την διάρκεια του δυναμικού ενέργειας αλλά, απεναντίας, αλλάζει πολικότητα. Η τελευταία αυτή λεπτομέρεια ερχόταν σε σύγκρουση με την κυρίαρχη υπόθεση η οποία υποστήριζε ότι η αύξηση της διαπερατότητας κατά την διέγερση δεν ήταν ειδική και ήταν αποτέλεσμα της κατάρρευσης της πολικότητας της μεμβράνης.

Λίγα χρόνια μετά οι Hodgkin & Katz (1949) έδειξαν ότι η απομάκρυνση του εξωκυττάριου Na^+ από το ρυθμιστικό διάλυμα εμβάπτισης του νευράξονα έχει ως αποτέλεσμα την μη εμφάνιση του δυναμικού ενέργειας.

Όταν η εξωτερική συγκέντρωση του Na^+ βαίνει μειούμενη, αντιστοίχως μειώνεται ο ρυθμός των εκπολώσεων, όπως επίσης και το ύψος του δυναμικού ενέργειας.

Η διαπίστωση αυτή οδήγησε τους ερευνητές να εισάγουν την λεγόμενη «υπόθεση του νατρίου», σύμφωνα με την οποία η απότομη αύξηση της διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης προς το νάτριο οδηγούσε στην απότομη είσοδό του στο εσωτερικό των κυττάρων και προκαλούσε το δυναμικό ενέργειας ενδυναμώνοντας την άνοδό του που κορυφωνόταν στο δυναμικό αιχμής (spike). Η υπόθεση του νατρίου βασίστηκε στις εξής επί μέρους παρατηρήσεις:

1^{ον}) Η εξωκυττάρια συγκέντρωση του κατιόντος νατρίου ήταν περίπου 10 φορές μεγαλύτερη από την ενδοκυττάρια συγκέντρωση και το δυναμικό ισορροπίας E_{Na} κυμαινόταν μεταξύ +10 έως +60 mV στους νευράξονες του γιγαντιαίου καλαμαριού. Συνεπώς η ηλεκτρεγερτική δύναμη (ηεδ) που επενεργεί επί των κατιόντων νατρίου έχει μια ισχυρή τάση να κατευθύνει το νάτριο προς το εσωτερικό του κυττάρου. Η ηεδ επί του Na^+ δίνεται από την σχέση:

$$H\eta_{\text{Na}} = V_m - E_{\text{Na}}$$

2^{ον}) Επειδή το Na^+ είναι θετικά φορτισμένο εισχωρώντας στο κύτταρο προκαλεί μια θετική μετατόπιση του αρνητικού ενδοκυττάριου δυναμικού.

3^{ον}) Η νέα τιμή του ενεργού δυναμικού προσεγγίζει το δυναμικό ηρεμίας του νατρίου που υπολογίζεται από τον λόγο 10/1 της εξωκυττάριας προς την ενδοκυττάρια συγκέντρωση του νατρίου και συγκεκριμένα:

$$E_{\text{Na}} = (RT/Fz) \cdot \ln [\text{Na}^+]_{\text{εξ}} / [\text{Na}^+]_{\text{εσ}} = +0,058 \cdot \log 10 = +58 \text{ mV}.$$

4^{ον}) Η τιμή του δυναμικού αιχμής (spike) ποικίλλει συναρτήσει της εξωκυττάριας συγκέντρωσης του Na^+ , όπως προβλέπεται από την μεταβολή του δυναμικού ισορροπίας του E_{Na} .

Η γόνιμη συνεργασία των Hodgkin & Huxley διακόπηκε από τον δεύτερο παγκόσμιο πόλεμο, αλλά μετά από αυτόν οι ίδιοι συγγραφείς δημοσίευσαν δεδομένα τα οποία στήριζαν ακόμη ισχυρότερα την υπόθεση του νατρίου (1952^α, 1952^β). Η εξαγωγή αυτών των νεότερων δεδομένων πραγματοποιήθηκε με την χρησιμοποίηση μια καινούργιας ηλεκτρονικής τεχνικής δυναμικού χαρακτήρα, γνωστής με την ορολογία «τεχνική παγίδευσης τάσης».

Μια περιληπτική περιγραφή της νέας αυτής δυναμικής τεχνικής έχει ως εξής: Κατ' αρχάς η πρώτη εφαρμογή της έγινε σε νευράξονες γιγαντιαίου καλαμαριού, με την χρησιμοποίηση ενός συστήματος επανατροφοδοσίας (feedback) το οποίο αλλάζει απότομα και διατηρεί (παγιδεύει) το δυναμικό της μεμβράνης σε μια σταθερή τιμή, η οποία προεπιλέγεται κατά τον χρόνο που καταγράφεται το ρεύμα το οποίο διέρχεται διαμέσου της μεμβράνης. Η προσέγγιση αυτή από την δομή της περιλαμβάνει λιγότερες ανεξέλεγκτες παραμέτρους από εκείνες που παρουσιάζονται όταν η μεμβράνη διεγείρεται να δημιουργήσει ένα δυναμικό ενέργειας αντιδρώντας στην εφαρμογή ενός παλμού εκπολωτικού ηλεκτρικού ρεύματος. Είναι σημαντικό να υπογραμμιστεί στο σημείο αυτό ότι η εν λόγω τεχνική μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να μελετηθεί ειδικότερα η συμπεριφορά των πολύ σημαντικών ιοντικών διαύλων που προκαλούν την παραγωγή των βιοηλεκτρικών σημάτων.

Σχηματοποιώντας προκύπτει με σαφήνεια μια σχετική καταγραφή από τις εργασίες που προαναφέρουμε: υπάρχει η εξέλιξη ενός υπερπολωτικού δυναμικού (καταγραφή a) που οδηγεί σε ένα πολύ μικρό και σταθερό διαμεμβρανικό ρεύμα με κατεύθυνση προς το εσωτερικό του κυττάρου (a') κατά την διάρκεια της υπερπόλωσης. Ένα εκπολωτικό δυναμικό του ίδιου μεγέθους (καταγραφή b) συνοδεύεται από μια πολύπλοκη αλληλουχία ισχυρότερων διαμεμβρανικών ρευμάτων (καταγραφή b'). Η αρχική, παροδική προς τα κάτω απόκλιση στην καταγραφή b' δείχνει ένα αρχικό κύμα ρεύματος με κατεύθυνση προς το εσωτερικό του κυττάρου. Το κύμα αυτό κοπάζει σε 1 έως 2 msec, και ακολουθείται από ένα βραδέως αναπτυσσόμενο, καθυστερημένο ρεύμα με κατεύθυνση προς το εξωτερικό του κυττάρου (προς τα άνω απόκλιση της καταγραφής). Το αρχικό (προς τα μέσα) ρεύμα είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρον, επειδή αντιπροσωπεύει μια εισροή

θετικού φορτίου στο κύτταρο, και θα μπορούσε συνεπώς να συσχετιστεί με το ανερχόμενο τμήμα του ενεργού δυναμικού, το οποίο πιστεύεται ότι οφείλεται στην εισροή των κατιόντων Na^+ .

Οι Hodgkin & Huxley σε σχετικό τους πείραμα - στο οποίο εξέτασαν την υπόθεση του νατρίου ως βασικού φορέα εκπολωτικού διαμεμβρανικού ρεύματος προς το εσωτερικό του κυττάρου - αντικατέστησαν τα ιόντα του Na^+ με κατιόντα χολίνης (η οποία είναι μια οργανική κατιονική ουσία, που έχει ομοιότητες με ενεργά μεμβρανικά φωσφολιπίδια, με χαρακτήρα διεγερτών μεμβρανών, όπως ο *Platelet Activating Factor - PAF*) για να μελετήσουν το πώς θα συμπεριφερόταν οι κυτταρικές μεμβράνες, με την αντικατάσταση του νατρίου στο εξωκυττάριο υγρό. Ο σχεδιασμός του εν λόγω πειράματος ήταν αποφασιστικής σημασίας για την απόδειξη της αλήθειας της υπόθεσης του νατρίου, όπως αποδείχτηκε από την έκβαση των πειραμάτων.

Το αποτέλεσμα των εν λόγω πειραμάτων φαίνεται στην εικόνα 5-25 – (βιβλίο Hodgkin – Huxley) η οποία δείχνει την εξαφάνιση του αρχικού αυτού ρεύματος και την αντικατάστασή του με έναν μικρό και προς τα έξω του κυττάρου κατευθυνόμενο ρεύμα. Το μικρό αυτό ρεύμα, χρονικά καθυστερημένο, προς το εξωτερικό του κυττάρου παρέμεινε αναλλοίωτο. Η επανατοποθέτηση του νευράξονα του γιγαντιαίου καλαμαριού μέσα σε ένα διάλυμα επώασης (εξωτερικό μέσο) που περιείχε κανονική συγκέντρωση νατρίου, οδήγησε στην επανεμφάνιση του αρχικού ρεύματος με κατεύθυνση προς το εσωτερικό του κυττάρου. Η επανεμφάνιση του ρεύματος αυτού έδειξε ότι το αρχικό ρεύμα το κατευθυνόμενο προς το εσωτερικό του κυττάρου είναι αποτέλεσμα της παροδικής εισροής Na^+ στο εσωτερικό του κυττάρου. Σύμφωνα με αυτή την ερμηνεία η εφαρμογή μιας απότομης εκπόλωσης οδηγεί σε μια βραχυπρόθεσμη διάνοιξη των διαύλων του Na^+ και έτσι το Na^+ εισχωρεί στο εσωτερικό του νευράξονα δημιουργώντας έτσι το ρεύμα του νατρίου. Συνεπώς έχουμε:

$$I_{\text{Na}^+} = g_{\text{Na}^+} (V_m - E_{\text{Na}^+}) \quad (44)$$

Συνεπώς στο φυσιολογικό εξωκυττάριο περιβάλλον στο οποίο το Na^+ έχει την φυσιολογική του τιμή η ηλεκτροχημική κλίση $(V_m - E_{\text{Na}^+})$ κατευθύνει το νάτριο προς το εσωτερικό του κυττάρου, όταν η g_{Na^+} αυξάνεται.

Όταν το εξωκυτταρικό Na^+ αντικαθίσταται από ένα ιόν μη διαβατό διά της μεμβράνης, όπως π.χ είναι η χολίνη, η ηλεκτροχημική κλίση του νατρίου αντιστρέφεται, και έτσι αντιστρέφεται η κατεύθυνση του ρεύματος Na^+ .

Η ευφυής κίνηση των Hodgkin & Huxley στην εν λόγω σειρά των πειραμάτων ήταν ότι κατόρθωσαν να διαχωρίσουν την χρονική πορεία του αρχικού ρεύματος εισροής από το καθυστερημένο ρεύμα εκροής. Μετά την καταγραφή του ρεύματος, παρουσία φυσιολογικού ορού, άρχισαν να χαμηλώνουν την εξωτερική συγκέντρωση του ιόντος Na^+ , κατά τρόπον ώστε το Na^+ να ευρίσκεται σε ισορροπία κατά την διέγερση. Επειδή το Na^+ ήταν σε ισορροπία, κατά τον ερεθισμό, στην τιμή ερεθισμού $V_m - E_{\text{Na}^+}$ δεν παρατηρήθηκε ρεύμα νατρίου ως απάντηση προς την εκπόλωση, αλλά το καθυστερημένο ρεύμα εκροής υπήρξε κανονικά, καθόσον, όπως αποδείχθηκε αργότερα ο φορέας του είναι τα κατιόντα K^+ . Το καθυστερημένο ρεύμα εκροής αφαιρέθηκε από το σύνθετο ρεύμα που καταγράφεται παρουσία φυσιολογικού ορού κανονικής συγκέντρωσης νατρίου. Η διαφορά μεταξύ αυτών των δύο ρευμάτων εκλαμβάνεται ως η χρονική πορεία του ρεύματος Na^+ , το κατευθυνόμενο μέσω της μεμβράνης προς το εσωτερικό του κυττάρου, όπως καταλαβαίνουμε από την ροή των καταστάσεων.

Στο σημείο αυτό είναι πολύ σημαντικό να προσπαθήσουμε να ερμηνεύσουμε τι ακριβώς σημαίνει αυτή η χρονοεξαρτώμενη πορεία του ρεύματος νατρίου, σχετικά με την συμπεριφορά της μεμβράνης:

Κατ' αρχάς πρέπει να σημειώσουμε ότι στην εξίσωση 43, δηλαδή στην $I_{\text{Na}^+} = g_{\text{Na}^+} (V_m - E_{\text{Na}^+})$ το ρεύμα νατρίου, εξ αιτίας του νόμου του Ohm το ρεύμα νατρίου I_{Na^+} καθορίζεται από δύο παράγοντες:

- (1) Την αγωγιμότητα (g_{Na^+}) της μεμβράνης ως προς το Na^+
- (2) Την ηλεκτρεγερτική δύναμη που επενεργεί πάνω στο Na^+ (δηλαδή την διαφορά $V_m - E_{\text{Na}^+}$).

Πρακτικά ο προσδιορισμός αυτός σημαίνει ότι όταν η μεμβράνη μεταπέσει απότομα σε ένα σταθερό και εκπολωμένο επίπεδο, τότε η χρονική πορεία του ρεύματος νατρίου θα πρέπει να είναι ανάλογη προς την χρονοεξαρτώμενη πορεία της αύξησης της αγωγιμότητας του νατρίου σε απάντηση προς την εκπόλωση. Επομένως η χρονική πορεία του αυξημένου ρεύματος νατρίου I_{Na^+} μπορεί να εξισωθεί με την χρονοεξαρτώμενη αύξηση στην αγωγιμότητα του νατρίου. Μέσα στο πλαίσιο αυτό πρέπει να

υπογραμμίσουμε ότι αν και το V_m διατηρείται σταθερό στο δυναμικό εκπολώσεως, η αγωγιμότητα του νατρίου μέσα σε 1 msec εφ' όσον αναρριχηθεί μέσα στην μέγιστη τιμή αυτής, αυτόματα υποχωρεί απότομα στο χαμηλό επίπεδο που την χαρακτήριζε πριν την εφαρμογή του ερεθισμού. Η διαδικασία αυτή είναι αυτόματη και καθορίζεται από τις βιοφυσικές λειτουργίες και την δομή της μεμβράνης. Κατόπιν τούτων είναι σαφές ότι σε όλη αυτή την διαδικασία της δημιουργίας του δυναμικού ενέργειας ή δράσης διακρίνουμε δύο ξεχωριστές πορείες:

1^{ον}) Την αύξηση της αγωγιμότητας του νατρίου, που προκαλείται από μια εκπόλωση και ορίζεται ως *ενεργοποίηση* της μεμβράνης.

2^{ον}) Την μετέπειτα χρονοεξαρτώμενη επαναφορά στο βασικό επίπεδο, η οποία ορίζεται ως *ανενεργοποίηση* της μεμβράνης του διεγέρσιμου κυττάρου.

Οι έννοιες και τα συνδεόμενα με αυτές φαινόμενα αποτελούν κοινά στοιχεία όλων των φαινομένων διέγερσης και αποδιέγερσης που παρατηρούνται σε κάθε βιολογική μεμβράνη κάθε είδους διεγέρσιμων κυττάρων στα ζώα της Γης. Συνεπώς είναι φαινόμενα οικουμενικά για την επίγεια ζωή.

Ο Διάλογος του Νατρίου

Μέσω μιας εκτεταμένης σειράς πειραμάτων κατέστη σαφές ότι το ρεύμα των ιόντων νατρίου διέρχεται από έναν συγκεκριμένο αριθμό διαύλων κατόπιν διέγερσης της κυτταρικής μεμβράνης, η οποία προκαλεί την διάνοιξη των εν λόγω διαύλων. Οι διάυλοι αυτοί ενεργοποιούνται, δηλαδή διανοίγονται ώστε να άγουν ηλεκτρικό ρεύμα υπό την μορφή ροής ιόντων νατρίου, κατόπιν μιας εκπόλωσης της μεμβράνης. Το χαρακτηριστικό των συγκεκριμένων διαύλων (καναλιών) είναι ότι επιτρέπουν επιλεκτικά την διέλευση Na^+ και Li^+ , εν συγκρίσει προς την διέλευση άλλων μονοσθενών κατιόντων, τα οποία εμφανίζουν μεγαλύτερη δυσχέρεια στο να περάσουν μέσω αυτών των σωληνοειδών δομών. Η ιδιότητα της επιλεκτικής διέλευσης των κατιόντων νατρίου και λιθίου βασίζεται σε ένα τμήμα του αντίστοιχου διαύλου, το οποίο ονομάζεται *ηθμός επιλεκτικότητας*. Δεδομένου του ότι το λίθιο είναι ένα σχετικά σπάνιο κατιόν και δεν απαντάται στα υγρά του σώματος των ζώων, σε αντίθεση με το νάτριο που αφθονεί και με το κάλιο που δεν μπορεί να διέλθει τον ηθμό επιλεκτικότητας, έχουμε μια εκλεκτική διέλευση του νατρίου και ουσιαστικά μια μηδενική διέλευση του καλίου από τον συγκεκριμένο διάυλο.

Σε ό,τι αφορά τον μηχανισμό που ανοίγει ή κλείνει το κανάλι διέλευσης του νατρίου, εν σχέσει με την εκπόλωση της μεμβράνης και το πέρας αυτής, υπάρχει μια βασική παρατήρηση που δείχνει ότι πρόκειται για έναν ηλεκτρικά φορτιζόμενο μηχανισμό φραγμού στα ιόντα του νατρίου που βρίσκεται ενεργός στην κατάσταση της ηρεμίας. Το εμπόδιο που λειτουργεί ως μηχανισμός απόθησης του νατρίου μετατοπίζεται σε νέα θέση όταν η μεμβράνη εκπολώνεται, οπότε ξεκινά η διέλευση των Na^+ .

Η κύρια απόδειξη μιας τέτοιας φυσικής δομικής μεταβολής, ή μετακίνησης, αποτελεί η καταγραφή των λεγόμενων «θυριδικών ρευμάτων» τα οποία σχετίζονται με το άνοιγμα και το κλείσιμο των καναλιών του νατρίου. Τα πολύ μικρά αυτά θυριδικά ρεύματα μπορούν να γίνουν αισθητά και να καταγραφούν όταν ανασταλεί με φαρμακολογικό τρόπο το πολύ ισχυρότερο ιοντικό ρεύμα νατρίου που διέρχεται μέσω του διαύλου του εξειδικευμένου καναλιού του νατρίου.

Πιστεύεται ότι το θυριδικό ρεύμα προκύπτει ουσιαστικά από τις μετακινήσεις φορτισμένων ομάδων που σχετίζεται με την διάνοιξη της ενεργοποιημένης θυρίδας (Θυρίδα – m). Παρόμοια ρεύματα έχουν παρατηρηθεί και στα κανάλια καλίου και ασβεστίου σε πολλούς ιστούς ζώων.

Κατά την διάρκεια της εκπολώσεως το κανάλι του νατρίου *απενεργοποιείται*. Επειδή η απενεργοποίηση αυτή εμποδίζεται από κάποια πρωτεολυτικά ένζυμα, που προστίθενται στην κυτταροπλασματική πλευρά της κυτταρικής μεμβράνης, πιστεύεται ότι οφείλεται σε μια πρωτεΐνη που λειτουργεί ως *απενεργοποιητική θυρίδα* (θυρίδα – h) και η οποία αν υποστεί υδρόλυση εκ μέρους των προαναφερθέντων ενζύμων παύει να ασκεί την απενεργοποιητική της δράση, οπότε ο διάυλος παύει να είναι αποκλεισμένος από την διέλευση του νατρίου. Το κλείσιμο της θυρίδας h λαμβάνει χώρα αρκετά δευτερόλεπτα μετά την διάνοιξη της θυρίδας m. Μάλιστα φαίνεται να σχετίζεται και να εξαρτάται από το αν η θυρίδα m είναι κλειστή.

Ένα ενδιαφέρον πείραμα έγινε με την χρησιμοποίηση μιας θανατηφόρας τοξίνης η οποία επειδή προέρχεται από τους ιστούς του δηλητηριώδους ιχθύος *Tetrodon gillbanksii* φέρει το όνομα τετροδοτοξίνη (TTX). Η ουσία αυτή εισχωρεί στο εσωτερικό των διαύλων νατρίου και τους αποκλείει. Τα πειράματα με το μόριο της τετροδοτοξίνης τα οποία πραγματοποιήθηκαν με πολλούς τύπους νευρώνων δείχνουν μια σχετικά μέτρια πυκνότητα διαύλων νατρίου καθώςον μόνο 100 μόρια τετροδοτοξίνης δεσμεύονται σε σημεία επιλεκτικά για το νάτριο σε επιφάνεια $1 \mu\text{m}^2$ της μεμβράνης των νευραξόνων. Τα μόρια

αυτά της τετροδοτοξίνης αναστέλλουν απολύτως την αύξηση της αγωγιμότητας του νατρίου που συνοδεύει την εκπόλωση, πράγμα που υπονοεί ότι ο αριθμός τους ταυτίζεται με τον αριθμό των διαύλων του νατρίου. Συνεπώς οι διάυλοι νατρίου διανοίγονται με την έλευση της εκπόλωσης και όλα τα φαινόμενα που ακολουθούν σχετίζονται με την εκπόλωση, η οποία πυροδοτεί εντέλει την διάνοιξη (ενεργοποίηση) και το κλείσιμό τους, οπότε αυτό σημαίνει την πραγματοποίηση ενός ενιαίου φαινομένου τριών φάσεων με αυστηρή χρονική διαδοχή (ενεργοποίηση – ροή ιόντων – απενεργοποίηση. Σύμφωνα με τις μετρήσεις – οι οποίες βασίζονται στις διαστάσεις του μορίου της τετροδοτοξίνης – η διάμετρος ενός διαύλου νατρίου προσεγγίζει τα 5 έγκστρομ (Å), οπότε το συνολικό άθροισμα της επιφανείας των διαύλων νατρίου είναι μικρότερο του 1/50.000 συνολικού εμβαδού της κυτταροπλασματικής μεμβράνης του νευράξονα.

Η λίαν περιορισμένη επιφάνεια των στομίων των διαύλων των ιόντων νατρίου σε συνάρτηση της όλης κυτταροπλασματικής έκτασης της μεμβράνης δεν έρχεται σε σύγκρουση με τα μεμβρανικά μοντέλα των Danielli & Singer, σύμφωνα με τα οποία η μεγάλη, μη διακοπτόμενη λιπιδική διπλοστοιβάδα είναι υπεύθυνη για την χαμηλή διαπερατότητα της μεμβράνης προς μη πολικές ουσίες.

Η αμετάβλητη χωρητικότητα που παρατηρείται στην μεμβράνη κατά την διάρκεια της σημαντικής μεταβολής της αγωγιμότητας, η οποία συνοδεύει την διέγερση της μεμβράνης, δεν συγκρούεται με το γεγονός πως ένα ελάχιστο τμήμα του συνολικού μεμβρανικού εμβαδού αντιστοιχεί στις εισόδους των διαύλων ιόντων.

Το 1980 οι F. Sigworth & E. Neher απέδειξαν ότι το ρεύμα που διέρχεται από ένα διάυλο νατρίου κατά την ενεργοποίησή του, λόγω της εκπολώσεως της μεμβράνης είναι δυνατό να καταγραφεί. Τα πολύ μικρά αυτά ρεύματα καταγράφονται με μικροπιπέτες διαμέτρου 0,5 μm, είναι δε ορθογώνιοι παλμοί τύπου «Όλα ή Τίποτα». Η παρατήρηση αυτή δείχνει ένα απότομο άνοιγμα και ένα απότομο κλείσιμο του διαύλου. Το μέγεθος των ρευμάτων είναι όμοιο μεταξύ διαφόρων διαύλων, αλλά η διάρκεια τους ποικίλει πολύ. Ο μέσος χρόνος που διαρκεί η διάνοιξη ενός διαύλου είναι μικρότερος από 1 msec και εξαρτάται από το μεμβρανικό δυναμικό, ενώ μειώνεται καθώς η ένταση του αριθμού αυξάνεται. Η αγωγιμότητα του διαύλου νατρίου είναι περίπου 10 pS (αντίσταση 10×10^{-12} S ή 10-11 Ohm).

Χρησιμοποιώντας τον νόμο του Ohm, την σταθερά του Faraday και τον αριθμό του Avogadro μπορεί να υπολογιστεί ότι το ενεργοποιημένο κανάλι νατρίου μεταφέρει $6 \text{ Na}^+/\mu\text{sec}$ όταν η δύναμη που επενεργεί σε αυτό είναι ($V_m - E_{\text{Na}^+}$) είναι -100 mV .

Συνεπώς η ποσότητα των ιόντων νατρίου, δηλαδή το ρεύμα νατρίου, που διασχίζει την μεμβράνη αμέσως μετά την εκπόλωσή της προκειμένου να υπάρξει το δυναμικό ενέργειας είναι πολύ μικρή και ανέρχεται κατά προσέγγιση σε 600 κατιόντα νατρίου ανά μm^2 .

Δηλαδή εφ' όσον η κυτταροπλασματική μεμβράνη ενός τυπικού μέσου νευρώνα έχει εμβαδό περί τα $2000 \mu\text{m}^2$ συνεπάγεται ότι το συνολικό ρεύμα νατρίου είναι ίσο προς $6 \times 100 \times 2000 \text{ Na}^+/\mu\text{sec} = 1.200.000 \text{ Na}^+/\mu\text{sec}$. Άρα, κατ' αρχάς, η οντότητα αυτή καθαυτή του ρεύματος νατρίου είναι εξαιρετικά μικρή, προκειμένου να υπάρξει η νευρωνική ενεργοποίηση.

Οι αριθμοί των εισερχόμενων ιόντων νατρίου είναι θεαματικά μικροί εν σχέσει π.χ με φυσικές σταθερές, όπως ο αριθμός του Avogadro.

Συνεπώς η διακίνηση ιόντων του νατρίου σε τόσους μικρούς αριθμούς αρκεί να ενεργοποιήσει το δυναμικό ενέργειας και να δώσει έναρξη σε κυτταρικά φαινόμενα μεταφοράς πληροφορίας, όπως επίσης και κίνησης.

Όλα τα φαινόμενα κίνησης του οργανισμού, αλλά και εν γένει όλα τα φαινόμενα ανταλλαγής πληροφορίας από κύτταρο σε κύτταρο βασίζονται στην ενεργοποίηση των μεμβρανών τους, για την οποία η διακίνηση των κατιόντων νατρίου είναι θεμελιώδους σημασίας.

Εξυπακούεται ότι τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία που προσκρούουν στο κύτταρο και το διαπερνούν μπορούν να ασκήσουν σημαντικές δυνάμεις επάνω στα φαινόμενα διακίνησης ιόντων και στην κυτταρική εν γένει λειτουργία, μέσω των επιδράσεων της ηλεκτρομαγνητικής επαγωγής.

Ο Κύκλος του Hodgkin

Οι Hodgkin & Huxley έδειξαν – μεταξύ των άλλων – στα πειράματά τους ότι υποβάλλοντας την κυτταρική μεμβράνη σε απότομες μεταβολές δυναμικού το πλάτος της κορυφής του αρχικού ρεύματος εισροής εξαρτάται από την τιμή του δυναμικού διέγερσης (V_m). Όπως φαίνεται από το σχήμα το μέγιστο του ρεύματος αυξάνεται σταδιακά αλλά κατόπιν μειώνεται, καθώς το δυναμικό παίρνει θετικές τιμές.

Θεωρώντας ως βάση της εκτίμησής μας την εξίσωση του ρεύματος νατρίου $I_{Na^+} = g_{Na^+} (V_m - E_{Na^+})$ μπορούμε να αντιληφθούμε την μείωση. Καθώς το V_m προσεγγίζει το δυναμικό E_{Na^+} , στο οποίο το νάτριο βρίσκεται σε ηλεκτροχημική ισορροπία – που προσεγγίζει τα +55 mV, το I_{Na^+} τείνει προς το μηδέν. Συνεπώς, όσο περισσότερο το κύτταρο θετικοποιείται από την είσοδο των κατιόντων νατρίου, τόσο περισσότερο το αρχικό ρεύμα εισόδου περιορίζεται, καθόσον η θετική φόρτιση του κυττάρου ενεργεί ενάντια στην είσοδο και άλλων θετικών φορτίων. Αυτό συμβαίνει παρά το γεγονός ότι η διαμεμβρανική αγωγιμότητα των κατιόντων νατρίου g_{Na^+} είναι ακόμη αρκετά υψηλή, οπότε μπορούμε να κατανοήσουμε ότι το θετικό πεδίο αποτελεί την τροχοπέδη εισόδου του νατρίου και συνεπώς τον μειωτή του αντίστοιχου ρεύματος. Έτσι βλέπουμε την μεταβολή της αγωγιμότητας του νατρίου σε σχέση με διαφορετικές τιμές ισχύος του ερεθισμού. Οι τιμές της αγωγιμότητας του νατρίου στο παρατιθέμενο σχήμα υπολογίστηκαν μέσω της εξίσωσης του ρεύματος εισροής του εν λόγω κατιόντος:

$$I_{Na^+} = g_{Na^+} (V_m - E_{Na^+})$$

Βλέπουμε την αγωγιμότητα g_{Na^+} να αυξάνεται με σιγμοειδή καμπύλη εν σχέσει προς την εκπόλωση μετρούμενη σε mV. *Η μέγιστη τιμή της αγωγιμότητας επιτυγχάνεται σε μια τιμή εκπόλωσης της μεμβράνης κατά 100 mV.*

Συνεπώς η αύξηση της αγωγιμότητας που παρατηρείται ενώ πραγματοποιείται η εκπόλωση αποτελεί την βάση της αναγεννητικής διαδικασίας που είναι αναγκαία για την παραγωγή ενός δυναμικού ενέργειας του τύπου «Όλα ή Ουδέν».

Όταν η κυτταρική μεμβράνη αφεθεί να αντιδράσει ακωλύτως σε έναν ερεθισμό, χωρίς την εφαρμογή του ελέγχου παγιδευτή τάσεως, όπως παρουσιάζεται, τότε δημιουργείται μια αύξηση στην g_{Na^+} , από το εκπολωτικό ερέθισμα, η οποία επιτρέπει στο νάτριο να διέλθει δια της μεμβράνης, με κατεύθυνση το εσωτερικό του κυττάρου, μεταφέροντας το θετικό του φορτίο και προκαλώντας μια περαιτέρω εκπόλωση, οφειλόμενη στην είσοδο του νατρίου, η οποία οδηγεί σε περαιτέρω αύξηση της αγωγιμότητας της μεμβράνης προς το νάτριο. Η κατάσταση αυτή αποτελεί ένα θετικό επανατροφοδοτικό κύκλωμα (θετικό feedback) για την διέλευση του νατρίου. *Η κυκλική αυτή συνάρτηση μεταξύ αγωγιμότητας του νατρίου και μεμβρανικού δυναμικού έχει ονομαστεί ιστορικά κύκλος του Hodgkin.*

Ο κύκλος του **Hodgkin** αποτελεί ένα ιδιαίτερα σημαντικό παράδειγμα ενός θετικού επανατροφοδοτικού συστήματος στα βιολογικά όντα με ευκαρυωτική κυτταρική δομή, και συνεπώς είναι ένας οικουμενικός μηχανισμός για κάθε είδους διεγέρσιμου ζωικού κυττάρου. Ο κύκλος του Hodgkin αποτελεί το υπόδειγμα ενός βιολογικού μηχανισμού ο οποίος χαρακτηρίζεται από μια ενδογενή αστάθεια και εκρηκτική φύση. Η εκρηκτικότητα αυτή παρατηρείται γενικότερα στους λεγόμενους «καταρράκτες» βιολογικών φαινομένων. Ειδικότερα στην νόσο σημειώνεται ότι πολλές καταστάσεις, που οδηγούν σε θάνατο ενός βιολογικού συστήματος, εξαρτώνται από την απώλεια ελεγχόμενης εξέλιξης των θετικών επανατροφοδοτήσεων. Πολλές φορές σε τέτοιες περιπτώσεις είναι απαραίτητη η ανθρώπινη παρέμβαση μέσω μιας τεχνολογίας, ή κάποιων συγκεκριμένων ουσιών, ώστε να διακοπεί ο ανεξέλεγκτος φαύλος κύκλος και η μοιραία διολίσθηση του συστήματος προς τον θάνατο. Π.χ η τεχνική της παγίδευσης τάσης εγκλωβίζει τον κύκλο του Hodgkin.

Η ταχύτητα του ανερχόμενου τμήματος του ενεργού δυναμικού οφείλεται κατά ένα ποσοστό στην εκρηκτική αναγεννητική (ανατροφοδοτική ή αυτοδιατηρούμενη) φύση του κύκλου του Hodgkin. Ωστόσο το ύψος του δυναμικού είναι προκαθορισμένο λόγω της εξαρτήσεώς του από την ηλεκτρεγερτική δύναμη $V_m - E_{Na^+}$. Συνεπώς παρά το γεγονός ότι υπάρχει μια ισχυρή επανατροφοδοτική σχέση μεταξύ της εκπόλωσης και της αύξησεως της διαμεμβρανικής αγωγιμότητας του κατιόντος νατρίου, είναι πρόδηλο ότι το ενεργό δυναμικό δεν μπορεί να υπερβεί το δυναμικό ισορροπίας του νατρίου.

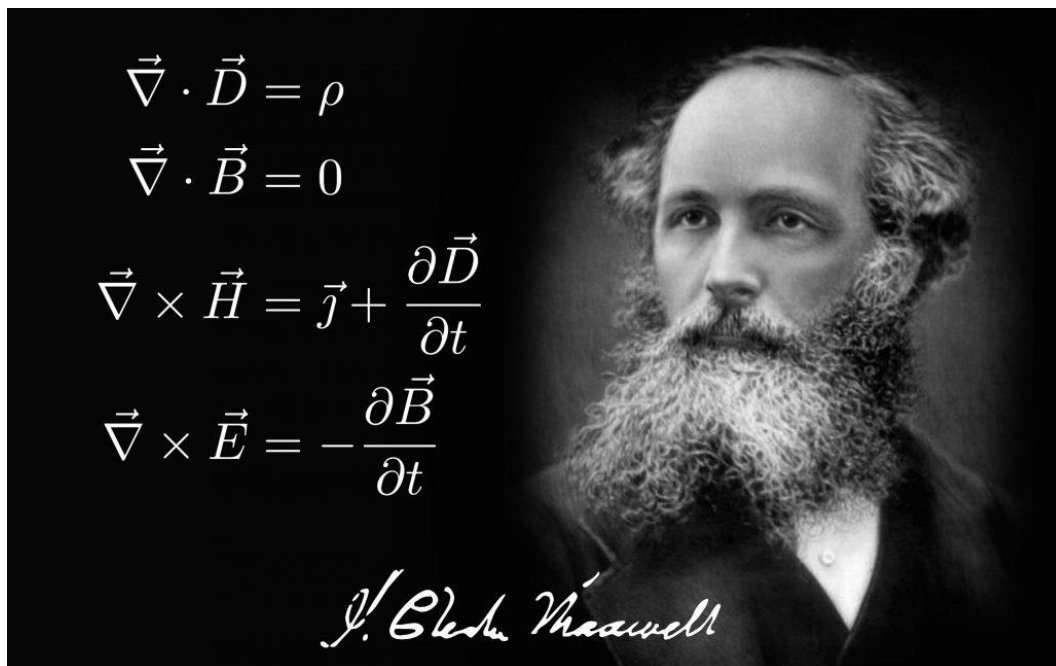
Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι δεν υπάρχει διχοστασία και αντίφαση εκ του γεγονότος ότι η εκπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης μπορεί να προκύψει τόσο από την εισχώρηση ρεύματος κατιόντων διερχομένων από τους διαύλους του νατρίου, όσο και από την αποχώρηση ενός ηλεκτρικού ρεύματος από το εσωτερικό του κυττάρου. Αυτή είναι μια φαινομενική αντίφαση η οποία αίρεται υπογραμμίζοντας ότι και στις δύο αυτές περιπτώσεις η εκπόλωση προκαλείται από την αύξηση του θετικού φορτίου στο εσωτερικό του κυττάρου, είτε αυτή γίνεται διά προσθήκης κατιόντων, είτε δι' απώλειας ενδογενών ανιόντων. Στην πρώτη περίπτωση το θετικό φορτίο προστίθεται στο κύτταρο με την είσοδο των κατιόντων νατρίου. Στην δεύτερη περίπτωση το θετικό ρεύμα προστίθεται μέσω ενός ηλεκτροδίου το οποίο τοποθετήθηκε στο εσωτερικό του κυττάρου, οπότε μειώνει την εσωτερική αρνητική φόρτιση. Επίσης μπορεί να προκύψει από μια γειτονική διεγερμένη περιοχή, η οποία προκαλεί μια «κυλιόμενη» απαγωγή φορτίων εκτός του κυττάρου, μέσω της διεγειρόμενης τοπικά μεμβράνης.

Πίνακας X: Κύρια, μη συναπτικά ιοντικά κανάλια απαντώμενα σε διεγερσιμες μεμβράνες

Κανάλι (διάλυτος)	Ρεύμα	Χαρακτηριστικά	Αναστολέας	Λειτουργία
Κανάλι νατρίου	I_{Na}	Ταχεία ενεργοποίηση μέσω εκπόλωσης ακολουθούμενη από τασεο-εξαρτώμενη απενεργοποίηση	Τετροδοτοξίνη (TTX)	Δημιουργία ρεύματος αιφνίδιας ανοδικής μετατόπισης ενεργού δυναμικού – μετάδοση ώσης
Κανάλι καλίου	$I_K(V)$	Καθυστερημένη ενεργοποίηση βάσει εκπόλωσης – ανενεργοποίηση βραδεία μη πλήρης από σταθερή εκπόλωση	1) Ενδο – και έξωκυτταρικό τετρααιθυλαμμώνιο (TEA) 2) Αμινοπυριδίνη	Ταχεία επαναπόλωση προς τερματισμό του δυναμικού ενέργειας.
Κανάλι Καλίου Αρχικό και Παροδικό	$I_K(A)$	Ταχεία ενεργοποίηση κατά την εκπόλωση ακολουθούμενη από ανενεργοποίηση από χαμηλά δυναμικά ισορροπίας	Αμινοπυριδίνη	Ελαττώνει το ενδεχόμενο δημιουργίας διέγερσης κατά το τέλος υπερπολωτικών ανασταλτικών δυναμικών
Κανάλι Καλίου Ισορροπίας	I_K (διαρροή)	Υπεύθυνο για την διαρροή καλίου από κύτταρο σε κατάσταση ισορροπίας	Μερικώς από TEA	Υπεύθυνο κυρίως για το δυναμικό ηρεμίας
Ασβέστιο εξαρτώμενο κανάλι καλίου	$I_K(Ca)$	Ενεργοποιείται από το ενδοκυττάριο ελεύθερο ασβέστιο. Παραμένει ενεργοποιημένο μέχρι να μειωθεί το ενδοκυττάριο ασβέστιο. Η ενεργοποίηση από το Ca αυξάνει με την εκπόλωση	Εξωκυτταρικό Τετρααιθυλαμμώνιο (TEA)	Επαναπόλωση του δυναμικού ενεργείας του ασβεστίου, δημιουργία ρεύματος προς τα έξω για εξισορρόπηση ρεύματος ασβεστίου προς τα μέσα, με περιορισμό της εκπόλωσης που προκαλείται από το I_{Ca}
Κανάλι ασβεστίου I_{Ca}	I_{Ca}	Ενεργοποίηση βραδύτερου διαύλου μέσω εκπόλωσης και χαμηλότερης αγωγιμότητας από αυτήν του διαύλου νατρίου – απενεργοποιείται σε συνάρτηση την $[Ca^{2+}]$ και του μεμβρανικού δυναμικού	Βεραπαμίλη, D600, Co^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} , La^{3+}	Εκπολώσεις βραδέος ρυθμού. Το ιόν Ca^{2+} λειτουργεί ως μηνυματοφόρο ιόν (διαβιβαστής 2 ^{ου} τύπου) στο εσωτερικό του κυττάρου

ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΑ ΠΕΔΙΑ ΚΑΙ ΚΥΜΑΤΑ

Ιστορικά ο Σκωτσέζος φυσικός James Clerk Maxwell θεωρητικά για πρώτη φορά διατύπωσε ένα σύνολο διαφορικών εξισώσεων, οι οποίες σε συνδυασμό με τον νόμο της δύναμη Lorentz, αποτελούν την βάση μια μεγάλης περιοχής της Φυσικής συνδέοντας, την κλασσική ηλεκτροδυναμική, την κλασσική οπτική και την φυσική των ηλεκτρικών κυκλωμάτων. Με τον τρόπο αυτό έθεσε τις βάσεις μιας μεγάλης ενοποίησης στην φυσική. Οι απόψεις του συγκεκριμένου επιστήμονα ερμηνεύουν ένα ευρύ σύνολο φαινομένων, αλλά εμφανίζουν ατέλειες στην περιοχή του κβαντικού επιπέδου του φυσικού κόσμου. Πρέπει ωστόσο να σημειώσουμε ότι ένα μεγάλο σύνολο ηλεκτρικών και επικοινωνιακών τεχνολογιών βασίζονται στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία και στις θεωρητικές κατασκευές του Maxwell, όπως αυτές συμπυκνώνονται στις εξισώσεις του. Οι διαφορικές αυτές εξισώσεις δημοσιεύτηκαν διαδοχικά μεταξύ του 1861 και του 1862 λαμβάνοντας το όνομά του, ενώ είναι πασίγνωστες σε όλο τον φυσικό κόσμο.



James Clerk Maxwell

Ο Maxwell διατύπωσε τέσσερις εξισώσεις οι οποίες υπήρξαν σημαντικές για την εξέλιξη της ηλεκτροδυναμικής (Clerk Maxwell James, 1865, Maxwell, J.C 1873., Hazewinkel, Michiel, Ed (2001).

Οι τέσσερις εξισώσεις του Μάξγουελ περιγράφουν, κατά την σειρά της διαδοχής τους τα εξής:

1^{ον}) ότι τα ηλεκτρικά φορτία παράγουν ηλεκτρικά πεδία (Νόμος του Gauss),

2^{ον}) την πειραματική απουσία μαγνητικών μονοπόλων,

3^{ον}) ότι τα ηλεκτρικά ρεύματα και τα μεταβαλλόμενα ηλεκτρικά πεδία παράγουν μαγνητικά πεδία (Νόμος των Ampere και Maxwell) και το πως η μεταβολή ενός μαγνητικού πεδίου παράγει ηλεκτρικά πεδία (Νόμος του Φάραντεϊ για την επαγωγή) (Clerk Maxwell James, 1865, Maxwell, J.C 1873.1^{ος} και 2^{ος} τόμος, Hazewinkel, Michiel, Ed (2001).

Οι εξισώσεις αυτές επιβεβαιώθηκαν κατόπιν από τον Heinrich Hertz.

Ο Maxwell δημιούργησε έναν ηλεκτρομαγνητικό τύπο από τις εξισώσεις του ηλεκτρικού και του μαγνητικού πεδίου, δείχνοντας έτσι την κυματική φύση τους, καθώς και τη συμμετρικότητά τους.

Επειδή η ταχύτητα των ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων προβλέπεται από την εξίσωση της κυματικής που συμπίπτει με τη μετρούμενη ταχύτητα του φωτός, ο Maxwell κατέληξε στο συμπέρασμα ότι το ίδιο το φως είναι ένα ηλεκτρομαγνητικό κύμα.

Οι εξισώσεις του Maxwell είναι διαφορικές εξισώσεις που συνδέουν τα ηλεκτρικά και μαγνητικά πεδία μεταξύ τους όπως επίσης με τα ηλεκτρικά φορτία και ρεύματα. Συμβαίνει αρκετές φορές τα ηλεκτρικά ρεύματα να συναρτώνται από τα ηλεκτρικά και μαγνητικά πεδία, μέσω της εξίσωσης της δύναμης του Lorentz και των καταστατικών εξισώσεων.

Όλα αυτά αποτελούν ένα σύνολο συζευγμένων μερικών διαφορικών εξισώσεων, οι οποίες αρκετές φορές είναι πολύ δύσκολο να επιλυθούν.

Επί του πρακτέου, οι λύσεις των εξισώσεων αυτών περιλαμβάνουν ουσιαστικά όλα τα ποικίλα φαινόμενα σε ολόκληρο το πεδίο του κλασικού ηλεκτρομαγνητισμού. Η διεξοδική συζήτηση αυτού του θέματος εκφεύγει από τα όρια της παρούσας διατριβής.

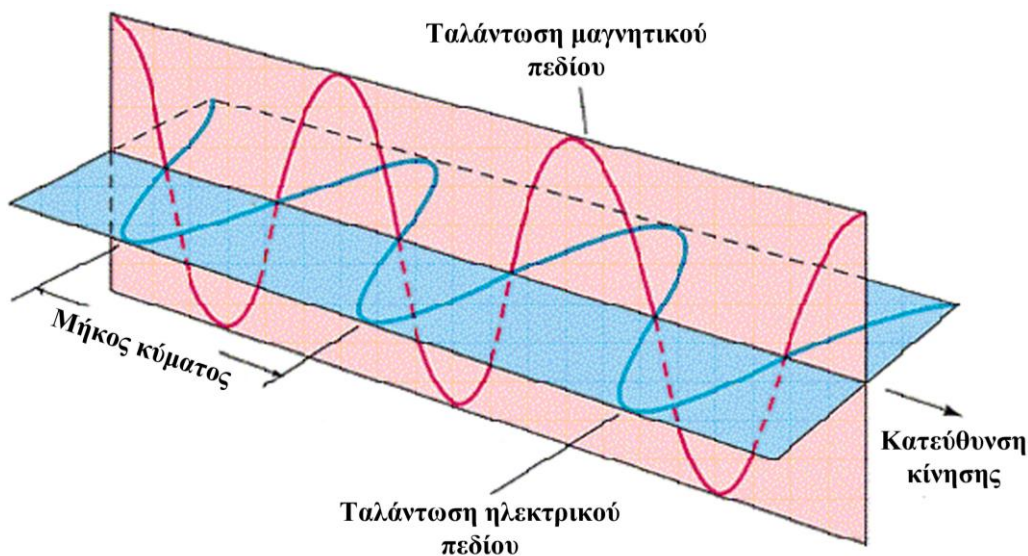
Σύμφωνα με τις εξισώσεις του Maxwell, ένα χωρικά-μεταβαλλόμενο ηλεκτρικό πεδίο δημιουργεί ένα χρονικά-μεταβαλλόμενο μαγνητικό πεδίο και το αντίστροφο. Βέβαια δεν ισχύει το ίδιο για ένα στατικό ηλεκτρικό πεδίο, όπως και για ένα στατικό μαγνητικό πεδίο. Βάσει των εξισώσεων αυτών ένα ταλαντούμενο ηλεκτρικό πεδίο δημιουργεί ένα ταλαντούμενο μαγνητικό πεδίο, το μαγνητικό πεδίο με τη σειρά του δημιουργεί ένα ταλαντούμενο ηλεκτρικό πεδίο και αυτό επαναλαμβάνεται συνεχώς.

Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία είναι ένα εγκάρσιο κύμα με την έννοια ότι οι ταλαντώσεις των κυμάτων είναι κάθετες στην κατεύθυνση της μεταφοράς ενέργειας και της κίνησης. Στο σημείο αυτό πρέπει να υπογραμμίσουμε ότι μια σημαντική ιδιότητα των ακτίνων του φωτός είναι η συχνότητά τους. Η συχνότητα ενός κύματος είναι ο ρυθμός ταλάντωσής του και μετριέται σε hertz, σύμφωνα με το διεθνές σύστημα μετρήσεων (SI), όπου ένα hertz είναι ίσο με μια ταλάντωση ανά δευτερόλεπτο. Διαφορετικές συχνότητες υφίστανται σε διαφορετικές γωνίες διαθλάσεως.

Ένα κύμα αποτελείται από διαδοχικές κορυφές (crests) και κατώτατα σημεία (troughs) και η απόσταση μεταξύ δύο γειτονικών κορυφών ή κατωτάτων σημείων ονομάζεται μήκος κύματος (wavelength). Τα κύματα του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος διαφέρουν πολύ σε μέγεθος. Για παράδειγμα, στα πολύ υψηλά ραδιοκύματα το μέγεθος του κύματος αντιστοιχεί με το μέγεθος ενός κτιρίου, ενώ στις πολύ χαμηλές ακτίνες γ το μέγεθος είναι μικρότερο από τον πυρήνα ενός ατόμου. Η συχνότητα είναι αντιστρόφως ανάλογη του μήκους κύματος, σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση:

$f = v / \lambda$ (1) όπου v είναι η ταχύτητα του κύματος, f είναι η συχνότητα και λ το μήκος κύματος.

Ένας κανόνας που ισχύει ανεξάρτητα από τις περιστάσεις: Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία στο κενό ταξιδεύει πάντα με την ταχύτητα του φωτός ($c=299,792.458$ m/s), σε σχέση με τον παρατηρητή, ανεξάρτητα από την ταχύτητα του παρατηρητή (αυτή η παρατήρηση οδήγησε τον Albert Einstein να αναπτύξει τη θεωρία της σχετικότητας).



Τα ηλεκτρομαγνητικά κύματα παράγονται από κινούμενα ηλεκτρικά φορτία. Δημιουργούνται ακόμη όταν ένα ηλεκτρόνιο κάποιου ατόμου κινούμενο σε μια συγκεκριμένη τροχιά – εκτός της χαμηλότερης – μεταπίπτει σε χαμηλότερη τροχιά, ενώ ταυτοχρόνως εκπέμπει ενέργεια με την μορφή ενός φωτονίου. Έτσι αποκτά μια χαμηλότερη ενεργειακή στάθμη και πλησιάζει περισσότερο τον πυρήνα.

Αυτό έχει ως συνέπεια να δημιουργηθεί μια ταλάντωση που διαδίδεται πλέον στο χώρο με τη μορφή ενός ταυτόχρονα ηλεκτρικού και μαγνητικού πεδίου.

Ανάλογα με τις καταστάσεις, η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία πιθανόν να συμπεριφέρεται ως κύμα ή ως σωματίδια. Όταν εμφανίζεται ως κύμα διαδίδεται με την ταχύτητα του φωτός και εμφανίζει ταυτοχρόνως τα χαρακτηριστικά του μήκους κύματος και της συχνότητας των εναλλαγών του. Όταν όμως η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία θεωρείται ως σωματίδια, που είναι γνωστά ως φωτόνια, καθένα από αυτά έχει μια ενέργεια σχετική με τη συχνότητα του κύματος.

Επειδή η ενέργεια ενός ηλεκτρομαγνητικού πεδίου είναι κβαντισμένη, στο μοντέλο των σωματιδίων της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, ένα κύμα αποτελείται από πακέτα ενέργειας, ή κβάντα, που ονομάζονται φωτόνια (Weinberg 1995). Επειδή τα φωτόνια εκπέμπονται και απορροφώνται από φορτισμένα σωματίδια, αυτά δρουν ως μεταφορείς της ενέργειας. Η ενέργεια ανά φωτόνιο μπορεί να υπολογισθεί από την εξίσωση των Planck-Einstein:

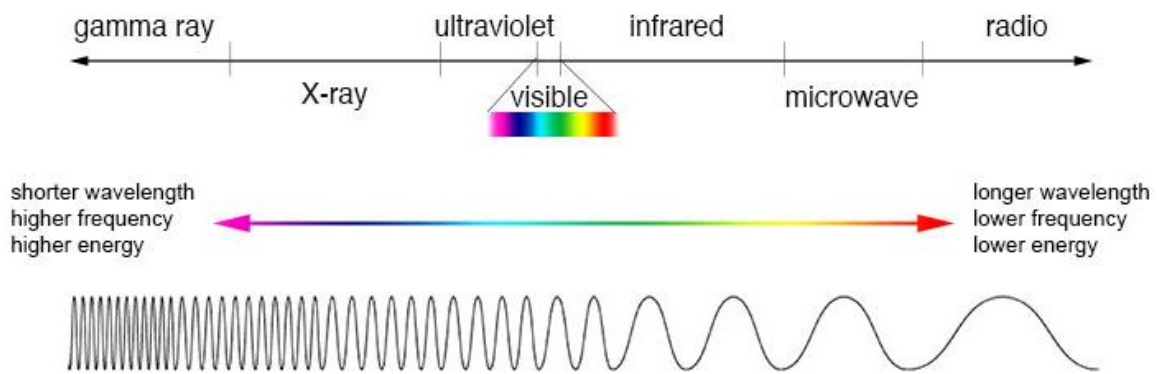
$$E = h \cdot f \tag{2}$$

όπου E είναι η ενέργεια, h είναι η σταθερά του Planck h , και η τιμή της είναι $h=6.626068 \times 10^{-34} \text{ m}^2 \text{ kg/s}$ και f η συχνότητα (Paul and Monk 2004). Η ενέργεια συνήθως εκφράζεται σε ηλεκτρονιοβόλτ (eV).

Καθώς ένα φωτόνιο απορροφάται από ένα άτομο, αυτό διεγείρει το άτομο, ανυψώνοντας ένα ηλεκτρόνιο σε μια υψηλότερη ενεργειακή στιβάδα. Εάν αυτή η ενέργεια είναι υπερβολικά μεγάλη, έτσι ώστε το ηλεκτρόνιο να μεταβεί σε πολύ υψηλότερη ενεργειακή στιβάδα, πιθανόν να διαφύγει την θετική έλξη που προκαλεί ο πυρήνας και να απελευθερωθεί από το άτομο με μια διαδικασία που ονομάζεται φωτοϊονισμός

Αντιστρόφως, ένα ηλεκτρόνιο που πέφτει σε μια στιβάδα μικρότερης ενέργειας σε ένα άτομο εκπέμπει ένα φωτόνιο με ενέργεια ίση με τη διαφορά ενέργειας μεταξύ των δύο στιβάδων. Τα ενεργειακά επίπεδα των ηλεκτρονίων σε ένα άτομο είναι διακριτά, και έτσι κάθε στοιχείο εκπέμπει και απορροφά στις δικές του χαρακτηριστικές συχνότητες.

Από κοινού, αυτά τα αποτελέσματα εξηγούν την εκπομπή και την απορρόφηση των φασμάτων του φωτός. Οι σκουρόχρωμες περιοχές στο φάσμα της απορρόφησης εμφανίζονται λόγω του ότι τα άτομα που παρεμβαίνουν στο μέσο απορροφούν διαφορετικές συχνότητες φωτός. Η σύνθεση του μέσου στο οποίο το φως ταξιδεύει προσδιορίζει και την φύση του φάσματος απορρόφησης. Για παράδειγμα, οι σκουρόχρωμες περιοχές στο φως που εκπέμπεται από ένα μακρινό αστέρι οφείλονται σε άτομα στην ατμόσφαιρα του αστεριού. Αυτές οι περιοχές αντιστοιχούν στα επιτρεπτά ενεργειακά επίπεδα των ατόμων. Ένα παρόμοιο φαινόμενο συντελείται και στην εκπομπή. Καθώς τα ηλεκτρόνια κατεβαίνουν σε χαμηλότερες ενεργειακές στιβάδες, το φάσμα που εκπέμπεται αντιπροσωπεύει τις μεταβάσεις ανάμεσα στις ενεργειακές στιβάδες των ηλεκτρονίων. Αυτό εκδηλώνεται στο εκπεμπόμενο φάσμα των νεφελωμάτων. Σήμερα, οι επιστήμονες χρησιμοποιούν αυτό το φαινόμενο για να παρατηρήσουν από ποια στοιχεία αποτελούνται ορισμένα άστρα. Επίσης χρησιμοποιείται στον προσδιορισμό της απόστασης των αστέρων, χρησιμοποιώντας την μετατόπιση του κόκκινου χρώματος.



Εικόνα: Μια σχηματική παράσταση του φάσματος των ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων – στο δεξιό άκρο μετά την περιοχή του ορατού φωτός (visible) ανήκουν τα ηλεκτρομαγνητικά κύματα του υπέρυθρου των μικροκυμάτων καθώς και τα ραδιοκύματα. Στο αριστερό άκρο ανήκουν τα υπεριώδη ηλεκτρομαγνητικά κύματα, οι ακτίνες X και οι ακτίνες γάμα.

Συνοπτικά τα κύρια μεγέθη που χαρακτηρίζουν τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία είναι:

A) Το μήκος κύματος (λ), που αντιστοιχεί στην απόσταση σε μέτρα m την οποία το κάθε κύμα διανύει σε έναν πλήρη κύκλο εναλλαγής αυτού.

B) Η συχνότητα (ν) δηλαδή τον αριθμό των πλήρων εναλλαγών ανά δευτερόλεπτο που μετράται σε Hertz (Hz), δηλαδή κύκλοι ανά sec.

Στα ηλεκτρομαγνητικά κύματα τόσο το μήκος κύματος (λ) όσο η συχνότητα (ν) αυτών συνδέονται με την ταχύτητα του φωτός στο κενό ($C \approx 299.792,458 \text{ km/sec}$. km/sec) μέσω της εξίσωσης 1) ($f = \nu/\lambda$).

Για παράδειγμα η συχνότητα (ν) του συνήθους ηλεκτρικού ρεύματος του δικτύου της ΔΕΗ είναι 50 εναλλαγές ή κύκλοι ανά δευτερόλεπτο ή 50 Hz ενώ το μήκος κύματος (λ) είναι 6.000 χλμ (Km).

Άλλα χαρακτηριστικά μεγέθη των Ηλεκτρομαγνητικών πεδίων είναι:

- 1) Η ένταση του Ηλεκτρικού Πεδίου E σε V/m^2
- 2) Η ένταση του Μαγνητικού Πεδίου H σε Ampere/m ή A/m
- 3) Η ένταση του ηλεκτρικού ρεύματος I σε Amperes ή A.
- 4) Η πυκνότητα έντασης του ηλεκτρικού ρεύματος σε A/m^2 (amperes ανά τετραγωνικό μέτρο)
- 5) Η ηλεκτρική τάση σε volts ή V.
- 6) Η πυκνότητα της έντασης του Μαγνητικού Πεδίου B σε: α) Gauss G, ή β) Tesla, T που σχετίζονται με την εξίσωση μετατροπής $1T = 10.000 \text{ G}$ και $1 \text{ G} = 80 \text{ A/m}$.
- 7) Η ισχύς N σε Watt (W)
- 8) Η πυκνότητα ισχύος P ή S σε $/m^2$.

Το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα

Το ηλεκτρικό φάσμα είναι μια διαχρονική καταγραφή και ταξινόμηση, εκ μέρους των φυσικών, των ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων ανάλογα με τις συχνότητές τους. Συνεπώς ως ηλεκτρομαγνητικό φάσμα ονομάζεται το εύρος της περιοχής συχνοτήτων που καλύπτουν τα ηλεκτρομαγνητικά κύματα.

Η έκταση του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος ξεκινά από πολύ μικρές συχνότητες, πλησίον του μηδενός και θεωρητικά εκτείνεται έως το άπειρο. Βεβαίως τα μεγαλύτερης συχνότητας ηλεκτρομαγνητικά κύματα που έχουν ανιχνευτεί είναι αυτά των ακτίνων γάμα, που προέρχονται από άστρα με έντονη πυρηνική δραστηριότητα. Έχοντας ως κριτήριο ορισμένες χαρακτηριστικές ιδιότητες των ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων (ένταση και μήκος κύματος) το ηλεκτρομαγνητικό φάσμα χαρακτηρίστηκε από μια σειρά ζωνών συχνοτήτων επιμέρους ή περιοχών αυτού.

Οι εν λόγω περιοχές αναλυτικά και σε συνάρτηση με την διαρκώς αυξανόμενη συχνότητα είναι οι ακόλουθες: τα ραδιοκύματα, τα μικροκύματα, η υπέρυθη ακτινοβολία, η ορατή ακτινοβολία (φως, που γίνεται αντιληπτή από το αισθητήριο της όρασης), η υπεριώδης ακτινοβολία, οι ακτίνες X και οι ακτίνες γ, οι οποίες αποτελούν πολύ ισχυρές ακτινοβολίες. Στις κατωτέρω σελίδες γίνεται μια συνοπτική περιγραφή των χαρακτηριστικών των διαφόρων περιοχών του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος:

Ραδιοκύματα

Τα ραδιοκύματα χαρακτηρίζονται από χαμηλές συχνότητες περικλειόμενες μεταξύ 0 Hz έως 300MHz. Η ενέργεια των φωτονίων τους είναι πολύ χαμηλή προσεγγίζοντας μέχρι τα 10^{-5} eV. Στο επίγειο περιβάλλον παράγονται κατά κύριο λόγο από τεχνητές κεραίες κατασκευασμένες από τον άνθρωπο, ή από φυσικά παλλόμενα δίπολα. Χωρίζονται σε επιμέρους κατηγορίες με βάση την συχνότητα τους ή αντιστοίχως με βάση το μήκος κύματός τους. Η ζώνη των ραδιοκυμάτων η χαρακτηριζόμενη από τις χαμηλότερες συχνότητες είναι αυτή των βιομηχανικών κυμάτων, ακολουθούν τα μακρά, τα βραχέα ενώ η υψηλότερη περιοχή συχνοτήτων είναι η των υπερβραχέων. Χρησιμοποιούνται πολύ εκτεταμένα στις ραδιοφωνικές και τηλεοπτικές εφαρμογές, στις τηλεπικοινωνίες, στην ραδιοσήμανση, καθώς και στην ραδιοαστρονομία.

Μικροκύματα

Τα μικροκύματα αποτελούν επίσης τμήμα της ηλεκτρομαγνητικής ζώνης των ραδιοκυμάτων καθόσον παράγονται από κεραίες. Οι εφαρμογές τους είναι εκτεταμένες γενικά στις τηλεπικοινωνίες. Ωστόσο παρουσιάζουν κάποιες σημαντικές διαφορετικές ιδιότητες από τα υπόλοιπα ραδιοκύματα, εξ αιτίας της υψηλότερης ενέργειας των

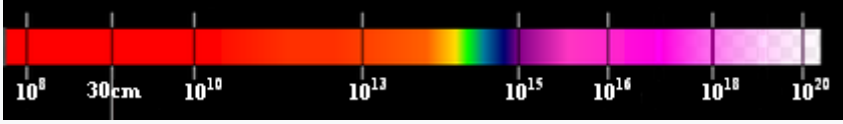
φωτονίων τους. Τα μικροκύματα καλύπτουν περιοχή συχνοτήτων από 300MHz -300GHz και η ενέργεια των φωτονίων τους κυμαίνεται από 10^{-5} - 10^{-3} eV. Διακρίνουμε στα μικροκύματα τρεις ζώνες. Την ζώνη των δεκατομετρικών μικροκυμάτων ή UHF, στην ζώνη των εκατοστομετρικών μικροκυμάτων ή SHF και στην ζώνη των χιλιοστομετρικών μικροκυμάτων EHF.

Υπέρυθρη ακτινοβολία

Η υπέρυθρη ακτινοβολία καταλαμβάνει την συγκεκριμένη περιοχή συχνοτήτων που εκτείνεται από τα 300GHz έως 400THz, ενώ η ενέργεια των φωτονίων της κυμαίνεται από 10^{-3} – 1.6 eV. Η υπέρυθρη ακτινοβολία εκπέμπεται από όλα τα φυσικά σώματα λόγω του περιεχομένου τους σε θερμότητα. Οι εφαρμογές της στην τεχνολογία είναι ευρείες. Π.χ οι υπέρυθρες ακτίνες χρησιμοποιούνται στα οπτικά ηλεκτρονικά μέσα όπως στα συστήματα ανάγνωσης των συμπαγών δίσκων (CD players), στις ηλεκτρονικές επικοινωνίες με οπτικές ίνες αλλά και με ασύρματη εκπομπή υπερύθρων. Πολύ σημαντική εφαρμογή έχει η υπέρυθρη φωτογράφιση και κινηματογράφιση, η οποία βρίσκει πολλαπλές εφαρμογές, όπως στην διαγνωστική, στην τηλεπισκόπηση (π.χ έγκαιρη επισήμανση του κινδύνου ανάφλεξης δασών, λειμώνων, βιομηχανικών εγκαταστάσεων, οπλικών συστημάτων κ.α), στην δασολογία, στην οικολογία, στην γεωργία, στην γεωλογία, στην αρχαιολογία, στην αντοχή των υλικών που καταπονούνται από ισχυρές δυνάμεις, στην κοσμολογία και αλλού.

Ορατό φως

Η περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος που είναι γνωστή ως ορατού φωτός αντιπροσωπεύει μια πολύ στενή μπάνα του συνόλου των ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων που ανευρίσκονται στον γνωστό φυσικό κόσμο. Ορίζουμε ως φως ή ορατό φως εκείνες τις ηλεκτρομαγνητικές ακτινοβολίες, οι οποίες ερεθίζουν το αισθητήριο της όρασης των ζωντανών οργανισμών καλύπτει περιοχή συχνοτήτων 400-800THz και η ενέργεια των φωτονίων κυμαίνεται από 1.6 – 3.2 eV. Το ορατό φάσμα χωρίζεται σε επιμέρους ζώνες τις οποίες το ανθρώπινο μάτι τις αντιλαμβάνεται ως διαφορετικά χρώματα. Υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν ότι κάποια είδη ζώων έχουν οπτικά όργανα που ευαισθητοποιούνται σε ευρύτερη περιοχή από εκείνη του ανθρώπινου οφθαλμού. Μια εικόνα του ορατού φάσματος φαίνεται στην εικόνα αρ. 3



Μερικές ζώνες του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος

Περιοχή του φάσματος	Περιοχή συχνοτήτων	Ενέργεια φωτονίων
Ραδιοκύματα	0-300 MHz	$0-10^{-6}$ eV
Μικροκύματα	300 MHz - 300GHz	$10^{-6} - 10^{-3}$ eV
υπέρυθρη ακτινοβολία	300 GHz - 400THz	$10^{-3} - 1,6$ eV
ορατή ακτινοβολία	400THz-800THz	1,6 - 3,2 eV
υπεριώδης ακτινοβολία	800THz - $3 \cdot 10^{17}$ Hz	3eV - 2000eV
ακτίνες X	$3 \cdot 10^{17}$ Hz - $5 \cdot 10^{19}$ Hz	1200 eV - $2,4 \cdot 10^5$ eV
ακτίνες γ	$5 \cdot 10^{19}$ Hz - $3 \cdot 10^{22}$ Hz	10^5 eV - 10^7 eV
Κοσμικές ακτίνες	$3 \cdot 10^{22}$ Hz -	10^7 eV -

Εικ. Αρ.3. Μερικές ζώνες του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος



Εικ. 4. Παραγωγή έγχρωμων μονοχρωματικών ακτίνων φως οι οποίες παράγονται από κατάλληλες λυχνίες.

Υπεριώδης ακτινοβολία

Η Υπεριώδης ακτινοβολία καταλαμβάνει στο ηλεκτρομαγνητικό φάσμα την περιοχή συχνοτήτων από $800\text{THz} - 3 \times 10^{17} \text{ Hz}$ με αποτέλεσμα η ενέργεια των φωτονίων που την αποτελούν να περιλαμβάνεται μεταξύ $3\text{eV} - 2000\text{eV}$. Η ισχυρή αυτή ακτινοβολία παράγεται από υπέρθερμα φυσικά σώματα, όπως είναι, π.χ, τα αυτόφωτα άστρα – συμπεριλαμβανομένου και του Ηλίου θερμά σώματα. Επίσης παράγεται στις τεχνητές πυρηνικές αντιδράσεις και στις περιπτώσεις δημιουργίας πλάσματος (τέταρτη κατάσταση της ύλης). Η υπεριώδης είναι ακτινοβολία υψηλής ενέργειας και είναι επιβλαβής, έως θανατηφόρα, για πολλά είδη ζωντανών οργανισμών, καθόσον προκαλεί για τα μεν μικρόβια και τα καλλιεργούμενα κύτταρα μοριακή αποσύνθεση και ακαριαίο σχεδόν θάνατο, για τους δε πολυκύτταρους ζωικούς οργανισμούς που δεν έχουν δυνατότητες προσαρμογής σε αυτήν επιδερμικά εγκαύματα και θάνατο. Για τις θανατηφόρες ιδιότητες της υπεριώδους ακτινοβολίας αυτή χρησιμοποιείται για την αποστείρωση χώρων (π.χ δωμάτια

κυτταροκαλλιιεργειών), αλλά και άλλοι ευαίσθητοι χώροι. Μια τυπική κλινική εφαρμογή είναι η αποστείρωση με υπεριώδεις ακτινοβολίες των προθαλάμων εισόδου σε εξειδικευμένες κλινικές νοσοκομείων όπου νοσηλεύονται ασθενείς εξαιρετικά ευαίσθητοι σε λοιμώξεις, όπως οι πάσχοντες από νεοπλασματικές νόσους, οι οποίοι έχουν υποστεί πολύ ισχυρά χημειοθεραπευτικά σχήματα και δεν διαθέτουν πλέον μυελό των οστών για παραγωγή λευκοκυττάρων, προετοιμαζόμενοι για μεταμόσχευση συμβατού οστικού μυελού. Συνήθως για τις ανωτέρω αναφερθείσες εφαρμογές οι υπεριώδεις ακτινοβολίες παράγονται από ειδικές λυχνίες. Είναι σημαντικό να αναφερθεί η χρήση των υπεριωδών ακτινοβολιών στην φασματομετρία υπεριώδους και στην φθορισμομετρία. Πολύ χαρακτηριστικά η έκθεση πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων, όπως το 3,4-βενζοπυρένιο, το μεθυλχολανθρένιο, το χρυσένιο κ.α σε ηλεκτρομαγνητικές ακτινοβολίες μηκών κύματος περιεχομένων εντός του φάσματος των υπεριωδών ακτίνων διεγείρει τα μόρια αυτά, τα οποία σε δεύτερο χρόνο εκπέμπουν χαρακτηριστική ακτινοβολία σε συγκεκριμένα μήκη κύματος χρήσιμα για την αναλυτική χημική ταυτοποίηση των εν λόγω μορίων (φάσματα απορρόφησης στο υπεριώδες και αντίστοιχα φάσματα εκπομπής, σύμφωνα με την δεύτερη συνθήκη του Niels Bohr). Επίσης είναι πολύ σημαντικό να αναφερθεί, λόγω των πλούσιων τεχνολογικών ενεργειακών εφαρμογών, ότι τα στοιχεία της σειράς του Ακτινίου (Ακτινίδες) και του Λανθανίου (Λανθανίδες) όταν εκτεθούν σε υπεριώδες φως διεγείρονται και δίνουν δευτερογενή ακτινοβολία (Kallistratos and Phau). Τα φαινόμενα αυτά χρησιμοποιούνται για την μετατροπή υπεριωδους ακτινοβολίας σε μορφές φωτεινής ενέργειας μεγαλύτερων μηκών κύματος, δηλαδή κείμενων στην περιοχή του ορατού φάσματος.

Ακτινοβολία X

Η ακτινοβολία X εκτείνεται από 3×10^{17} Hz – 5×10^{19} Hz και η ενέργεια των φωτονίων της είναι 1200 eV – 2.4×10^5 eV. Ο πιο συνηθισμένος τρόπος παραγωγής ακτίνων X είναι μέσω της επιτάχυνσης ηλεκτρονίων από δυναμικό τάξης μεγέθους των δεκάδων χιλιάδων βολτ και πρόσπτωσή τους σε στόχο ο οποίος αποτελείται από μεταλλικό υλικό μεγάλου ατομικού αριθμού.

Ακτινοβολία γ

Η ακτινοβολία γ είναι ακτινοβολία εξαιρετικά υψηλής συχνότητας που κυμαίνεται από 5×10^{19} Hz – 3×10^{22} Hz. Οι ενέργειες των φωτονίων της είναι πολύ υψηλές και κυμαίνονται 10^5 eV - 10^7 eV. Λόγω της υψηλής ενέργειας προκαλούν Οι ακτίνες γ παράγονται από ραδιενεργούς πυρήνες και από αστέρια στο διάστημα.

Κοσμική ακτινοβολία

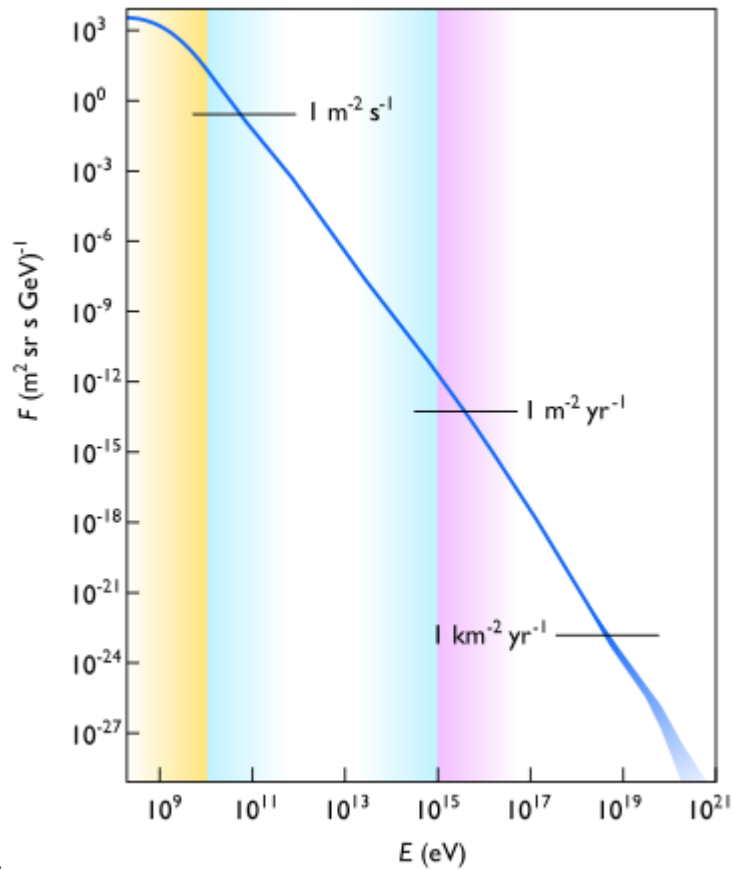
Η κοσμική ακτινοβολία, που αντιπροσωπεύεται από τις λεγόμενες **κοσμικές ακτίνες**, ανήκει στην κατηγορία των ακτινοβολιών που περιλαμβάνουν ταυτοχρόνως ακτίνες σωματιδίων, όπως ατομικών πυρήνων απογυμνωμένων από το ηλεκτρονικό νέφος τους και συνεπώς φορτισμένων θετικά, σωματιδίων άλφα (πυρήνες του στοιχείου Ηλίου), πρωτονίων, αλλά και μικρά ποσοστά ακτίνων γάμα λίαν υψηλών ενεργειών, οι οποίες ανήκουν στις φωτονιακές ακτινοβολίες, καθώς επίσης ηλεκτρόνια και νετρίνα. Τα ποσοστά των εν λόγω σωματιδίων κατά προσέγγιση είναι 87% θετικά φορτισμένοι πυρήνες στοιχείων, ενώ σε μικρότερες ποσότητες ακολουθούν οι πυρήνες του Ηλίου (12%), πολύ μικρότερες ποσότητες βαρύτερων στοιχείων, πρωτονίων και τέλος ακτίνων γάμα και νετρίνων. Η ακτινοβολία αυτή παράγεται μάλλον από καινοφανείς και υπερκαινοφανείς αστέρες, οι οποίοι απελευθερώνουν κολοσσιαίες ποσότητες ενέργειας. Η κοσμική ακτινοβολία έχει μια σύσταση η οποία μοιάζει με την αντίστοιχη που απελευθερώνεται από τον Ήλιο του δικού μας ηλιακού συστήματος. Τα σωματίδια και οι ακτίνες γ της κοσμικής ακτινοβολίας μπορούν να προκαλέσουν δραστικές και ακαριαίες μεταβολές σε όλα τα μόρια που συνθέτουν την ζώσα ύλη. Ένα σωματίδιο της κοσμικής ακτινοβολίας μπορεί να φτάσει σε ενέργεια τα 10^{20} eV. Τα φαινόμενα που παράγουν την κοσμική ακτινοβολία δεν μας είναι εντελώς καθαρά, ενώ καμιά μηχανή επιτάχυνσης σωματιδίων (επιταχυντές) κατασκευασμένη από τον άνθρωπο δεν μπορεί να προσδώσει σε οποιοδήποτε σωματίδιο τόσο μεγάλες ενέργειες (Wulf, Theodor (1910). Anchordoqui L. Et al (2003). Moskowitz, Clara (2009).

Τα αποτελέσματα της κοσμικής ακτινοβολίας είναι σημαντικά επάνω στις γήινες δομές, ξεκινώντας από την στρατόσφαιρα, μέχρι τον στερεό φλοιό της Γης και τους ωκεανούς. Η σύγκρουση των σωματιδίων της κοσμικής ακτινοβολίας με μόρια και άτομα της ατμόσφαιρας προκαλεί συχνά μεταστοιχείωση, με συνοδό παραγωγή ακτίνων γ όπως επίσης και την παραγωγή ιονισμού και ελευθέρων ριζών.

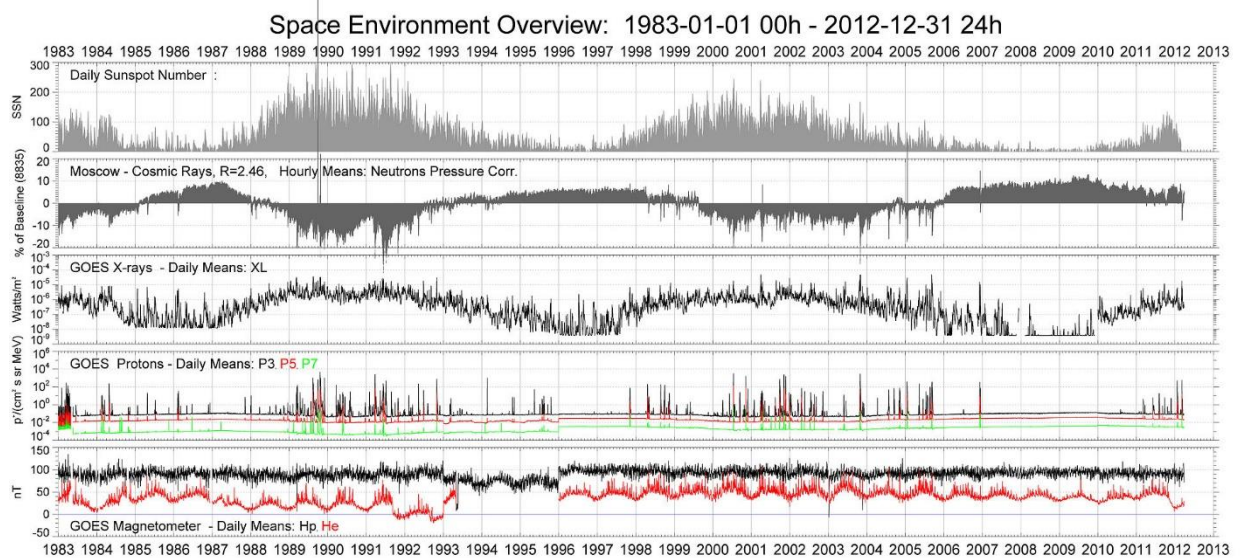
Ο Ήλιος αποτελεί πηγή εκπομπής σωματιδίων προερχόμενων από την διαρκή πυρηνική δραστηριότητα του Ηλίου και αυξάνεται περισσότερο όταν λαμβάνουν χώρα οι ηλιακές εκλάμψεις. Ο λεγόμενος «Ηλιακός άνεμος», όπως επίσης και η κοσμική ακτινοβολία που προέρχεται από τον Γαλαξία απωθείται κατά κύριο λόγο από το μαγνητικό πεδίο της γης. (Reames, Donald V. "The Two Sources of Solar Energetic Particles". *Space Science Reviews*. **175** (1–4): 53–92. doi:10.1007/s11214-013-9958-9. ISSN 0038-6308, Reames D.V.(2017) Reames D.V., *Solar Energetic Particles*, Springer, Berlin, (2017a) ISBN 978-3-319-50870-2, doi: 10.1007/978-3-319-50871-9.



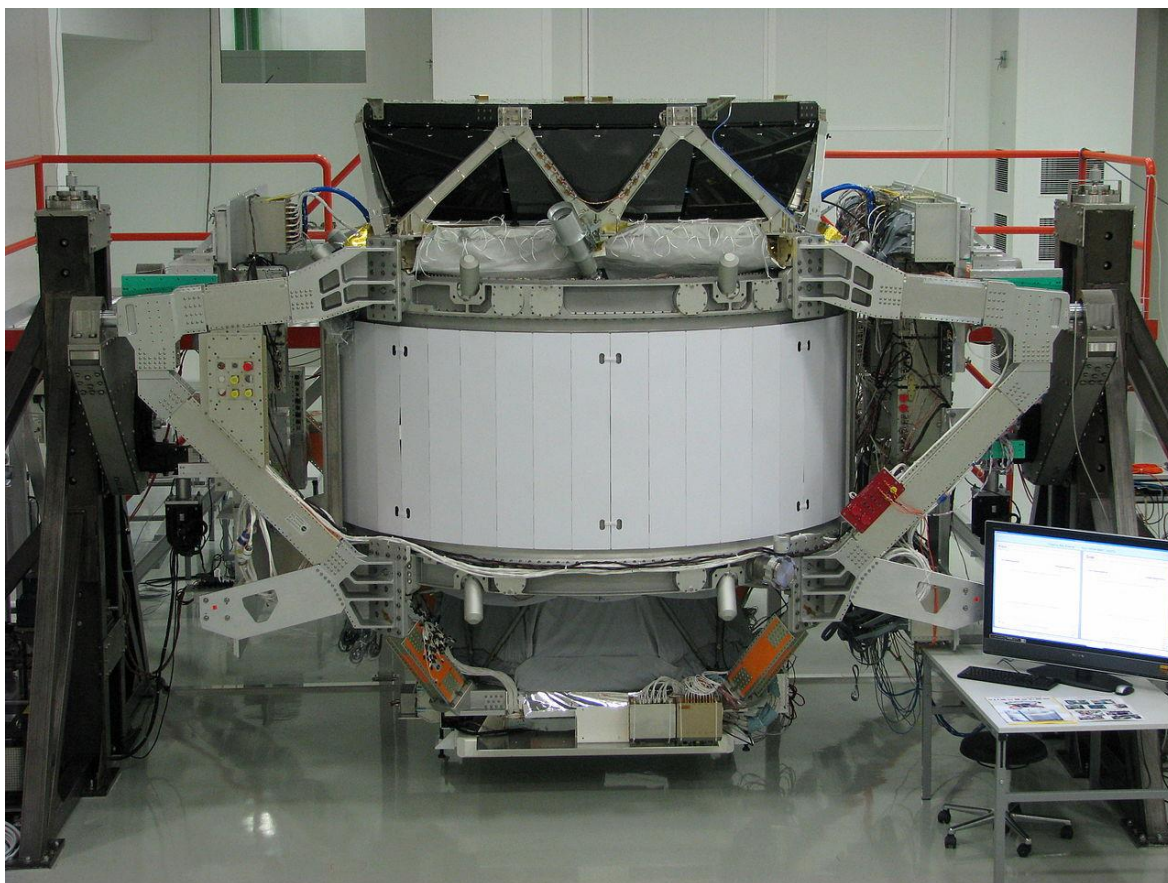
Ο ιερέας και φυσικός Theodor Wulf, που ανακάλυψε την κοσμική ακτινοβολία.



Εικόνα 5. Το μέγεθος της ροής των κοσμικών ακτίνων σε συναρτήσει της ενέργειας σε eV των σωματιδίων που περιέχουν



Εικόνα 6. Μια συγκριτική επισκόπηση του Διαστημικού Περιβάλλοντος σε κοσμικές ακτίνες από την 1/1/1983 έως την 31^η/12/2012.



Το Alpha Magnetic Spectrometer (AMS-02) είναι ένας μαγνητικός φασματογράφος κατασκευασμένος από το CERN και τοποθετημένος στον Διεθνή Διαπλανητικό Σταθμό ο οποίος καταγράφει σε ένα διαρκές πείραμα την κοσμική ακτινοβολία και τα σωματίδια αντύλης προκειμένου να συλλέξει στοιχεία για την προέλευση της σκοτεινής ύλης και της κοσμικής ακτινοβολίας. Το πείραμα διαρκεί ήδη περισσότερες από 3400 ημέρες. Ο φασματογράφος αυτός έχει καταγράψει μέχρι τις 11/9/2020 περίπου 164.409.920.137 συμβάντα πρόσκρουσης με σωματίδια άλφα (πυρήνες ηλίου στερούμενη ηλεκτρονικού περιβλήματος), γυμνούς πυρήνες άλλων στοιχείων και πρωτονίων της κοσμικής ακτινοβολίας. 164,409,920,137

Η αλληλεπίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας με την ατμόσφαιρα

Μπορούμε να πούμε με απόλυτη βεβαιότητα ότι κάθε σημείο του σύμπαντος διαρρέεται από ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, καθώς τα σώματα, στα οποία παράγεται, την εκπέμπουν προς όλες τις κατευθύνσεις, ειδικότερα όταν πρόκειται για πηγές σημειακές, όπως π.χ διάφορα μεμονωμένα άτομα ή μόρια. Η απελευθέρωση ενός φωτονίου που λαμβάνει χώρα από την πτωτική αλλαγή της τροχιακής θέσης ενός ηλεκτρονίου είναι ένα

συμβάν που έχει στιγμιαίο χαρακτήρα και το αντίστοιχο φωτόνιο θα μπορούσε να μην θεωρηθεί ως σωματίδιο αλλά ως κύμα τύπου σολιτονίου. 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. Η ατμόσφαιρα της γης λειτουργεί σαν προστατευτική ασπίδα για τις επικίνδυνες ακτινοβολίες πολύ υψηλής συχνότητας. Η ατμόσφαιρα απορροφά το μεγαλύτερο μέρος των κοσμικών ακτίνων αλλά και της υπεριώδους ακτινοβολίας. Αντίθετα επιτρέπει πλήρως την διέλευση των ραδιοκυμάτων υψηλής συχνότητας, των μικροκυμάτων χαμηλότερης συχνότητας, του φωτός και ενός τμήματος της υπέρυθρης ακτινοβολίας. Τα ραδιοκύματα χαμηλών συχνοτήτων ανακλώνται σ' ένα μεγάλο ποσοστό στο ατμοσφαιρικό στρώμα της ιονόσφαιρας. Αντίθετα επιτρέπει πλήρως την διέλευση των ραδιοκυμάτων υψηλής συχνότητας, των μικροκυμάτων χαμηλότερης συχνότητας, του φωτός και ενός τμήματος της υπέρυθρης ακτινοβολίας. Τα ραδιοκύματα χαμηλών συχνοτήτων ανακλώνται σ' ένα μεγάλο ποσοστό στο ατμοσφαιρικό στρώμα της ιονόσφαιρας.

Θερμική ακτινοβολία και ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία ως μια μορφή θερμότητας

Όταν η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία προσπέσει στην ύλη, αναγκάζει τα φορτισμένα σωματίδια να αυξήσουν το πλάτος της ταλάντωσης και να αποκτήσουν ενέργεια. Η κατάληξη αυτής της ενέργειας εξαρτάται από την κατάσταση. Θα μπορούσε να επαναακτινοβοληθεί αμέσως και να εμφανιστεί ως σκεδασμένη, ανακλώμενη, ή εκπεμπόμενη ακτινοβολία. Μπορεί επίσης να διαχυθεί με άλλες μικροσκοπικές κινήσεις εντός της ύλης, να έρθει σε θερμική ισορροπία και να εκδηλωθεί ως θερμική ενέργεια στην ύλη. Εκτός από λίγες εξαιρέσεις, όπως του φθορισμού, τις φωτοχημικές αντιδράσεις και το φωτοβολταϊκό φαινόμενο, η απορροφούμενη ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία αποδίδει μέρος της ενέργειάς της στη θέρμανση της ύλης. Αυτό συμβαίνει τόσο για την υπέρυθρες όσο και για τις μη-υπέρυθρες ακτινοβολίες (στην περιοχή των ραδιοφωνικών συχνοτήτων και των μικροκυμάτων). Η ιονίζουσα ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία μπορεί να δημιουργήσει υψηλής ταχύτητας ηλεκτρόνια σε ένα υλικό και να διασπάσει τους χημικούς δεσμούς, αλλά έπειτα από αυτές τις συγκρούσεις των ηλεκτρονίων με άλλα άτομα στο υλικό, τελικά το μεγαλύτερο ποσοστό ενέργειας υποβαθμίζεται (μετατρέπεται) σε θερμική ενέργεια. Όλη αυτή η διαδικασία συμβαίνει σε κλάσματα του δευτερολέπτου. Οποιαδήποτε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία μπορεί να θερμάνει ένα υλικό όταν απορροφηθεί.

Η αντίστροφη ή η χρονικά-ανεστραμμένη διαδικασία της απορρόφησης είναι υπεύθυνη για τη θερμική ακτινοβολία. Το μεγαλύτερο ποσοστό θερμικής ενέργειας στην ύλη αποτελείται από τυχαίες κινήσεις φορτισμένων σωματιδίων, και αυτή η ενέργεια μπορεί να εκπεμφθεί μακριά από το υλικό. Η απορρέουσα ακτινοβολία πιθανόν με τη σειρά της να απορροφηθεί από ένα άλλο κομμάτι του υλικού, με την αποθηκευμένη ενέργεια να θερμαίνει το υλικό. Η ακτινοβολία είναι ένας σημαντικός μηχανισμός μεταφοράς ενέργειας.

Αυτές οι αυξήσεις της θερμοκρασίας, μέσω της μεταφοράς ενέργειας, που προκαλούνται από τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία συγκεκριμένων συχνοτήτων (και ενεργειών) μπορεί να οδηγήσουν σε βλάβες στο υλικό που συντελούνται.

Είναι προφανές ότι τα πεδία της κινητής τηλεφωνίας (συσκευές, σταθμοί, κεραιές) μπορεί να έχουν τόσο θερμικές όσο και αθερμικές επιδράσεις (ισχύς πεδίων κινητής τηλεφωνίας $1 - 2 \text{ W/cm}^2$). Οι θερμικές βλάβες προκαλούνται από την άνοδο της θερμοκρασίας στους ιστούς, υπερβαίνοντας την θερμορυθμιστική ικανότητα του οργανισμού ή του ιστού. (Graham 1998).

Η θερμική δράση των πεδίων της κινητής τηλεφωνίας οφείλεται στο γεγονός ότι η ακτινοβολία τους θέτει σε εξαναγκασμένη ταλάντωση τα ηλεκτρικά δίπολα των μορίων του νερού των ιστών με αποτέλεσμα η ακτινοβολούμενη ενέργεια να αποδίδεται τοπικά ως θερμότητα, η οποία αυξάνει τοπικά τη θερμοκρασία του ιστού. Ο εγκέφαλος, το ήπαρ, οι όρχεις, τα σπλάχνα οι ιστοί των οποίων απορροφούν εκλεκτικά την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία είναι τα πιο ευαίσθητα όργανα.

Ηλεκτρομαγνητικά πεδία και έρευνα

Οι ιδιότητες των ηλεκτρομαγνητικών πεδίων έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον πολλών επιστημόνων και ερευνητών τις τελευταίες τρεις δεκαετίες. Η επίδραση των ηλεκτρομαγνητικών πεδίων στα βιολογικά συστήματα έχουν αποδειχθεί μέσω ενός μεγάλου αριθμού μελετών (Aaron and Ciombor 1993; Walker et al. 1994; Tao and Henderson 1999; Tofani et al. 2002). Ένα μεγάλο στοίχημα στην έρευνα είναι να αποδειχθεί ότι η έκθεση ηλεκτρομαγνητικών πεδίων χαμηλών συχνοτήτων μπορεί να προκαλέσει αλλαγές στα ζώντα συστήματα. Αυτές οι αλλαγές αναφέρονται στη μεταβολή του ρυθμού πολλαπλασιασμού των κυττάρων, αλλαγές στα επίπεδα mRNA και

πρωτεϊνικής σύνθεσης, αλλαγές στη διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης και στη μεταφορά ιόντων Ca^{2+} , Na^+ και K^+ . Όλα τα παραπάνω οδηγούν σε αλλαγές στην ηλεκτρική και μεταβολική συμπεριφορά των κυττάρων, επηρεάζουν τη διαφοροποίηση των αρχέγονων βλαστικών κυττάρων και αλλάζουν τον ρυθμό απόπτωσης τόσο των φυσιολογικών όσο και των νεοπλασματικών κυττάρων (Walker et al. 1994; Han et al. 1998; Tao et al. 1999; Islamov et al. 2002; Tofani et al. 2002; Stronati et al. 2004).

Υπάρχουν σχετικές μελέτες που υποδεικνύουν ότι τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία λειτουργούν ως παράγοντες προώθησης της καρκινογένεσης, έπειτα από προ-χορήγηση benzo[a]pyrene (Simko et al. 2001), ενώ άλλες μελέτες δείχνουν ότι τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν σημαντικά την ανάπτυξη όγκων σε αθυμικά ποντίκια και σε άλλα μοντέλα με νεοπλασματικές ασθένειες (Tofani et al. 2001; Tofani et al. 2002).

Μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί στο Εργαστήριο Φυσιολογίας υποδεικνύουν ότι τα παλμικά ηλεκτρομαγνητικά πεδία επιταχύνουν στατιστικά σημαντικά τον ρυθμό επούλωσης και βελτιώνουν την διαδικασία επούλωσης κατά δεύτερο σκοπό δερματικής σκόπιμων χειρουργικών και γεωμετρικά περιγεγραμμένων τραυματισμών σε επίμυες (αφαίρεση τμημάτων δέρματος) σε επίμυες Wistar (Athanasίου et al. 2007). Επίσης τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία συντονισμού (συγκεκριμένων συχνοτήτων) επιμηκύνουν στατιστικά σημαντικά το χρόνο επιβίωσης και μειώνουν τον ρυθμό ανάπτυξης όγκου στην ομάδα πειράματος, σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (Avdikos et al. 2007), ενώ η έκθεση νεοπλασματικών κακοήθων κυττάρων λειομυοσαρκώματος επίμυος Wistar σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία τα οποία παράγονται μέσω κατάλληλου συστήματος που χρησιμοποιεί ως βάση του τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία που εκπέμπουν τα συγκεκριμένα κύτταρα, αλλά θέτοντάς τα με αρνητικό πρόσημο (Karkabounas και συν 2007).

Τα φαινόμενα του συντονισμού στην Φυσική

Στην Φυσική ως Συντονισμός ορίζεται η ταύτιση της συχνότητας μιας διεγείρουσας πηγής με την ιδιοσυχνότητα ενός εξαρτημένου από αυτήν ταλαντωτή. Κάθε ταλαντωτής εμφανίζει είτε μια συγκεκριμένη συχνότητα ταλάντωσης (ιδιοσυχνότητα) ή ένα σύνολο συχνοτήτων ταλάντωσης χαρακτηριστικές για τα στοιχεία του. Όταν το σύστημα διεγείρεται, μετά από έναν χρόνο υστέρησης, αρχίζει η ταλάντωση του εξαρτημένου

ταλαντωτή, η οποία έχει την συχνότητα - ή τις συχνότητες - που ταυτίζεται με το σύνολο των ιδιοσυχνοτήτων του. Οι συχνότητες αυτές είναι γνωστές ως οι συχνότητες συντονισμού του συστήματος. Σε αυτές τις συχνότητες ακόμη και μικρές κατευθυνόμενες δυνάμεις είναι δυνατόν να προκαλέσουν ταλαντώσεις μεγάλου εύρους, επειδή το σύστημα στόχος αποθηκεύει την ενέργεια δόνησης. Ιστορικά ο συντονισμός περιεγράφηκε για πρώτη φορά το 1602 από τον Γαλιλαίο (Galileo Galilei) από τις έρευνές του στο εκκρεμές και στα μουσικά έγχορδα (Drake et al. 1999, Orlova and Marenzana 2006).

Οι συντονισμοί μπορούν να συμβούν υπό τον όρο ότι ένα σύστημα είναι σε θέση να αποθηκεύσει και εν συνεχεία να μεταφέρει εύκολα την ενέργεια μεταξύ δύο ή περισσοτέρων καταστάσεων αποθήκευσης (όπως κινητική ενέργεια και δυναμική ενέργεια στην περίπτωση του εκκρεμούς). Ωστόσο, λόγω του δεύτερου νόμου της θερμοδυναμικής υπάρχουν αναγκαστικά ενεργειακές απώλειες από κύκλο σε κύκλο, καλούμενες αποσβέσεις. Όταν η απόσβεση είναι μικρή, η συχνότητα συντονισμού είναι περίπου ίση με τη φυσική συχνότητα του συστήματος, η οποία είναι μια συχνότητα μη εξαναγκασμένων δονήσεων. Ορισμένα συστήματα έχουν πολλαπλές, διακριτές συχνότητες συντονισμού.

Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός (NMR)

Ο Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός (Nuclear magnetic resonance-NMR) είναι ένα φαινόμενο απορρόφησης και ενεργειακής σκέδασης, το οποίο παρουσιάζει ένας ατομικός πυρήνας μονού αριθμού πρωτονίων, λόγω των μαγνητικών του ιδιοτήτων, όταν βρίσκεται σε ένα μαγνητικό πεδίο ή προσπίπτει επί αυτού ένας μεμονωμένος ή πολλοί ηλεκτρομαγνητικοί παλμοί. Υπό τις συγκεκριμένες συνθήκες της έκθεσης στα μαγνητικά πεδία ή στους ηλεκτρομαγνητικούς παλμούς εν λόγω ατομικός πυρήνας απορροφά ενέργεια, την οποία κατόπιν σκεδάζει, δηλαδή αποδίδει. Η ενέργεια που εκπέμπεται πίσω είναι συγκεκριμένης συχνότητας συντονισμού η οποία εξαρτάται από την ένταση του μαγνητικού πεδίου και άλλους παράγοντες. Αυτό επιτρέπει στην παρατήρηση μερικών κβαντομηχανικών μαγνητικών ιδιοτήτων του ατομικού πυρήνα.

Η φασματοσκοπία NMR, είναι η τεχνική που εκμεταλλεύεται τις μαγνητικές ιδιότητες ενός καθορισμένου πυρήνα. Οι πιο σημαντικές εφαρμογές για την οργανική χημεία είναι η φασματοσκοπία του ^1H -NMR και του ^{13}C -NMR. Η ανάλυση του φάσματος NMR ενός συγκεκριμένου καθαρού χημικού σώματος, όπως π.χ οργανικής ή ανόργανης ουσίας, ενός

διαμαγνητικού συμπλόκου κ.ά., μας παρέχει σημαντικές πληροφορίες για τον αριθμό των ατόμων, τις θέσεις τους στον χώρο, και τους βαθμούς ελευθερίας του, οπότε, βάσει αυτών, μπορούμε να εξάγουμε σημαντικές πληροφορίες για την χημική δομή του υπό μελέτη μορίου ή συμπλόκου. Η επίδραση της φασματοσκοπίας NMR στις φυσικές επιστήμες είναι μεγάλη και ουσιώδης. Μπορεί, μεταξύ των άλλων να χρησιμοποιηθεί για να κατανοήσουμε τις δυναμικές επιδράσεις, όπως αλλαγές στη θερμοκρασία και στους μηχανισμούς αντίδρασης, και επίσης θεωρείται ένα ανεκτίμητο εργαλείο για να κατανοήσουμε τις δομές και τις λειτουργίες των πρωτεϊνών και των νουκλεϊκών οξέων.

Οι εφαρμογές της φασματοσκοπίας NMR είναι ευρύτατες και αφορούν όλα τα χημικώς καθαρά σώματα (μόρια, άτομα, σύμπλοκα) τόσο σε στερεά όσο και σε υγρή φάση

Όπως ανωτέρω προαναφέραμε ο πυρήνας όταν διεγερθεί κατάλληλα από ένα μαγνητικό πεδίο. ή/και ηλεκτρομαγνητικό παλμό, αποδίδει την ενέργεια που προσέλαβε (σκέδαση) σε μια συγκεκριμένη συχνότητα συντονισμού. Η συχνότητα του συντονισμού, η ενέργεια της απορρόφησης και η ένταση του σήματος είναι ανάλογα της έντασης του μαγνητικού πεδίου που εφαρμόστηκε.

Αναλόγως του τοπικού χημικού περιβάλλοντος, μέσα σε ένα μόριο διαφορετικά πρωτόνια συντονίζονται σε ελάχιστα διαφορετικές συχνότητες. Επειδή τόσο η μετατόπιση συχνότητας όσο και η θεμελιώδης συχνότητα συντονισμού είναι ευθέως ανάλογες της έντασης του μαγνητικού πεδίου, η μετατόπιση μετατρέπεται σε μια αδιάστατη τιμή ανεξάρτητη του πεδίου γνωστή ως χημική μετατόπιση. Η χημική μετατόπιση αναφέρεται ως μια σχετική μέτρηση ως προς κάποιες συχνότητες συντονισμού αναφοράς και ορίζεται ως η διαφορά της συχνότητας του σήματος και της συχνότητας αναφοράς διαιρούμενη με τη συχνότητα του σήματος αναφοράς. Επίσης, εκφράζεται σε μέρη ανά εκατομμύριο (ppm) (Rabi et al. 1992).

Η εφαρμογή του πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού είναι γνωστή στο ευρύτερο κοινό ως μαγνητική τομογραφία για την ιατρική διάγνωση και ως μικροσκοπία μαγνητικού συντονισμού για τα ερευνητικά δεδομένα. Επίσης μπορούν να ληφθούν βιοχημικές πληροφορίες από ζωντανούς ιστούς (π.χ. ανθρώπινους όγκους εγκεφάλου) με μια τεχνική γνωστή ως *in vivo* φασματοσκοπία μαγνητικού συντονισμού ή NMR μικροσκοπία χημικής μετατόπισης. Επιπλέον, το NMR χρησιμοποιείται για να δημιουργήσει μεταβολικά αποτυπώματα από βιολογικά υγρά ώστε να ληφθούν οι πληροφορίες για την κατάσταση μιας ασθένειας.

Μια άλλη τεχνική είναι η φασματοσκοπία υπερύθρου (Infrared Spectroscopy-IR). Η φασματοσκοπία IR (Iconomidou et al. 2001) είναι φασματοσκοπία ταλάντωσης. Τα φάσματα IR δίνουν λεπτομερείς πληροφορίες για τις μοριακές ταλαντώσεις, προσφέροντάς μας πληροφορίες για την ταυτότητα των λειτουργικών ομάδων.

Βιοϊατρικές δράσεις των ηλεκτρομαγνητικών πεδίων επί βιολογικών συστημάτων – συσχέτιση με νόσους και ενδεχόμενες θεραπευτικές εφαρμογές

Μια σημαντική υπόθεση των παρενεργειών από την έκθεση σε μη ιοντιζόμενα ηλεκτρομαγνητικά πεδία είναι η πρόκληση καρκίνου. Δεδομένου ότι η πλειοψηφία των καρκίνων αρχίζουν από βλάβη στο γονιδίωμα ενός κυττάρου, πολλές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί για να διερευνηθούν οι επιπτώσεις των ηλεκτρομαγνητικών πεδίων στο DNA και τις χρωμοσωμικές δομές. Επιπλέον, οι βλάβες στο DNA μπορεί να οδηγήσουν σε αλλαγές των κυτταρικών λειτουργιών και στον κυτταρικό θάνατο. Η τεχνική «comet assay» (δοκιμασία «ουράς κομήτη»), έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στην έρευνα των ηλεκτρομαγνητικών πεδίων για τον προσδιορισμό της βλάβης του DNA, η οποία εκφράζεται ως μονόκλινα θραύσματα (single-strand breaks), δίκλινα θραύσματα (double-strand breaks), και διασταυρούμενες ενώσεις. Μελέτες έχουν επίσης πραγματοποιηθεί για τη διερεύνηση των αλλαγών στη διαμόρφωση των χρωμοσωμάτων σε κύτταρα μετά από έκθεση τους σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία.

Βλάβες στο DNA

Το DNA καταστρέφεται συχνά από ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες και στη συνέχεια επιδιορθώνεται από τα επιδιορθωτικά ένζυμα (π.χ. DNA polymerase). Οποιαδήποτε ανισορροπία στη ζημιά και επιδιόρθωση αυτής και στα λάθη κατά την επιδιόρθωση οδηγεί στη συσσώρευση κατεστραμμένου DNA. Τελικά, αυτό θα οδηγήσει σε κυτταρικό θάνατο, σε γήρανση ή σε καρκίνο. Υπάρχουν αρκετοί τύποι πρόκλησης βλάβης στο DNA. Ένας από αυτούς είναι μονόκλινα ή δίκλινα θραύσματα (single or double-strand breaks). Γενικότερα τα θραύσματα των αλυσίδων του DNA έχουν συσχετιστεί με τον κυτταρικό θάνατο (Ward 1990; Walker et al. 1991, Onishi et al. 1993, Prigent et al. 1993; Schindowski et al. 2000), τη γήρανση (Hart et al. 1974; Lieber 1998; LiH. et al. 2008) και τον καρκίνο (Cerutti 1985; Ames 1989; Helleday et al. 2007).

Δράσεις έκθεσης σε υψηλές ηλεκτρομαγνητικές συχνότητες της κινητής τηλεφωνίας

Υπάρχει πληθώρα μελετών που σχετίζουν την έκθεση κυττάρων, πειραματοζώων και ανθρώπων σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία υψηλών συχνοτήτων (π.χ. αυτά που χρησιμοποιούνται στην κινητή τηλεφωνία) με πρόκληση βλάβης στο DNA. Ο Diem et al., αναφέρει ότι η έκθεση ανθρώπινων ινοβλαστών και κοκκιωδών κυττάρων ποντικού σε σήμα κινητού τηλεφώνου (1800 MHz, SAR 1.2 ή 2W/kg, διαφορετικές διαμορφώσεις, για 4, 16 και 24ώρες, διακεκομμένη έκθεση 5λεπτά ναι/10 λεπτά όχι ή συνεχόμενη) προκάλεσε μονόκλινα ή δίκλινα θραύσματα DNA. Οι επιδράσεις αυτές επιτεύχθηκαν έπειτα από 16 ώρες έκθεσης σε διαφορετικές διαμορφώσεις του κινητού τηλεφώνου και στους δύο κυτταρικούς τύπους (Diem et al. 2005). Η διακεκομμένη έκθεση σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία προκάλεσε στατιστικά μεγαλύτερη επίδραση σε σύγκριση με τη συνεχόμενη έκθεση. Οι Gandhi and Anita αναφέρουν ότι παρατηρήθηκαν αυξήσεις στα θραύσματα αλυσίδων του DNA και μικροπυρήνωση στα λεμφοκύτταρα στους χρήστες κινητών τηλεφώνων (Gandhi et al. 2005). Ο Zhang et al., αναφέρει ότι το ηλεκτρομαγνητικό πεδίο των 1800 MHz στα 3W/kg προκάλεσε βλάβη στο DNA των κυττάρων του πνεύμονα σε κινέζικους κρικετούς έπειτα από 24 ώρες έκθεσης (Zhang et al. 2006), ενώ ο Aitken et al., παρουσιάζει την έκθεση ποντικών σε ηλεκτρομαγνητικό πεδίο ραδιοφωνικών συχνοτήτων 900 MHz με τιμή SAR 0.09W/kg για 12 ώρες/ημέρα για 7 συνεχόμενες ημέρες όπου παρατηρήθηκε βλάβη στο ουριαίο τμήμα της επιδιδυμίδας των σπερματοζωαρίων (Aitken et al. 2005). Υπάρχουν μελέτες στις οποίες αναφέρεται ότι η έκθεση κυττάρων ή πειραματοζώων σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία υψηλών συχνοτήτων (1.7 GHz, 1.8GHz, 2.45GHz και κυμαινόμενες τιμές SAR) προκαλούν βλάβες στη μία ή και στις δύο έλικες του DNA (Phillips et al. 1998; Nikolova et al. 2005; Sun et al. 2006), αλλαγές στη μορφολογία και στο γονιδίωμα των σπερματικών κυττάρων καθώς και αυξημένη θνησιμότητα αυτών (Sarkar et al. 1994; Eroglu et al. 2006), ορμονικές αλλαγές (Forgacs et al. 2006; Ozguner et al. 2005) καθώς και επίδραση στη διαμόρφωση της χρωματίνης (Markova et al. 2005). Η έκθεση κυττάρων σε μικροκύματα προκάλεσε ενεργοποίηση πλήθους κυτταρικών σηματοδοτικών μονοπατιών, μεταξύ των οποίων και του hsp27/p38MAPK, μονοπατιού αντίδρασης στο στρες (Leszczynski et al. 2002). Σε σχετικά πρόσφατες εργασίες, Σκανδιναβοί επιστήμονες προσδιόρισαν ένα αυξημένο κίνδυνο για την δημιουργία ακουστικού νευρινώματος (καλοήθους όγκος στο 8^ο κρανιακό νεύρο) στους χρήστες κινητού τηλεφώνου, όπως επίσης και μια ήπια αύξηση του κινδύνου για κακοήθεις όγκους εγκεφάλου, όπως αστροκύτωμα και μηνιγγίωμα στην πλευρά του

εγκεφάλου που γίνεται χρήση του κινητού (Hardell et al. 1999; Hardell et al. 2005; Lonn et al. 2004). Τέλος, η έκθεση σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία υψηλών συχνοτήτων μείωσε την παραγωγή της IL-2 και της INF-gamma στα περιφερειακά μονοπύρρηνα ερυθρά κύτταρα (Boscol et al. 2001), προκάλεσε σημαντική αύξηση στην παραγωγή του TNF των μακροφάγων του περιτόναιου (Fesenko et al. 1999) και επηρέασε την έκφραση πολλών πρωτεϊνών (p38, ERK κ.ά.) (Friedman et al. 2007).

Εκτός από τις μελέτες που αναφέρουν όλες τις αρνητικές συνέπειες από την έκθεση πειραματοζώων και κυτταρικών σειρών στις συχνότητες λειτουργίας των κινητών τηλεφώνων υπάρχουν και αντίστοιχες μελέτες που αναφέρουν ότι δεν παρατηρήθηκε καμία αλλαγή ή επίδραση ή βλάβη στο DNA. Συγκεκριμένα, μελέτες του Roti Roti και των συνεργατών που αφορούσαν την έκθεση κυττάρων και πειραματοζώων σε ραδιοφωνικές συχνότητες δεν ανέφεραν καμία βλάβη στο DNA (Malyara et al. 1997; Malyara et al. 1998; Roti Roti et al. 2001). Πρέπει να αναφερθεί ότι η μελέτη του Roti - Roti χρηματοδοτήθηκε από την εταιρεία Motorola. Παρόμοιες μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί, στις οποίες η έκθεση ινοβλαστών ποντικού C3H10T1/2 (Li L. et al. 2001), κυττάρων Molt-4 (Hook et al. 2004), ανθρώπινων λεμφοκυττάρων (Vijayalaxmi et al. 2000; Tice et al. 2002; McNamee et al. 2003; Zeni et al. 2005), λεμφοκυττάρων ποντικού (Gatta et al. 2003), γλοιοβλαστώματος A172 ανθρώπου (Sakuma et al. 2006), ανθρώπινων αιμοκυττάρων (Stronati et al. 2006) και ποντικών (Verschaeve et al. 2006) δεν παρουσίασαν σημαντική αύξηση στη βλάβη του DNA. Επίσης ο Tuschl et al. αναφέρει ότι τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία από τη χρήση των κινητών τηλεφώνων δεν παρουσίασαν καμία σημαντική επίδραση σε κύτταρα του ανθρώπινου ανοσοποιητικού συστήματος (Tuschl et al. 2006).

Δράσεις κατόπιν έκθεσης σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία πολύ χαμηλών συχνοτήτων (ELF& EMF)

Υπάρχουν αρκετές μελέτες που αναφέρουν ότι η έκθεση σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία πολύ χαμηλών συχνοτήτων (ELF EMF), όπως τα 50 και 60Hz, θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε γενικότερη βλάβη του DNA, αύξηση του πολλαπλασιασμού των κυττάρων, επίδραση στη σύνθεση του μιτοχondριακού DNA και χρωμοσωμικές ανωμαλίες (Zmyslony et al. 2000; Jajte et al. 2001; Ivancsits et al. 2002; Schmitz et al. 2004; Winker et al. 2005; Wolf et al. 2005; Yokus et al. 2005), μείωση της δραστηριότητας των NK κυττάρων (Gobba et al. 2009), διαφοροποίηση των HL-60 κυττάρων (Tao et al. 1999) όπως επίσης υπάρχουν και

αρκετές εργασίες που συνδέουν την παιδική λευχαιμία με χαμηλής έντασης ηλεκτρομαγνητικά πεδία, όπως αυτά των ηλεκτροφόρων καλωδίων (London et al. 1991; Kheifets et al. 1995; Greenland et al. 2000). Υπάρχουν δύο εργασίες που παρουσιάζουν ότι η έκθεση σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία πολύ χαμηλών συχνοτήτων λειτουργεί ως μηχανισμός επιδιόρθωσης του DNA (Chow et al. 2000; Robison et al. 2002). Παρόμοιες εργασίες έχουν πραγματοποιηθεί, όπου αναφέρεται η διαφοροποίηση κυττάρων που ομοιάζουν με οστεοβλάστες καθώς και θεραπεία οστικών συνδρόμων (Bassette et al. 1982; Grace et al. 1998; Wei et al. 2008) και πολύ χαμηλής συχνότητας μαγνητικά πεδία προκαλούν στατιστικά σημαντική μείωση στην ανάπτυξη όγκων, αύξηση της απόπτωσης των εκτιθέμενων κυττάρων, σημαντική μείωση της p53 και της αμινοτρανσφεράση της αλανίνης (Tofani et al. 2001; Tofani et al. 2002).

Πιθανός μηχανισμός δράσης των ELF EMF

Παρ' όλες τις μελέτες και τα δεδομένα που υπάρχουν στην έρευνα για το βιοηλεκτρομαγνητισμό είναι το ότι δεν υπάρχει ένας γενικά αποδεκτός μηχανισμός για το πώς τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία επηρεάζουν τα βιολογικά συστήματα. Ο μηχανισμός μέσω του οποίου τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία δημιουργούν αλλαγές στα DNA είναι άγνωστος. Από τότε που το ενεργειακό επίπεδο σχετίστηκε με την έκθεση σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία δεν είναι επαρκές για να προκαλέσει απευθείας σπάσιμο στους χημικούς δεσμούς των μορίων, τα αποτελέσματα είναι πιθανόν έμμεσα και δευτερεύοντα μέσω πρόκλησης άλλων βιοχημικών αλλαγών στα κύτταρα (Phillips et al. 2009).

Μια πιθανότητα είναι ότι το DNA καταστρέφεται από τις ελεύθερες ρίζες οι οποίες σχηματίζονται μέσα στα κύτταρα μετά την έκθεσή τους στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία (Zmyslony et al. 2000; Jajte et al. 2001; Wolf et al. 2005). Οι ελεύθερες ρίζες επηρεάζουν τα κύτταρα καταστρέφοντας τα μακρομόρια, όπως το DNA, πρωτεΐνες και τα μεμβρανικά λιπίδια. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία ενισχύουν την δραστηριότητα των ελευθέρων ριζών στα κύτταρα (Lai and Singh 1997, Lai and Singh 2005, Oral et al. 2006; Simko 2007) και πιο συγκεκριμένα μέσω της αντίδρασης Fenton (Lai and Singh 2004). Η αντίδραση Fenton είναι μια διαδικασία που καταλύεται από το σίδηρο, στην οποία το υπεροξείδιο του υδρογόνου, ως προϊόν της οξειδωτικής αναπνοής στα μιτοχόνδρια, μετατρέπεται σε ελεύθερες ρίζες υδροξυλίου, που είναι πολύ ισχυρά και κυτταροτοξικά μόρια.

Οι επιδράσεις μέσω της αντίδρασης Fenton προβλέπουν το πώς ένα κύτταρο θα μπορούσε να ανταποκριθεί στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία. Για παράδειγμα:

1 Τα κύτταρα που είναι μεταβολικά ενεργά θα μπορούσαν να είναι περισσότερο ευαίσθητα στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία, επειδή παράγεται περισσότερο υπεροξείδιο του υδρογόνου στα μιτοχόνδρια για να τροφοδοτήσει την αντίδραση.

2 Τα κύτταρα που διαθέτουν υψηλό ποσοστό ελεύθερου ενδοκυττάριου σιδήρου θα μπορούσαν να είναι περισσότερο ευαίσθητα στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία. Τα καρκινικά κύτταρα και τα κύτταρα που βρίσκονται σε μη φυσιολογική διαίρεση έχουν αυξημένες συγκεντρώσεις ελεύθερου σιδήρου επειδή προσλαμβάνουν περισσότερο σίδηρο και έχουν λιγότερο αποτελεσματική ρύθμιση στην αποθήκευση του σιδήρου. Επομένως, αυτά τα κύτταρα μπορεί να είναι υποστούν επιλεκτική βλάβη από τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία (Jajte et al. 2001).

3 Αφού ο εγκέφαλός μας εκτίθεται σε υψηλά επίπεδα ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας κατά τη διάρκεια χρήσης του κινητού τηλεφώνου, οι γενετικές βλάβες στα εγκεφαλικά κύτταρα που προκαλούνται από τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία είναι ιδιαίτερα σημαντικές. Τα εγκεφαλικά κύτταρα είναι πλούσια σε σίδηρο. Άτομα σιδήρου έχει βρεθεί ότι παρεμβάλλονται στο DNA των μορίων. Επιπλέον, τα νευρικά κύτταρα έχουν μικρή ικανότητα επιδιόρθωσης του DNA, και μπορεί πολύ εύκολα να συσσωρευτούν βλάβες του DNA. Επίσης ενδιαφέρον είναι η παρουσία υπερπαραμαγνητικών μορίων σιδήρου, τα οποία θα μπορούσαν να ενισχύσουν την δραστηριότητα των ελευθέρων ριζών στα κύτταρα και να προκληθούν κυτταρικές βλάβες από την επίδραση των ηλεκτρομαγνητικών πεδίων. Πρέπει να συμπεριληφθεί ότι λόγω της φύσης των νευρικών κυττάρων, ότι δηλαδή δεν μπορούν να πολλαπλασιαστούν και επομένως δεν μπορούν να μετατραπούν σε καρκινικά, οι πιο συχνές συνέπειες της βλάβης του DNA σε αυτά τα κύτταρα περιλαμβάνουν αλλαγές στις κυτταρικές λειτουργίες και στον κυτταρικό θάνατο. Συσσωρευμένες βλάβες του DNA στα νευρικά κύτταρα του εγκεφάλου έχουν σχετιστεί με νευροεκφυλιστικές ασθένειες όπως Alzheimer, ασθένεια Huntington και Parkinson.

4 Δύο μελέτες, των Blank and Soo (Blank et al. 2003) και Blank and Goodman (Blank et al. 2008) υποστηρίζουν την πιθανότητα, ότι η έκθεση στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία χαμηλής ενέργειας έχει μια άμεση επίδραση στην διαδικασία μεταφοράς ηλεκτρονίων.

5 Από την άλλη μεριά, τα κύτταρα διαθέτουν μεγάλα ποσά αντιοξειδωτικών και αντιοξειδωτικών ενζύμων που τα κάνουν λιγότερο ευαίσθητα στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία.

Πρωτεΐνες Οξείας Φάσεως

1. Γενικά:

Όπως υποδηλώνει το όνομά τους, οι Πρωτεΐνες Οξείας Φάσεως ή Πρωτεΐνες Θερμικού Σοκ (Heat Shock Proteins) εκφράζονται σε κύτταρα που εκτίθενται σε μη θανατηφόρα στρες. Αυτά, εκτός από το θερμικό στρες, μπορεί να είναι οξειδωτικά στρες, έκθεση σε βαρέα μέταλλα, μικροβιακές λοιμώξεις, παρουσία αντιβιοτικών και άλλα.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΝΘΗΚΩΝ ΠΟΥ ΕΠΑΓΟΥΝ ΤΙΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΤΟΥ ΘΕΡΜΙΚΟΥ ΣΟΚ

Οι πρωτεΐνες του θερμικού σοκ (Heat Shock Proteins) εντοπίστηκαν για πρώτη φορά το 1962 στα πολυταινικά χρωματοσώματα των κυττάρων των σιελογόνων αδένων του δίπτερου εντόμου *Drosophila melanogaster* από τον Ιταλό γεωπόνο και βιολόγο γενετιστή Ferruccio Ritossa στο Διεθνές Κέντρο Γενετικής και Βιοφυσικής της Νάπολης (International Laboratory of Genetics and Biophysics Research – Naples. μετά από ολιγόλεπτη έκθεση αυτών σε θερμοκρασία 37°C (Ritossa F. A new puffing pattern induced by heat shock and DNP in *Drosophila*. *Experientia*. 1962;18:571–573. doi: 10.1007/BF02172188). Κατά την επαναφορά τους σε φυσιολογική θερμοκρασία (25°C) παρατηρήθηκε μία μεταγραφική έξαρση στο γονιδιώμά τους συνοδευόμενη από αύξηση της έκφρασης πρωτεϊνών με μοριακά βάρη 70 και 26 kDa. Αυτές οι «μυστηριώδεις» πρωτεΐνες ονομάστηκαν Πρωτεΐνες Θερμικού Σοκ. Έκτοτε έχει ανακαλυφθεί και χαρακτηριστεί ένας μεγάλος αριθμός τέτοιων πρωτεϊνών. Η *Drosophila melanogaster* αποτελεί το πλέον μελετημένο ζωικό οργανισμό των γενετιστών καθώς περιλαμβάνει στα σωματικά της κύτταρα μόνο τέσσερα χρωματοσώματα, ενώ στα κύτταρα των σιελογόνων της αδένων υπάρχουν πολυταινικά χρωματοσώματα που διευκολύνουν την παρατήρηση πολλών γενετικών φαινομένων σχετικών με την έκφραση των γονιδίων, κατόπιν συγκεκριμένων ερεθισμάτων.

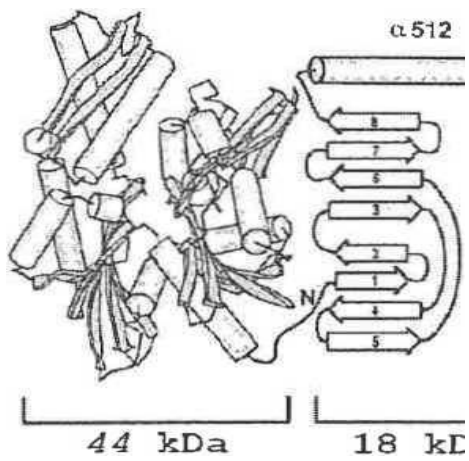


Φωτογραφία του Ferruccio Ritossa όταν εργαζόταν στο Διεθνές Κέντρο Γενετικής και Βιοφυσικής της Νάπολης το 1962, όταν ανακάλυψε τις πρωτεΐνες του θερμικού σοκ.

HSP 70 kDa- Μοριακή Δομή:

Οι πρωτεΐνες HSP-70 είναι εξαιρετικά συντηρημένες, εμφανίζουν 60-78% ομολογία βάσεων ανάμεσα στα ευκαρυωτικά κύτταρα και 40-60% με την ανάλογη πρωτεΐνη των προκαρυωτικών οργανισμών. Όλες οι πρωτεΐνες HSP-70 προσδέουν ATP.

Η δομή της πρωτεΐνης χαρακτηρίζεται¹ από τρεις διακριτές λειτουργικές περιοχές, όπως φαίνεται στο ακόλουθο σχήμα:



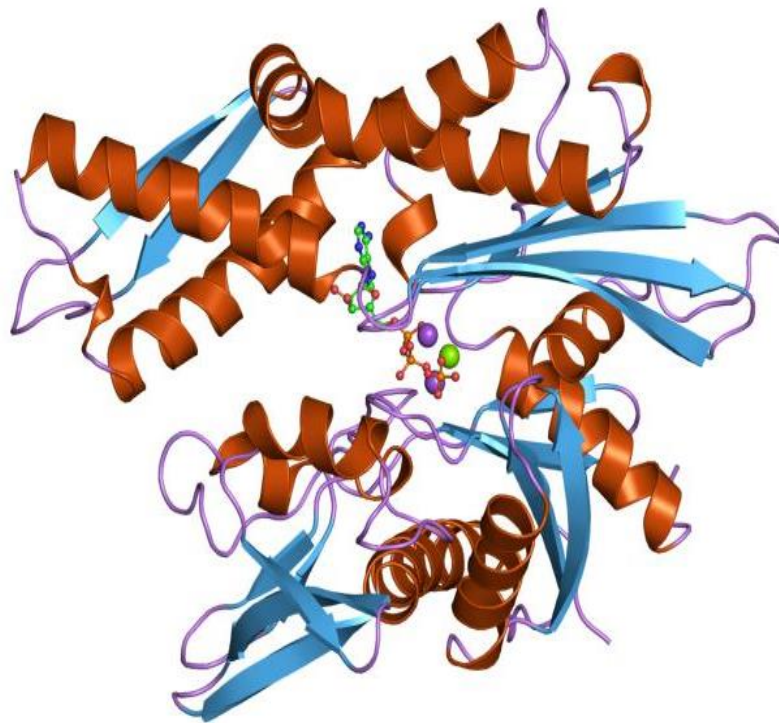
V^C 1

SLESYAFNMK ATVEDEKLQG KINDEDKQKI 570 A
 SA_____ G.K. ..SE..K.V 567

LDKCNEIIHW LDKNQTAEEKEEFHQQKELE 600 Q.V.S.
 ..A.TL...D _____ KR_____ 597

KVCNPIITKL YQSAGGMPGG MPGGFPG-GG 630 Q.. ...
 .SG. *.G*... " " * . . AQ * 627

APPEGGASSG PTIEEVD 645 .K..SG.,



Εικόνα: Γενική εικόνα της δομής της πρωτεΐνης HSP-70 του Ανθρώπου (*Homo sapiens*).

640 ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ HSP-70

Η πρώτη περιοχή, μεγέθους 44 kDa, εμφανίζει δράση ΑΤΡάσης, η δεύτερη, μεγέθους 10 kDa, είναι η περιοχή πρόσδεσης πεπτιδίων και η τρίτη, μεγέθους 10 kDa, είναι ουσιαστικά αυτή στην οποία παρουσιάζεται και η διαφορά στη δομή της ενεργούς HSP-70 από το αναγνωριστικό σύμπλοκο θερμικού σοκ HSC-70 (Heat Shock Cognate - 70).

HSP-70, Ρύθμιση της Έκφρασης:

Η έκθεση ενός κυττάρου σε κάποια από τις προαναφερθείσες συνθήκες εκκινεί έναν μοριακό «καταρράκτη» αντιδράσεων ο οποίος οδηγεί στην υπερέκφραση της HSP-70. Ο μηχανισμός είναι κυκλικός και αυτο- ρυθμιζόμενος.

Ο προαγωγός του γονιδίου της HSP-70 αποτελείται από πέντε περιοχές με αλληλουχία nGAAn οι οποίες ονομάζονται στοιχεία θερμικού σοκ (Heat Shock Elements, HSEs). Οι HSP-70 που βρίσκονται υπό φυσιολογικές συνθήκες, σε μικρή συγκέντρωση στο κυτταρόπλασμα, φέρουν προσδεμένα μικρότερα βιομόρια που καλούνται παράγοντες θερμικού σοκ (Heat Shock Factors, HSFs). Κάτω από τις προαναφερθείσες στρεσογόνες συνθήκες αυτά αποχωρίζονται από τις πρωτεΐνες θερμικού σοκ, φωσφορυλιώνονται και σχηματίζουν τριμερείς δομές. Τα τριμερή στη συνέχεια εισέρχονται στον πυρήνα και προσδένονται στα HSEs όπου και φωσφορυλιώνονται περαιτέρω. Αυτό εκκινεί την διαδικασία μεταγραφής και μετάφρασης. Οι νεοσυντιθέμενες HSP προσδένουν τα HSFs, εφόσον δεν συνεχίζουν να επικρατούν οι στρεσογόνες συνθήκες, ώστε να ανασταλεί η έκφραση του γονιδίου. Η περιοχή της πρωτεΐνης HSP-70 είναι πολύ σημαντική για τον ρόλο της εν λόγω πρωτεΐνης ως μοριακού συνοδού, καθώς σε αυτή ακριβώς την περιοχή προσδένονται τα διάφορα πεπτίδια που πρέπει να μεταφερθούν στο εσωτερικό του κυττάρου από τα οργανίδια σύνθεσής τους, δηλαδή τα πολυριβοσώματα και τα ριβοσώματα. Είναι πολύ σημαντικό να αναφέρουμε στο σημείο αυτό ότι η HSP-70 περιέχει στο μόριό της 250 υπολείμματα κυστεΐνης, τα οποία λόγω των σουλφυδρυλίων που διαθέτουν εμφανίζουν ισχυρές αντιοξειδωτικές ιδιότητες και συνεπώς μπορούν να εξουδετερώσουν μεγάλο αριθμό ελευθέρων ριζών εν γένει, προστατεύοντας τα συνοδευόμενα πεπτιδικά μόρια.

Επειδή οι ενεργείς μορφές οξυγόνου και ενώσεων αυτού, όπως γενικότερα οι ελεύθερες ρίζες είναι μόρια τα οποία παράγονται με πολλούς μηχανισμούς που ενεργοποιούνται τόσο σε φυσιολογικές, όσο και σε παθολογικές φυσικές, βιολογικές και βιοχημικές διεργασίες

φαίνεται ότι οι πρωτεΐνες του θερμικού σοκ είναι γενικοί εκκαθαριστές ελευθέρων ριζών που επάγει το κύτταρο για να προστατευτεί από τα πολλαπλά φαινόμενα stress τα οποία συγκλίνουν πολύ συχνά σε μια τελική κατάληξη παραγωγής ζημιογόνων ελευθέρων ριζών. Η υπόθεση αυτή είναι, κατ' αρχάς, μια υπόθεση εργασίας, που ερευνάται εντατικά επί των ημερών μας.

HSP-70. Ρόλος

Ο κυριότερος ρόλος των HSP-70, εκτός από την προστασία του κυττάρου, είναι αυτός του μοριακού συνοδού (molecular chaperone). Τα μέλη της οικογένειας των HSP-70 συμμετέχουν σε δύο διακριτές λειτουργίες μοριακού συνοδού. Στην πρώτη αναλαμβάνουν τη μεταφορά των νεοσυντιθέμενων μη αναδιπλωμένων πρωτεϊνών προς μέλη της οικογένειας των HSP-60 και στη δεύτερη συμμετέχουν στην μετατόπιση πρωτεϊνών προς διαφορετικά κυτταρικά διαμερίσματα [Ferruccio Ritossa (1996), Mayer M.P, and Bukau (2005), Baoge Qu, (2015), Miller David J και συν. (2018)].

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο σκοπός της παρούσας εργασίας μας είναι η προσπόριση πειραματικών ενδείξεων και αποδείξεων ότι τα Ηλεκτρομαγνητικά Πεδία χαμηλών συχνοτήτων είναι σε θέση να προκαλέσουν στοχευμένα βιολογικά φαινόμενα επί της ανάπτυξης κακοήθων νεοπλασματικών κυττάρων, όπως:

- 1^{ον}) Μείωση του ρυθμού πολλαπλασιασμού τους
- 2^{ον}) Κυτταρικό θάνατο.
- 3^{ον}) Διαφοροποίηση.
- 4^{ον}) Μίμηση ιδιοτήτων χημικών ουσιών βιολογικής προέλευσης.

Τα πειράματα αυτά έλαβαν χώρα στο Εργαστήριο Φυσιολογίας μεταξύ 2013 έως 2019 και περιγράφονται στα σχετικά κατωτέρω κεφάλαια.

Η τεχνολογία που χρησιμοποιήθηκε είναι της περιόδου 1995 – 2004 και συνεπώς δεν περιλαμβάνει νέες μηχανές, αλλά οι υπάρχουσες ήταν πολύ καλά ρυθμισμένες και έδιναν επαναλήψιμες μετρήσεις σε συγκεκριμένες συσκευές ελέγχου της εξόδου.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Συσκευές

Multi-Channel Dynamic Exciter 100 VI:

Η συγκεκριμένη συσκευή αποτελείται από μία διάταξη επί μέρους ηλεκτρονικών συσκευών που καταγράφουν, αποθηκεύουν και εκπέμπουν ηλεκτρομαγνητικά πεδία. Η συνολική διάταξη περιλαμβάνει τον καταγραφέα - ανιχνευτή ηλεκτρομαγνητικού συντονισμού, την γεννήτρια εκπομπής (πομπός) καθώς και έναν ηλεκτρονικό υπολογιστή ο οποίος οδηγεί το σύστημα καταγραφής και εκπομπής και αποθηκεύει τις συχνότητες που πρόκειται να εκπεμφθούν.

Η συσκευή αποτελεί ένα ηλεκτρονικό κύκλωμα γεννήτριας συχνοτήτων ημιτονικών σημάτων που λειτουργεί στην περιοχή από 0 έως 1 MHz και δίνει έξοδο σε 100 κανάλια. Τα κανάλια εξόδου είναι σε μορφή τεσσάρων καρτών με καλωδιωταινία 25 κλώνων το καθένα και μήκους ενός μέτρου.

Για την εκτέλεση των πειραμάτων μας χρησιμοποιήθηκαν τέσσερις όμοιες διατάξεις συνδεδεμένες σειριακά, δηλαδή η μέγιστη ικανότητα εκπομπής ήταν 400 συχνότητες. Η ισχύς εξόδου ανά κανάλι είναι **8 mW** και η εκπομπή μπορεί να είναι είτε συνεχής είτε παλμική. Για τις ανάγκες του πειράματος χρησιμοποιήθηκε η συνεχής λειτουργία εκπομπής.

Για την πιστοποίηση της ασφάλειας της συσκευής, προτού χρησιμοποιηθεί μετρήθηκαν οι μέγιστες εντάσεις εκπομπής του ηλεκτρικού και του μαγνητικού πεδίου που αυτή παράγει από την Ελληνική Επιτροπή Ατομικής Ενέργειας. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι οι μέγιστες εντάσεις εκπομπής ευρίσκονται εντός των επιτρεπτών ορίων όπως αυτά καθορίζονται στην Κοινή Υπουργική Απόφαση των Υπουργών Ανάπτυξης, Περιβάλλοντος Χωροταξίας και Δημοσίων Έργων, Υγείας και Πρόνοιας και Μεταφορών και Επικοινωνιών (Φ.Ε.Κ., Αρ. 1105, Τεύχος Δεύτερο, 6 Σεπτεμβρίου 2000). Πιο συγκεκριμένα είναι από 75 έως 78 φορές μικρότερα στην περίπτωση της έντασης ηλεκτρικού πεδίου και από 279 έως 1724 φορές μικρότερα στην περίπτωση της έντασης μαγνητικού πεδίου.

Η διάταξη σχεδιάστηκε, υλοποιήθηκε και εξελίσσεται από τον κ. Χαβέλα και τους συνεργάτες του, οι οποίοι κατέχουν και τα πνευματικά δικαιώματα, όπως επίσης και την κυριότητα των συσκευών οι οποίες χορηγήθηκαν στο Εργαστήριο Φυσιολογίας για να μελετηθούν ως προς τις δράσεις τους επί συγκεκριμένων βιολογικών μοντέλων.

Κατά την διάρκεια των πειραμάτων μας προέκυψαν δεδομένα τα οποία εμπλούτισαν το λογισμικό της συσκευής ώστε αυτό να είναι ακριβέστερο ως προς τα αποτελέσματα των δράσεων του επί βιολογικών συστημάτων διαφόρων τύπων. Τα βιολογικά αυτά συστήματα ήσαν τα ακόλουθα:

1^{ον}) Ένζυμα προερχόμενα από κύτταρα ανθρώπου.

2^{ον}) Ουσίες ευρισκόμενες φυσιολογικά σε κύτταρα ανθρώπου και ζώων.

3^{ον}) Η σειρά κακοήθων νεοπλασματικών κυττάρων ερυθρολευχαιμίας K562 του ανθρώπου.

4^{ον}) Η σειρά κακοήθων νεοπλασματικών κυττάρων καρκίνου τραχήλου μήτρας HeLa ανθρώπου.

5^{ον}) Μια παραλλαγή κακοήθων νεοπλασματικών κυττάρων της σειράς HeLa με αποσιωπημένο το γονίδιο της πρωτεΐνης 70 του θερμικού σοκ (HSP-70).

6^{ον}) Φυσιολογικοί επίμυες Wistar.

Συνεπώς η μελέτη έλαβε χώρα σε ένα ευρύ τόξο βιολογικών συστημάτων και δομικών στοιχείων αυτών.

Στην παρακάτω φωτογραφία δείχνουμε μια εξωτερική άποψη του συστήματος καταγραφής, αποθήκευσης και εκπομπής των συχνοτήτων οι οποίες ελήφθησαν, διαμορφώθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν για την πραγματοποίηση των πειραμάτων μας.

Το σύστημα Multi-Channel Dynamic Exciter 100 V1



Κλωβός Faraday και συνοδές διατάξεις

Η συσκευή που χρησιμοποιήθηκε για την ηλεκτρομαγνητική απομόνωση των πειραματικών διαδικασιών ήταν ένας κλωβός Faraday με διαστάσεις 2,5X2,5X2,7 m, στον οποίο ετέθη ένας ξύλινος πάγκος δύο επιπέδων, όπου είχαν τοποθετηθεί τα τμήματα του συστήματος Multi Chanel Dynamic Exciter 100 V1 και άλλες μικρότερες συσκευές που ήσαν απαραίτητες για τα επιμέρους πειράματα.

Στο κάτω επίπεδο του πάγκου, σε γειτνίαση με τον πομπό της συσκευής και την κεραία της υπήρχε, ένας κατάλληλα διαμορφωμένος μικρός χώρος στον οποίο ετίθεντο είτε τα τρυβλία με τους τύπους των υπό μελέτη κυττάρων, είτε οι κλωβοί που περιείχαν τα πειραματόζωα. Στο εσωτερικό του κλωβού Faraday εισερχόταν δύο πλαστικοί σωλήνες που επικοινωνούσαν αντιστοίχως με φιάλες αερίων.

Τα τρυβλία μεταφερόταν από τον θάλαμο της κυτταροκαλλιέργειας μέσα σε μια μικρό κιβώτιο από πλεξιγκλάς διαστάσεων 30X40X30. Το κιβώτιο διέθετε επικάλυμμα που μπορούσε να ανοίξει προκειμένου να τοποθετηθούν τα τρυβλία με τα κύτταρα. Το επικάλυμμα αυτό έκλεινε αεροστεγώς με στρόφιγγες. Στο κέντρο του επικαλύμματος υπήρχε μικρή βαλβίδα στην οποία διερχόταν ο σωλήνας των αερίων και υπήρχε επίσης κατάλληλη υποδοχή όπου εισερχόταν ένα εργαστηριακό θερμόμετρο ακριβείας για την καταγραφή της θερμοκρασίας. Επίσης στη μία γωνία του κιβωτίου είχε τοποθετηθεί μια μικρή θερμαντική συσκευή, εφοδιασμένη με θερμοστάτη που κρατούσε σταθερή την θερμοκρασία του κιβωτίου στους 37 °C. Επί αυτής ήταν τοποθετημένο ένα μικρό δοχείο με ύδωρ, που θερμαινόταν επίσης από την συσκευή, ώστε η εξάτμιση του ύδατος να εξασφαλίζει επαρκή υγρασία στην ατμόσφαιρα. Στο εσωτερικό του κιβωτίου εισερχόταν τρία έως πέντε τρυβλία με ζώντα κύτταρα σε κατάλληλο στατήρα. Το κιβώτιο είχε απολυμανθεί καταλλήλως σε διαλύματα αιθανόλης 70% αρχικά και κατόπιν με λυχνίες υπεριώδους. Από δοκιμαστικά πειράματα είχαμε διαπιστώσει ότι διατηρούσε σταθερή θερμοκρασία 37°C σταθερά. Στο εσωτερικό του κλωβού Faraday υπήρχε επίσης ένα μικρό υδατόλουτρο σταθεροποιημένο στους 37°C. Για να μην επηρεάζονται τα χρησιμοποιούμενα υπό μελέτη κύτταρα εντός του κιβωτίου από την οπτική ακτινοβολία, το κιβώτιο σκεπαζόταν εξ ολοκλήρου με ένα κάλυμμα αδιαφανούς και παχέος υφάσματος από μαύρες ίνες τεφλόν. Ο συνολικός κλωβός Faraday σκεπαζόταν από φύλλα διαφανούς πλαστικού, ώστε να εμφανίζει μια σχετική θερμική απομόνωση. Επίσης στην οροφή και στις

εσωτερικές του γωνίες ήταν τοποθετημένες λάμπες υπεριώδους ακτινοβολίας, ώστε, όταν τα πειράματα τελείωναν τις ανάβαμε για να αποστειρώνουμε το εσωτερικό του. Συνολικά ο κλωβός ήταν τοποθετημένος στο εσωτερικό ενός προκατασκευασμένου δωματίου, που ευρίσκετο σε υπόγειο χώρο κάτω από το Εργαστήριο Φυσιολογίας δύο ορόφους υπό την επιφάνεια του εδάφους. Ο πέριξ χώρος του δωματίου αυτού ήταν κατασκευασμένος από τσιμεντένιο σκυρόδεμα μεγάλου πάχους, οπότε υπήρχε ουσιαστική ηλεκτρομαγνητική θωράκιση πεδίων προερχομένων από άλλες συσκευές και καλώδια υψηλής τάσης, εξωτερικά του κτηρίου.

Έλεγχος της ηλεκτρομαγνητικής στεγανότητας του κλωβού Faraday

Είναι πολύ σημαντικό να υπογραμμίσουμε ότι ελήφθη μέριμνα για την εξασφάλιση της πλήρους ομοιότητας των πειραματικών συνθηκών. Στο σημείο αυτό ο κλωβός Faraday που χρησιμοποιήσαμε ελέγχθηκε πολλές φορές με τους εξής τρόπους:

1^{ov}) Χρησιμοποιήθηκε ανιχνευτής ηλεκτρομαγνητικών πεδίων (EDISION Multi Finder & EDISION Digital Salt Finder SDF-1)

2^{ov}) Χρησιμοποιήθηκε ένας ισχυρός δέκτης του ραδιοφωνικού φάσματος σε όλες της γνωστές περιοχές αυτού (FIRST AUSTRIA FA 1907-2, Αναλογικός δέκτης).

3^{ov}) Χρησιμοποιήθηκαν κινητά τηλέφωνα διαφόρων τύπων και εταιρειών τα οποία τοποθετήθηκαν και γινόταν κλήσεις προς αυτά από το εξωτερικό του κλωβού.

4^{ov}) Χρησιμοποιήθηκαν ακόμη κινητά τηλέφωνα διαφόρων τύπων και εταιρειών με τα οποία καλούσαμε από το εσωτερικό του κλωβού Faraday συγκεκριμένους αριθμούς ευρισκόμενους εντός και εκτός του Εργαστηρίου Φυσιολογίας, προκειμένου να δούμε αν υπάρχει δυνατότητα εξόδου σήματος κινητού τηλεφώνου από τον κλωβό Faraday.

Είναι γνωστό ότι τα κινητά επικοινωνούν πάντα μέσω κάποιου κέντρου, ωστόσο πολύ συχνά υπάρχουν παρεμποδίσεις στην τηλεφωνική μετάδοση οφειλόμενες σε πολλές αιτίες. Η χρήση όλων αυτών των συσκευών έγινε προκειμένου να ελέγξουμε το κατά πόσον ο κλωβός Faraday ήταν ή όχι περατός σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία ενός μεγάλου τόξου συχνοτήτων.

Η χρήση των συσκευών αυτών δεν αποτελούσε μια μέθοδο ακριβείας για την διαπίστωση της ηλεκτρομαγνητικής στεγανότητας του κλωβού Faraday καθόσον τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία τα οποία χρησιμοποιήθηκαν είχαν συχνότητες χαμηλές, κυμαινόμενες μεταξύ λίγων εκατοντάδων Hz και 100.000 Hz κατά προσέγγιση. Τα εν λόγω μηχανήματα καταγραφής ηλεκτρομαγνητικών πεδίων δεν καταγράφουν αυτές τις μικρές συχνότητες που χρησιμοποιήσαμε. Ωστόσο ελλείπει της κατάλληλης υποδομής και λόγω της οικονομικής στενότητας του Εργαστηρίου χρησιμοποιήθηκαν ως ενδεικτικές συσκευές και όχι ως συσκευές ακριβείας για να δούμε αν ο κλωβός σταματά γενικά τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία των υψηλότερων συχνοτήτων. Αυτό θα μπορούσε να χρησιμεύσει ενδεχομένως μια ένδειξη ότι ο κλωβός θα μπορούσε να εμποδίζει και μικρότερες συχνότητες. Ωστόσο ως μέσα τα θεωρούμε χονδροειδή και συνεπώς ανακριβή για τον πλήρη εντοπισμό της ηλεκτρομαγνητικής στεγανότητας του κλωβού Faraday.

Τα δεδομένα έδειξαν ότι ο κλωβός Faraday εμφάνιζε και εξασφάλιζε στεγανότητα στην ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία ραδιοφωνικού τύπου κατά την διαδρομή των εν λόγω πειραμάτων, καθόσον όλα τα πειράματα εμφάνισαν υψηλή επαναλειψιμότητα όταν χρησιμοποιούσαμε τις επιλεγμένες συχνότητες, ενώ με άλλες συχνότητες δεν παρατηρούσαμε κάποιες τακτικές δράσεις, εξαιρουμένου του τυχαίου ηλεκτρομαγνητικού φάσματος η δράση του οποίου μείωνε την βιωσιμότητα των καλλιεργούμενων κυττάρων.

Τα σύνολα των συχνοτήτων που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα

Στα πειράματά μας εντοπίσαμε μέσω του διερευνητικού τμήματος της συσκευής Multi-Channel Dynamic Exciter-100 V1 τέσσερα διαφορετικά σύνολα συχνοτήτων συντονισμού, που κατόπιν αποθηκεύσαμε στον υπολογιστή και χρησιμοποιήσαμε για τις απαραίτητες εκπομπές των πειραμάτων μας. Τα σύνολα αυτά φαίνονται στους κατωτέρω πίνακες:

ΠΙΝΑΚΑΣ Ι: Συχνότητες ανθρώπινης ερυθροποιητίνης

ΑΥΞΩΝ ΑΡΙΘΜΟΣ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ ΣΕ Hz	ΑΥΞΩΝ ΑΡΙΘΜΟΣ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ ΣΕ Hz	ΑΥΞΩΝ ΑΡΙΘΜΟΣ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ ΣΕ Hz
1	10624	33	42826	65	69005
2	11548	34	43750	66	69929
3	12669	35	44573	67	70554
4	13292	36	45398	68	71379
5	14015	37	46232	69	72103
6	14538	38	47155	70	72737
7	14592	39	48288	71	73361
8	16415	40	49021	72	73895
9	17548	41	49944	73	74519
10	18862	42	50697	74	75242
11	20086	43	51691	74	75865
12	21419	44	52425	76	76387
13	22560	45	53448	77	76911
14	23683	46	54972	78	77445
15	24916	47	54885	79	78168
16	25939	48	55838	80	78892
17	27506	49	56671	81	79515
18	28542	50	57785	82	80238
19	29965	51	58628	83	81063
20	31288	52	59352	84	81786
21	32312	53	60176	85	82409
22	33535	54	61099	86	83235
23	34458	55	61932	87	83859
24	35081	56	62665	88	84492
25	35804	57	62489	89	85116
26	36638	58	64122	90	85840
27	37361	59	64844	91	86464
28	38294	60	65377	92	86987
29	39026	61	66101	93	87610
30	40148	62	66734	94	88334
31	41171	63	67558	95	88957
32	41993	64	68282	96	89782
				97	90513
				98	91972
				99	92695
				100	93420

ΠΙΝΑΚΑΣ II Συχνότητες ανθρώπινης πρωτεΐνης 70 του θερμικού σοκ (HSP-70)

ΑΥΞΩΝ ΑΡΙΘΜΟΣ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ ΣΕ Hz	ΑΥΞΩΝ ΑΡΙΘΜΟΣ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ ΣΕ Hz	ΑΥΞΩΝ ΑΡΙΘΜΟΣ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ ΣΕ Hz	ΑΥΞΩΝ ΑΡΙΘΜΟΣ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ ΣΕ Hz
1	10656	33	34741	65	56622	97	81317
2	11479	34	35365	66	57245	98	82041
3	12203	35	35889	67	57968	99	82965
4	12826	36	36513	68	58894	100	83788
5	13549	37	37137	69	59718	101	84511
6	14472	38	37861	70	60442	102	85235
7	15196	39	38585	71	61066		
8	16019	40	39408	72	61790		
9	16742	41	40132	73	62513		
10	17465	42	40955	74	63137		
11	18190	43	41678	74	63662		
12	18913	44	42402	76	64386		
13	19647	45	43125	77	65843		
14	20270	46	43849	78	66666		
15	20893	47	44583	79	67389		
16	21516	48	45407	80	68124		
17	22139	49	46131	81	68946		
18	23073	50	45853	82	69770		
19	23706	51	47477	83	70494		
20	24428	52	48001	84	71316		
21	25249	53	48725	85	71949		
22	25873	54	49449	86	72584		

Συνέχεια ΠΙΝΑΚΑ II

ΑΥΞΩΝ ΑΡΙΘΜΟΣ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ ΣΕ Hz	ΑΥΞΩΝ ΑΡΙΘΜΟΣ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ ΣΕ Hz	ΑΥΞΩΝ ΑΡΙΘΜΟΣ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ ΣΕ Hz	ΑΥΞΩΝ ΑΡΙΘΜΟΣ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ ΣΕ Hz
23	26807	55	50074	87	73107		
24	27630	56	50697	88	73830		
25	28453	57	51320	89	74653		
26	29376	58	52044	90	75377		
27	30200	59	52566	91	76102		
28	31023	60	53190	92	77066		
29	31746	61	53816	93	77689		
30	32469	62	54640	94	78323		
31	33193	63	55363	95	79670		
32	33917	64	55997	96	80493		

ΠΙΝΑΚΑΣ III: Συχνότητες συντονισμού της αίμης

ΑΥΞ ΑΡΙΘ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ	ΑΥΞ ΑΡΙΘΜ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ	ΑΥΞ ΑΡΙΘΜ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ
1	10924	33	35796	64	60621
2	11847	34	36519	65	61345
3	12770	35	37144	66	61880
4	13493	36	37768	67	62704
5	14215	37	38391	68	63527
6	14837	38	39115	69	64252
7	15461	39	39838	70	65376
8	16284	40	40363	71	66280
9	17008	41	40987	72	67205
10	18030	42	41612	73	67829
11	18853	43	42334	74	68454
12	19476	44	42957	75	69179
13	20199	45	43479	76	70204
14	20732	46	44203	77	71326
15	21447	47	44829		
16	22071	48	45555		
17	22795	49	46179		
18	23419	50	47003		
19	24344	51	47826		
20	25268	52	48450		
21	26092	53	49174		
22	27015	54	50734		
23	28562	55	51559		
24	29286	56	52283		
25	30108	57	53108		
26	30931	58	53830		
27	31554	59	54654		
28	32278	60	55577		
29	32902	61	56501		
30	33525	62	57425		
31	34148	63	58249		
32	34973	64	59897		

ΠΙΝΑΚΑΣ IV: Συχνότητες του 13-CIS-ρετινοϊκού οξέος

ΑΥΞ ΑΡΙΘ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ	ΑΥΞ ΑΡΙΘ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ	ΑΥΞ ΑΡΙΘ	ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ
1	10825	33	41102	65	69965
2	11945	34	41825	66	70888
3	12772	35	42449	67	71511
4	13694	36	43073	68	72435
5	14717	37	43897	69	73058
6	15538	38	44823	70	73983
7	16561	39	45747	71	74505
8	17385	40	46571	72	75128
9	18400	41	47396	73	75542
10	19466	42	48320	74	76365
11	20508	43	48950	74	76988
12	21610	44	49775	76	77512
13	22333	45	50700	77	78236
14	23156	46	51624	78	79062
15	24079	47	52548	79	79785
16	24707	48	53374	80	80610
17	25527	49	54297	81	81533
18	26349	50	55222	82	82357
19	27472	51	56345	83	82883
20	28395	52	57268	84	83609
21	29520	53	58293	85	84235
22	30743	54	59526	86	84960
23	31667	55	60751	87	85584
24	32790	56	61845	88	86408
25	33814	57	62978	89	87234
26	34637	58	63902	90	88058
27	35662	59	64624	91	88885
28	36584	60	65449	92	89708
29	37808	61	66172	93	90332
30	38731	62	67095	94	91155
31	39555	63	68018	95	92212
32	40378	64	68942	96	93043
				97	93666
				98	94492
				99	95317
				100	96250
				101	96275
				102	97901
				103	98625
				104	99150
				105	100374

Κακοήθεις Νεοπλασματικές Κυτταρικές Σειρές He La, HeLa siRNA HSP-70 και κύτταρα χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας ανθρώπου σειράς K562.

Κακοήθη νεοπλασματικά κύτταρα καρκίνου τραχήλου μήτρας ανθρώπου HeLa

Η HeLa είναι μία από τις πιο γνωστές και καλά χαρακτηρισμένες κυτταρικές σειρές που χρησιμοποιούνται σήμερα στην έρευνα. Πρόκειται για καρκινικά κύτταρα του τραχήλου της μήτρας τα οποία απομονώθηκαν το 1951 από την καρκινοπαθή Henrietta Lacks και καλλιεργήθηκαν για την μελέτη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, δίνοντας έτσι γένεση των κυτταρικών καλλιεργειών νεοπλασματικών κυττάρων ανθρώπου. Η δωρητής της εν λόγω κακοήθους σειράς κατέληξε από την νόσο, αλλά τα κύτταρά της έχουν χρησιμοποιηθεί σε δεκάδες χιλιάδες επιστημονικών μελετών.

Η κυτταρική σειρά HeLa χαρακτηρίζεται ως «αθάνατη» καθώς, δεδομένου ότι καλλιεργείται σε κατάλληλες συνθήκες, μπορεί να διαιρείται επ' άπειρον, όπως συμβαίνει και με όλες τις κακοήθεις νεοπλασματικές σειρές. Διαθέτουν ενεργή τελομεράση η οποία δρα κατά την μίτωση και αποκαθιστά το μήκος των τελομερών, παρακάμπτοντας έτσι τον περιορισμό του Hayflick και εμποδίζοντας με τον μηχανισμό αυτό τον θάνατο των συγκεκριμένων κυττάρων, λόγω αποκοπής τμημάτων των τελομερών τους ανά κυτταρικό κύκλο. Σημειωτέον ότι ο περιορισμός του Hayflick συνίσταται στο ότι τα κύτταρα μπορούν να αναπαράγονται εφ' όσον τα τελομερή τους είναι ακέραια, οπότε η σμίκρυνση και η εξαφάνισή τους οδηγεί στην απώλεια γενετικού υλικού και στον αυτόματο θάνατο των κυττάρων. Το φαινόμενο αυτό καθορίζει τον αριθμό των κυτταρικών διαιρέσεων που μπορεί να πραγματοποιήσει ένα κύτταρο, αλλά και γενικότερα ο συνολικός αριθμός των κυττάρων ενός πολυκύτταρου οργανισμού. Το μήκος των τελομερών μπορεί να αυξηθεί μέσω έκφρασης του γονιδίου που παράγει το ένζυμο τελομεράση η οποία αυξάνει το μέγεθος των τελομερών. Το ένζυμο αυτό εξακολουθεί και εκφράζεται υψηλά στα κακοήθη κύτταρα, πράγμα που δεν ισχύει για τα φυσιολογικά κύτταρα των περισσότερων οργανισμών, συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπου. Για τον λόγο αυτό υπάρχει ο αέναος πολλαπλασιασμός των κακοήθων νεοπλασματικών κυττάρων, ενώ όλα τα φυσιολογικά κύτταρα του ανθρώπινου οργανισμού από το σημείο της πρώτης τους διαίρεσης – την διαίρεση του ζυγώτη – φαίνεται να μην μπορούν να διαιρεθούν περισσότερο από 50 – 60 φορές. Συνεπώς η συνολική διάρκεια ζωής ενός φυσιολογικού πολυκύτταρου οργανισμού, εξαρτάται κυρίως από τον ρυθμό των κυτταροδιαιρέσεων, τις μεταλλάξεις του DNA που δεν επιδιορθώνονται, με συνέπεια την απώλεια προσαρμοστικών ικανοτήτων λόγω βλαβών στα

γονίδια, τις αντίστοιχες πρωτεΐνες που κωδικοποιούν, καθώς και τις βιοχημικές, δομικές και εν γένει κυτταρικές λειτουργίες που αυτές επιτελούν στο εσωτερικό των κυττάρων. Οι κυτταρικές βλάβες οδηγούν σε υψηλή μεταγραφή του DNA, σε υψηλές ταχύτητες των εκφράσεων των ενζύμων της αποκατάστασης των βλαβών, σε βράχυνση της διάρκειας ζωής των κυττάρων, σε ανάγκη αύξησης του ρυθμού μιτώσεων για την αποκατάσταση των θανατωθέντων κυττάρων και συνεπώς σε ταχεία μείωση του αριθμού των διαιρέσεων που έχει στην διάθεσή του κάθε κύτταρο του οργανισμού. Όταν αυτό γενικεύεται σε όλα τα κύτταρα ταχέως αυτά μειώνονται σε αριθμούς και τελικά η διάρκεια ζωής του πολυκύτταρου οργανισμού βραχύνεται.

Το γονιδίωμα των κυττάρων HeLa διαφέρει σημαντικά από εκείνο των φυσιολογικών ανθρώπινων κυττάρων. Οι βαρείες μεταβολές του γονιδιώματος είναι σε επίπεδο αριθμού χρωμοσωμάτων και έχει προκύψει μέσω οριζόντιας γονιδιακής μεταφοράς από τον καρκινογόνο ιό των ανθρώπινων θηλωμάτων (Human Papilloma Virus, HPV-18), μετά από επιτυχή προσβολή κυττάρων τραχήλου μήτρας. Το κακόηθες νεοπλασματικό κύτταρο HeLa φέρει τέσσερα αντίγραφα του χρωμοσώματος 12 και από τρία αντίγραφα των χρωμοσωμάτων 6, 8 και 17. Είναι δηλαδή ένα κύτταρο με μεγαλύτερο αριθμό χρωματοσωμάτων. Στο μεγάλο χρονικό διάστημα κατά το οποίο τα κύτταρα αυτά χρησιμοποιούνται καλλιεργούμενα πειραματικά έχει αποδειχθεί ότι το γονιδίωμά τους παρουσιάζεται πολύ σταθερό (γονιδίωμα κυττάρων HeLa).

Όταν τα κύτταρα HeLa υποβάλλονται σε ένα θερμικό stress τότε λαμβάνει χώρα μια αξιόλογη σειρά αποκρίσεων εκ μέρους τους, η οποία σχηματικά έχει ως εξής:

1^{ον}) Αρχικά λαμβάνει χώρα μια μείωση του συνολικού ρυθμού της σύνθεσης των πρωτεϊνών τους. Η μείωση αυτή είναι σημαντική και κυμαίνεται σε ποσοστά εμπεριεχόμενα στο τόξο μεταξύ 20% και 35%.

2^{ον}) Παράλληλα αρχίζει η μεταγραφή μιας εκλεκτικής σειράς γονιδίων κατά κύριο λόγο αυτών που περιέχουν την γενετική πληροφορία των πρωτεϊνών 70, 90 και 25 του θερμικού σοκ.

3^{ον}) Η σύνθεση των πρωτεϊνών, που προηγουμένως είχε μειωθεί, κατόπιν γίνεται πολύ έντονη και υπερβαίνει τον ρυθμό που είχε πριν την εγκατάσταση της θερμικής καταπόνησης. Η αύξηση της σύνθεσης των εν λόγω πρωτεϊνών οδηγείται από τα αντίστοιχα mRNA για τις πρωτεΐνες 70, 90 και 25 που προαναφέραμε.

4^{ον}) Η αύξηση της σύνθεσης των πολυπεπτιδίων του θερμικού σοκ διαρκεί 3 με 5 ώρες μετά την έναρξη του θερμικού σοκ. Για θερμικά σοκ μικρής διάρκειας όμως, τα κύτταρα HeLa επανέρχονται γρήγορα σε φυσιολογικούς ρυθμούς πρωτεϊνοσύνθεσης.

H κυτταρική σειρά HeLa siRNA HSP-70

Η σειρά αυτή προέρχεται από κύτταρα HeLa. Στα εν λόγω κύτταρα το γονίδιο της πρωτεΐνης HSP-70 έχει αποσιωπηθεί κατόπιν διαμόλυνσης αυτών με τεχνητό πλασμίδιο το οποίο φέρει μία περιοχή συμπληρωματική ως προς το mRNA της πρωτεΐνης. Το προϊόν αυτής της περιοχής καλείται μικρό παρεμβαλλόμενο RNA (small interfering RNA, siRNA) και με τη μεταγραφή του ουσιαστικά προκύπτουν δίκλιωνα τμήματα του mRNA της HSP-70, εμποδίζοντας κατ' αυτόν τον τρόπο τη μεταγραφή του. Η επιτυχής σίγαση του γονιδίου έχει ελεγχθεί με πολλαπλά αποτυπώματα κατά Western. Τα κύτταρα αυτά, λόγω απουσίας της πρωτεΐνης HSP-70, αδυνατούν να επιβιώσουν κάτω από ήπια θερμικά ή οξειδωτικά στρες, αλλά παρουσιάζουν κανονική ανάπτυξη καλλιεργούμενα υπό φυσιολογικές συνθήκες.

H κυτταρική σειρά K562

Η συγκεκριμένη κυτταρική σειρά προέρχεται από κύτταρα χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας (CML). Η σειρά αυτή αναπαράγεται αενάως, δηλαδή τα κύτταρά της είναι αθανατοποιημένα, σε ό,τι αφορά την ικανότητα διαρκούς αναπαραγωγής, σε αντίθεση με τα φυσιολογικά αρχέγονα κύτταρα του μυελού των οστών τα οποία μπορούν να διαιρεθούν έναν περιορισμένο αριθμό διαιρέσεων και κατόπιν πεθαίνουν λόγω φθοράς των τελομερών και απώλειας γενετικού υλικού από τα άκρα των χρωματοσωμάτων, διαδικασία που γίνεται βραδέως σε κάθε κυτταρικό κύκλο. Τα εν λόγω κύτταρα καλλιεργούνται σε τακτική κυτταροκαλλιέργεια στο εσωτερικό επωαστή υπό θερμοκρασία 37°C, και τεχνητή ατμόσφαιρα με περιεκτικότητα 95% O₂ και 5% CO₂.

Για την πραγματοποίηση της σειρά των πειραμάτων που αφορούσαν τα νεοπλασματικά κύτταρα K562 (πειράματα διαφοροποίησης) χρησιμοποιήθηκαν οι διατάξεις της κυτταροκαλλιέργειας τις οποίες περιγράψαμε ανωτέρω, οι διατάξεις του κλωβού Faraday και του κιβωτίου μεταφοράς και διατήρησης των τρυβλίων που έφεραν τα εν λόγω κύτταρα, το σύστημα Multi Chanel Dynamic Exciter 100 V1 καθώς και τις ακόλουθες ουσίες και αντιδραστήρια:

- 1) Θρεπτικό υλικό: Iscove's Modified Dulbecco's Medium εμπλουτισμένο με 10% Ορού Εμβρύου Μόσχου (Fetal Bovine Serum) και 1% L-γλουταμίνη.
- 2) Υγρό έκπλυσης: PBS (phosphate buffer saline)
- 3) Ορός εμβρύου μόσχου: FBS (Fetal Bovine Serum)
- 4) Αιμοσφαιρίνη
- 5) Αιμίνη
- 7) Ερυθροποιητίνη του ανθρώπου
- 8) Αιματοπορφυρίνη
- 9) 13-cis-ρετινοϊκό οξύ
- 10) Διμεθύλ – σουλφοξείδιο (DMSO)
- 11) 2,7-διαμινοφθορένιο

Επίσης χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα εργαστηριακά σκεύη, εργαλεία και χρωστικές:

- 1) Φυγοκεντρικοί πλαστικοί σωλήνες με πώμα όγκου 15 ml
- 2) Φυγοκεντρικοί σωλήνες κωνικοί από πολυπροπυλένιο των 50 ml
- 3) Μια σειρά αυτόματων ορολογικών πιπετών 5, 10, 25 ml.
- 4) Μια σειρά μικρομετρικές πιπέτες Gilson χωρητικότητας 2 -20, 10-200, 100 -1000 μL .
- 5) Χρωστική Trypan blue
- 6) Χρωστική Giemsa.
- 7) Τρυβλία ιστοκαλλιέργειας 10 ml.
- 8) Τρυβλία 24 φρεατίων.
- 9) Τρυβλία 96 φρεατίων.
- 10) Πλάκες Neubauer.
- 11) Μικροσκόπιο Olympus.
- 12) Μικροσκόπιο Κυτταροκαλλιέργειας.

Τα χημικά υλικά καθώς και τα υλικά της κυτταροκαλλιέργειας ελήφθησαν από τις εταιρείες SIGMA – ALDRICH, SERVA, MERK.

Επίσης για την θραύση των κυττάρων χρησιμοποιήσαμε μια διάταξη ηχοβόλησης με υπερήχους, όπως επίσης αιφνίδια ψύξη των φυγονετριθέντων κυττάρων στο υγρό άζωτο (θερμοκρασία – 196 °C) και κατόπιν σύνθλιψη σε εργαστηριακό γουδί με τεφλόν.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΣΧΕΤΙΚΑ ΜΕ ΤΗΝ ΠΡΩΤΕΪΝΗ ΤΟΥ ΘΕΡΜΙΚΟΥ ΣΟΚ (HSP-70)

Οι βασικοί σκοποί των πειραμάτων ήσαν οι ακόλουθοι:

1^{ον}) Να μελετηθεί αφενός η επίδραση της ασθενούς ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στην έκφραση και δράση της πρωτεΐνης οξείας φάσης HSP-70 σε ανθρώπινα κύτταρα

2^{ον}) Να μελετηθεί αν είναι δυνατή η μίμηση της δράσης της πρωτεΐνης HSP-70 εκθέτοντας κύτταρα HeLa σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία διαμορφωμένα σύμφωνα με συχνότητες μοριακού συντονισμού της πρωτεΐνης HSP-70.

Για την πραγματοποίηση του πειράματος επιλέξαμε την ανθρώπινη νεοπλασματική σειρά κυτταρική σειρά HeLa, η οποία προέρχεται από καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Η εν λόγω σειρά είναι πολύ μελετημένη και καλά χαρακτηρισμένη. Τα κύτταρα που την αποτελούν εμφανίζουν έναν συγκεκριμένο, προβλέψιμο και σταθερό ρυθμό ανάπτυξης, πράγμα το οποίο δίνει ένα προνόμιο ομοιομορφίας των επαναλήψεων των πειραμάτων που εγγυάται την επαναληπτικότητα της συμπεριφοράς των αποκρίσεων των κυττάρων μετά από χορήγηση δοσομετρημένου θερμικού στρες. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η ήδη υπάρχουσα βιβλιογραφία μελετών αντιδράσεων των κυττάρων HeLa σε στρες είναι εκτεταμένη.

Για το δεύτερο σκέλος του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν γενετικά τροποποιημένα κύτταρα HeLa, στα οποία το γονίδιο της HSP-70 έχει αποσιωπηθεί χρησιμοποιώντας ειδικά σχεδιασμένα siRNA. Η εν λόγω κυτταρική σειρά βρισκόταν στις διαθέσιμες σειρές των κυττάρων του Εργαστηρίου Φυσιολογίας. Τα κύτταρα αυτά δεν παράγουν ανιχνεύσιμη ποσότητα πρωτεΐνης HSP-70 και αδυνατούν να επιβιώσουν ακόμη και σε ήπιες αυξήσεις της θερμοκρασίας τους άνω των 37°C.

A. Πειραματικά Υλικά:

- 1) Θρεπτικά διαλύματα τύπου Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM)
- 2) Τρυβλία ιστοκαλλιέργειας 100 mm και πολυτρυβλία 24 φρεατίων.
- 3) Trypsin – EDTA.
- 4) HSP-70.
- 5) Ορός βόειου εμβρύου (Fetal Bovine Serum, FBS)

- 6) Χρωστική Trypan Blue
- 7) Χρωστική Giemsa
- 8) Ορολογικές πιπέτες ακριβείας (20 µl, 100 µl, 200 µl, 5,10, 25 ml)
- 9) Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (Phosphate Buffered Saline)
- 10) Διμεθυλικό σουλφοξείδιο (Dimethyl Sulfoxide – DMSO)
- 11) Σωληνάρια φυγοκέντρωσης πλαστικά 15 ml
- 12) Σωληνάρια κρυοσυντήρησης (Cryotubes)
- 13) Μικρομετρικές πιπέτες Gilson 2-20,10-200,100-1000 ml
- 14) Πλάκες Neubauer για μικροσκόπηση
- 15) Μικροσκόπιο Olympus

Τα κύτταρα HeLa καθώς και τα γενετικά τροποποιημένα HeLa siRNA HSP-70 καλλιεργήθηκαν σε τρυβλία ιστοκαλλιέργειας χρησιμοποιώντας θρεπτικά μέσα DMEM εμπλουτισμένα με 10% FBS. Η συγκέντρωσή τους στα τρυβλία διατηρούνταν σε χαμηλά επίπεδα, $0,5 - 1 \times 10^6$ κύτταρα, με ανακαλλιέργειας σε τακτά χρονικά διαστήματα για την αποφυγή πρόκλησης στρες λόγω υπερπληθυσμού.

Σχήμα Ανακαλλιέργειας

1. Αναρρόφηση του υπάρχοντος θρεπτικού
2. Πλύση του τρυβλίου με 10 ml PBS
3. Κατεργασία των κυττάρων με 1 ml Trypsin - EDTA για να αποκολληθούν από το τρυβλίο
4. Προσθήκη 10 ml νέου θρεπτικού
5. Ανάδευση με χρήση αντλίας για ομογενοποίηση του κυτταρικού αιωρήματος
6. Απομάκρυνση της ανεπιθύμητης ποσότητας κυττάρων (συνήθως 90%)
7. Προσθήκη της ανάλογης ποσότητας νέου θρεπτικού.

Κρυοδιατήρηση

1. Αναρρόφηση του υπάρχοντος θρεπτικού
2. Πλύση του τρυβλίου με 10 ml PBS
3. Κατεργασία των κυττάρων με 1 ml Trypsin - EDTA για να αποκολληθούν από το τρυβλίο
4. Προσθήκη 10 ml PBS
5. Ανάδευση με χρήση αντλίας για ομογενοποίηση του κυτταρικού αιωρήματος
6. Μεταφορά του αιωρήματος σε πλαστικό φυγοκεντρικό σωληνάριο και φυγοκέντρηση για 5 min στις 3000 στροφές
7. Αναρρόφηση του υπερκειμένου
8. Ομογενοποίηση του κυτταρικού ιζήματος σε 1 ml FBS εμπλουτισμένο με 10% DMSO
9. Μεταφορά του αιωρήματος σε κρυοσωληνάρια.
10. Μεταφορά των κυττάρων στους -80°C για τουλάχιστον 24 ώρες
11. Για κρυοσυντήρηση διάρκειας πέραν των 3 μηνών μεταφορά στους -270°C (Εντός δοχείων περιέχοντος υγρό άζωτο)

Σπορά σε πολυτρυβλία:

1. Αναρρόφηση του υπάρχοντος θρεπτικού.
2. Πλύση του τρυβλίου με 10 ml PBS.
3. Κατεργασία των κυττάρων με 1 ml Trypsin - EDTA για να αποκολληθούν από το τρυβλίο.
4. Προσθήκη 10 ml νέου θρεπτικού.
5. Ανάδευση με χρήση αντλίας για ομογενοποίηση του κυτταρικού αιωρήματος.
6. Υπολογισμός του αριθμού των κυττάρων στο αιώρημα με χρήση πλάκας Neubauer.
7. Προσθήκη της κατάλληλης ποσότητας αιωρήματος σε κάθε θέση του πολυτρυβλίου ούτως ώστε ο αριθμός των κυττάρων να ανέρχεται σε 20.000.
8. Συμπλήρωση με την κατάλληλη ποσότητα θρεπτικού ούτως ώστε ο τελικός όγκος σε κάθε θέση να ανέρχεται σε 1 ml.

Μέτρηση της κυτταρικής ανάπτυξης από πολυτροβλίο

- 1 Αναρρόφηση του υπάρχοντος θρεπτικού από τις επιθυμητές θέσεις.
- 2 Πλύση των θέσεων με 1 ml PBS.
- 3 Κατεργασία των κυττάρων με 250 μί Trypsin - EDTA για να αποκολληθούν από το τρυβλίο.
- 4 Προσθήκη 250 μί PBS και ανάδευση για ομογενοποίηση του κυτταρικού αιωρήματος.
- 5 Προσθήκη 500 μί Trypan blue (τελικός όγκος σε κάθε θέση 1 ml) και αναμονή 5 λεπτών.
- 6 Υπολογισμός του αριθμού των ζωντανών κυττάρων σε κάθε θέση με χρήση πλάκας Neubauer. Τα κύτταρα που έχουν βαφτεί από τη χρωστική είναι νεκρά ή αποπτωτικά και δεν προσμετρώνται.

Ικανότητα Σχηματισμού Αποικιών από τα Επιβιώσαντα Κύτταρα

1. Σπορά μικρής ποσότητας των επιθυμητών κυττάρων σε τρυβλίο και διατήρηση στην καλλιέργεια μέχρι να σχηματισθούν αποικίες (συνήθως 10 μέρες).
2. Αναρρόφηση του υπάρχοντος θρεπτικού.
3. Πλύση του τρυβλίου με 10 ml PBS.
4. Προσθήκη 10 ml μίγματος Μεθανόλης - Οξικού οξέος 3:
5. Τοποθέτηση του τρυβλίου στους -18°C για 10 min.
6. Αναρρόφηση του μίγματος και τοποθέτηση του τρυβλίου σε θερμοκρασία δωματίου ανοιχτό μέχρι να στεγνώσει τελείως.
7. Προσθήκη 10 ml χρωστικής Giemsa αραιωμένη με θερμό νερό βρύσης σε αναλογία 1:10.
8. Μετά από 30 min αναρρόφηση της χρωστικής και πλύσιμο του τρυβλίου με νερό.
9. Στέγνωμα του τρυβλίου και κατόπιν φωτογράφιση αυτού και μέτρηση των αποικιών του με στερεοσκόπιο.

Μη θανατηφόρο θερμικό σοκ:

1. Στεγανοποίηση των τρυβλίων με την χρήση αποστειρωμένου Parafilm.
2. Τοποθέτηση αυτών καταλλήλως σε υδατόλουτρο ρυθμισμένο και μετρημένο κατ' επανάληψη ώστε να έχει σταθερή θερμοκρασία $43^{\circ}\text{C} + 0,5^{\circ}\text{C}$ για χρόνο μιας ώρας (60 min).
3. Αφαίρεση του Parafilm και επιστροφή στην επώαση για 24 ώρες.

Μέτρηση του ρυθμού ανάπτυξης

Ο ακριβής προσδιορισμός του ρυθμού ανάπτυξης πραγματοποιήθηκε κατά κύριο λόγο σε τρυβλία 24 φρεατίων σε έκαστο των οποίων ετίθετο 1 ml θρεπτικού υλικού. Κατά την έναρξη του πειράματος (αρχή 1^{ης} ημέρας) λάμβανε χώρα σπορά συγκεκριμένου αριθμού κυττάρων (5000 ζώντα κύτταρα/ml) ενώ ταυτοχρόνως γινόταν χορήγηση του υπό μελέτη διαφοροποιητικού παράγοντα σε διαφορετικές συγκεντρώσεις. Ακολουθούσε επώαση του πολυτρυβλίου για 24 ώρες σε επωαστικό κλίβανο με ελεγχόμενες συνθήκες (37°C και 5 % CO_2) και στην συνέχεια γινόταν αρίθμηση του αριθμού των κυττάρων. Η διαδικασία της μέτρησης επαναλαμβανόταν επί συνεχόμενες 6 ημέρες, ανά 24 ώρες και έτσι καταγραφόταν η καμπύλη ανάπτυξης σε όλες τις πειραματικές δοκιμές, όλων των υπό μελέτη συγκεντρώσεων των επί μέρους διαφοροποιητικών παραγόντων. Για την χρώση των κυττάρων έγινε χρήση της χρωστικής 3 Trypan blue (κυανό του τρυπανίου) η οποία προσδίδει κυανή χροιά στα νεκρά κύτταρα – ανεξαρτήτως της αιτίας και του μηχανισμού θανάτου - ενώ μετρώνται μόνον τα μη χρωματιζόμενα, όπως προαναφέρθηκε ανωτέρω. Επίσης χρησιμοποιήθηκε και η τεχνική του MTT. Στην περίπτωση του Trypan blue οι μετρήσεις των αριθμών των κυττάρων λάμβαναν χώρα με το οπτικό μικροσκόπιο, ενώ στην περίπτωση του MTT οι μετρήσεις γινόταν με ειδικό φασματοφωτόμετρο (Multiscan spectrum).

Ποσοτική μέτρηση της παραγόμενης αιμοσφαιρίνης με έμμεσο Φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός

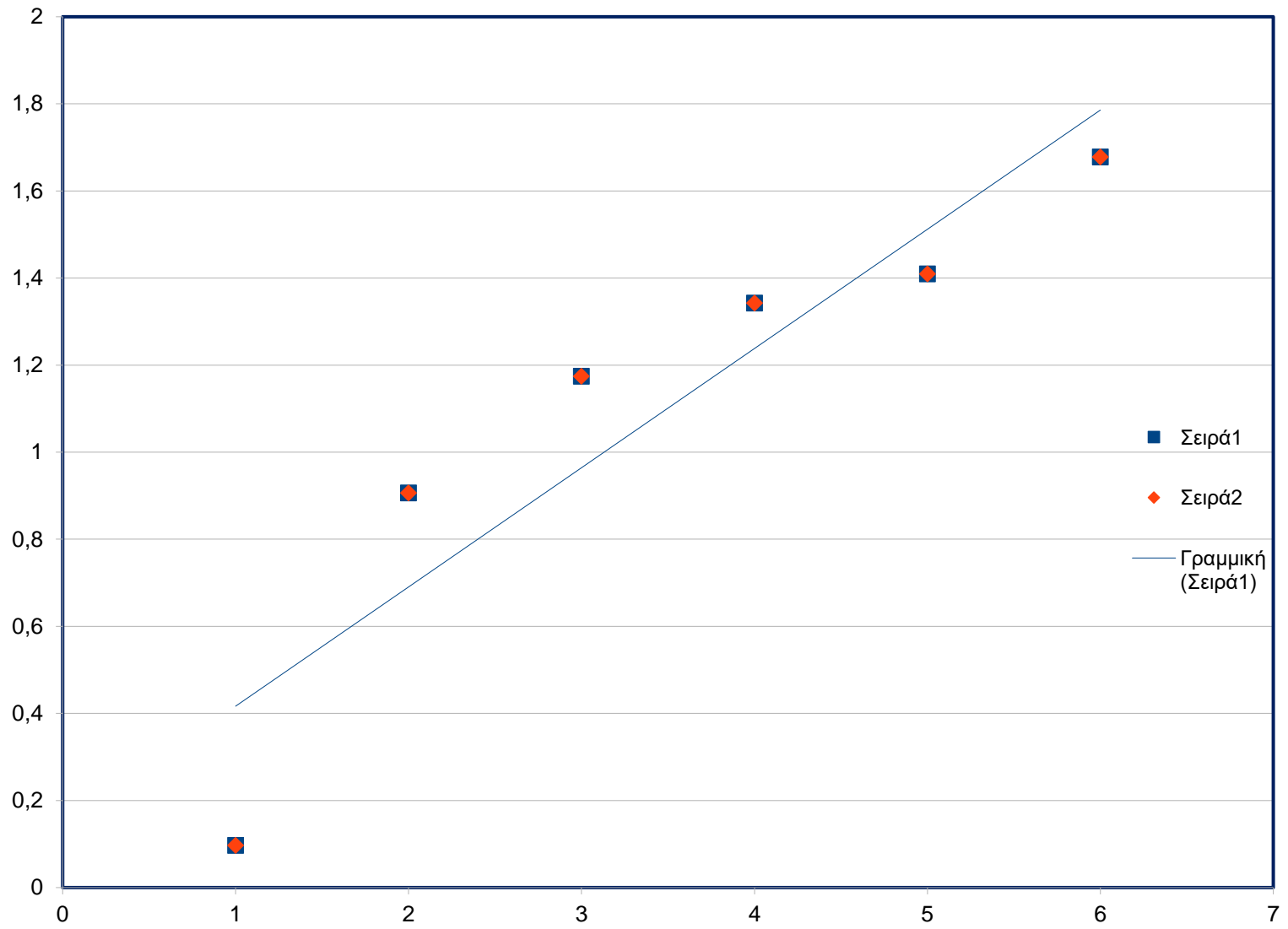
Η ποσοτική μέτρηση της παραγόμενης αιμοσφαιρίνης πραγματοποιείται με έμμεσο φωτομετρικό προσδιορισμό και εξειδικευμένη χρώση. Η μελέτη πραγματοποιείται με χρωματομετρική μέθοδο (colorimetric assay. S Kaiho, K Mizuno Sensitive assay systems

for detection of hemoglobin with 2,7-diaminofluorene: histochemistry and colorimetry for erythrodifferentiation. Anal Biochem. 1985 Aug 15;149(1):117-20.doi: 10.1016/0003-2697(85)90483-x.) της οποίας η χημική αρχή βασίζεται στην λειτουργία ψευδοϋπεροξειδάσης της αιμοσφαιρίνης που οξειδώνει το 2,7- διαμινοφθορένιο προς κυανό του φθορενίου, το οποίο εύκολα φωτομετρείται. Το οξειδωμένο 2,7- διαμινοφθορένιο απορροφά σε σχετικά ευρύ φάσμα αλλά η απορρόφησή του κορυφώνεται στα 610 nm, οπότε το σημείο αυτό είναι σημαντικό για τον προσδιορισμό της αιμοσφαιρίνης με την συγκεκριμένη φωτομετρική μέθοδο. Οι ληφθείσες απορροφήσεις θα συσχετισθούν με συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης στα δείγματα χρησιμοποιώντας πρότυπη καμπύλη απορρόφησης κατασκευασμένη με χρήση διαλυμάτων καθαρής ανθρώπινης αιμοσφαιρίνης. Για τις φωτομετρικές μετρήσεις χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο ορατού – υπεριώδους της εταιρείας SHIMADZU 1900 VIS-UV. Επίσης χρησιμοποιήθηκε και η συσκευή Multiscan Spectrum της εταιρείας Thermoscientific για την χρήση τρυβλίων με πολλαπλά φρεάτια.

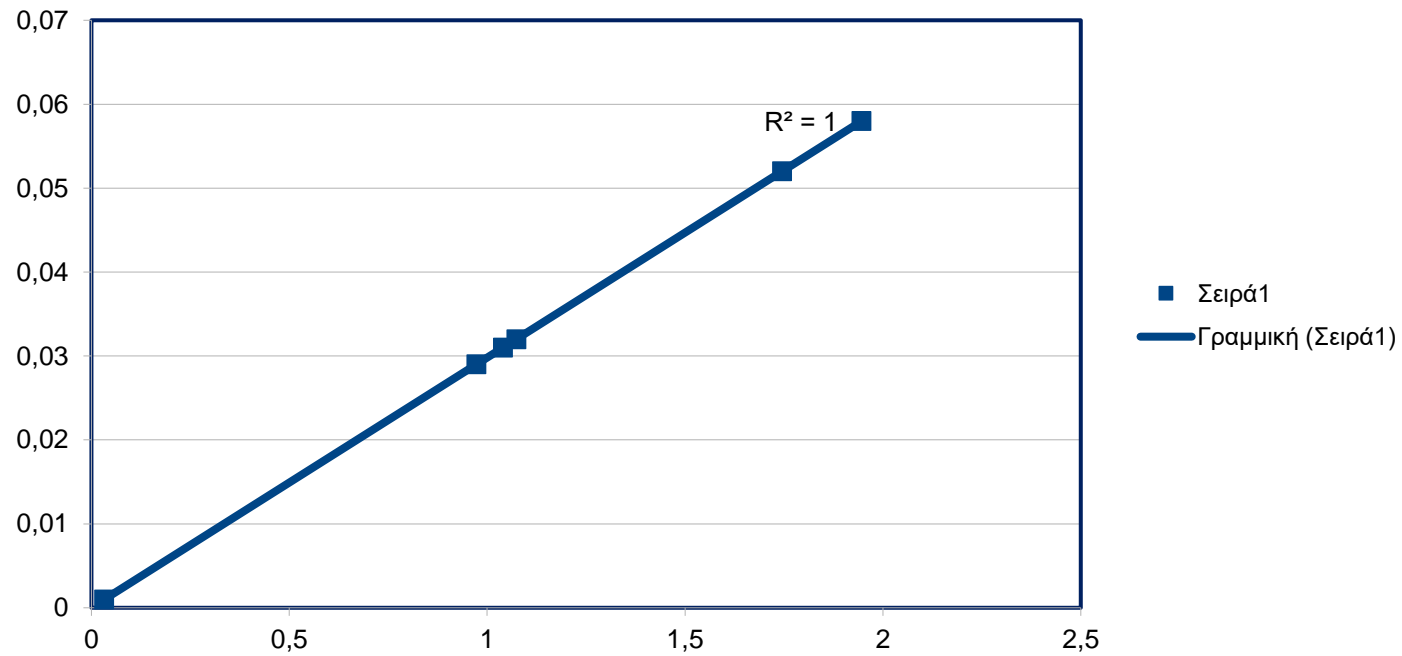
Μέτρηση της συγκέντρωσης της αιμοσφαιρίνης

Για την μέτρηση της συγκέντρωσης της αιμοσφαιρίνης προετοιμάζονται πρότυπα διαλύματα αιμοσφαιρίνης (δηλαδή 1-5μg/ml), δύο τυφλά δείγματα και όλα τα υπόλοιπα δείγματα rhEPO των οποίων τις συγκεντρώσεις επιθυμούμε να μετρήσουμε. Στην συνέχεια ακολουθεί φωτομέτρηση των δειγμάτων αυτών. Προέκυψε έτσι η πρότυπη καμπύλη από την οποία υπολογίστηκαν στη συνέχεια οι συγκεντρώσεις της αιμοσφαιρίνης στα δείγματα της rhEPO.

	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ rhEPO u/ml	ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ hB μg
1	control	0,003	0,09677
2	0,1	0,027	0,90604
3	1	0,035	1,174497
4	5	0,04	1,342282
5	10	0,042	1,409396
6	15	0,05	1,677852



	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ rhEPO u/ml	ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ hB μg
0	control	0,001	0,032154
1	10	0,031	1,040268
2	20	0,029	0,973154
3	30	0,032	1,073826
4	40	0,052	1,744966
5	50	0,058	1,946309
6			



ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΧΡΗΣΗ ΕΠΙΜΥΩΝ WISTAR

Ομάδες πειράματος

Για τα πειράματα αυτά χρησιμοποιήσαμε έναν αριθμό 60 ένηβων θηλέων επιμύων Wistar ηλικίας 2 έως 4 μηνών και βάρους μεταξύ οι οποίοι χωρίστηκαν στις εξής ομάδες:

1^η) Ομάδα – ομάδα ελέγχου των ελέγχων (ΟΕΕ) περιλαμβάνουσα 10 ζώα.

2^ο) Ομάδα πρόκλησης αναιμίας χωρίς θεραπεία (ΟΠΑΧΘ) με 10 ζώα.

3^ο) Ομάδα πρόκλησης αναιμίας εκτεθείσα θεραπευτικά σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία (ΗΜΠΕΡ) συχνοτήτων συντονισμού της ερυθροποιητίνης, με 10 ζώα.

4^ο) Ομάδα πρόκλησης αναιμίας λαμβάνουσα κατόπιν θεραπευτικά κατάλληλα συμπληρώματα σιδήρου και φυλλικού οξέος (ΘΕΡ), με 10 ζώα.

5^ο) Ομάδα πρόκλησης αναιμίας λαμβάνουσα κατόπιν θεραπευτικά συμπληρώματα σιδήρου και φυλλικού οξέος (ΗΜΠΕΡ + ΘΕΡ) ενώ τα ζώα εκτίθεντο παραλλήλως σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία συχνοτήτων συντονισμού της ερυθροποιητίνης, με 10 ζώα.

6^ο) Ομάδα πρόκλησης αναιμίας και έκθεση σε τυχαίες συχνότητες ηλεκτρομαγνητικών πεδίων ΟΠΑΤΣ, με 10 ζώα.

7^ο) Ομάδα πρόκλησης αναιμίας και θεραπείας με χορήγηση ΕΡΟ.

Τα πειραματόζωα όλων των ομάδων αναισθητοποιήθηκαν με την χρήση κεταμίνης (3 mgr/kg b.w) και μιδαζολάμης (3 mgr/kg b.w), ενώ ταυτόχρονα με την αναισθησία παρέχονταν στα πειραματόζωα υποστήριξη με διατάξεις καρδιοαναπνευστικής ανάνηψης.

Έτσι γινόταν αποκάλυψη μιας των σφαγίτιδων φλεβών του πειραματοζώου, εισαγωγή κατάλληλου ηπαρινισμένου φλεβοκαθετήρα 25 G, για μικροαιμοληψίες έως 0,2 ml και την ενδοφλέβια χορήγηση φαρμάκων και διαλυμάτων, όταν το απαιτούσε η περίσταση.

Επιπλέον τα ζώα διασωληνωνόταν με κατάλληλο τραχειοσωλήνα, εξειδικευμένο για επίμυες Wistar. Όταν εμφανιζόταν άπνοια ή αναπνευστική δυσχέρεια και η ζωή του πειραματοζώου κινδύνευε γινόταν άμεση σύνδεσή του τραχειοσωλήνα με εξωτερικό αναπνευστήρα.

Κατά την διάρκεια των πειραμάτων αυτών δεν είχαμε θανάτους στα πειραματόζωα.

Ταυτόχρονα με τους ανωτέρω χειρισμούς γινόταν επίσης ηλεκτροκαρδιογραφική παρακολούθηση των πειραματοζώων, μέσω κατάλληλης ηλεκτροκαρδιογραφικής διάταξης, προκειμένου να γίνουν παρεμβάσεις ανάταξης, με κατάλληλα μέσα, σε περίπτωση που εμφανιζόταν κάποια βαριά αρρυθμία, όπως κοιλιακή ταχυκαρδία, ή ακόμη καρδιακή ανακοπή.

Φαρμακολογική πρόκληση αναιμίας στους επίμυες Wistar

Στους επίμυες γινόταν φαρμακολογική πρόκληση αιμολυτικής αναιμίας με την χορήγηση 40 mgr φαινύλ-υδραζίνης /kgr b.w εφάπαξ (Berger J (1985) Μετά την διαπίστωση της αναιμίας τα ζώα υποβαλλόταν σε χορήγηση φαινύλ-υδραζίνης 3 mgr/kgr b.w ανά εβδομάδα. Για την παρεμπόδιση της δράσης της ενδογενώς παραγόμενης ερυθροποιητίνης χορηγούσαμε στα πειραματοζώα σταθερά καπτοπρίλη ενδοπεριτοναϊκά σε δόση 2 mgr/kgr b.w κάθε εβδομάδα. Τα ζώα ανέπτυσσαν αναιμία μετά την παρέλευση 7 – 10 ημερών με αιματοκρίτη που παρέμεινε χαμηλός κάτω από την τιμή των 30 έως 25. Κατόπιν πραγματοποιούσαμε τους πειραματικούς χειρισμούς της δράσης των συχνοτήτων συντονισμού της ερυθροποιητίνης.

Πορεία των πειραμάτων

Κατά την έναρξη των πειραμάτων οι επίμυες ζυγίζονταν και αναισθητοποιούνταν όπως περιγράψαμε ανωτέρω.

Κατόπιν γινόταν πρόσδεσή τους σε θερμαινόμενο υπόστρωμα και τοποθετούταν στο έντερό τους διά του πρωκτού ηλεκτρονικό θερμόμετρο σταθερής καταγραφής.

Μετά την διασωλήνωση, αποκάλυψη σφαγίτιδας και αιμοληψία, γινόταν συρραφή των διενεργηθησών τομών, αποσωλήνωση, παρακολούθηση μέχρις πλήρους ανάνηψης σε θάλαμο με οξυγόνο 30% και κατόπιν τα ζώα επέστρεφαν στους κλωβούς τους και παρακολουθούντο καθ' όλη την ημέρα σταθερά.

Το αίμα που είχε ληφθεί σε σωληνάρια με EDTA, ή κιτρικά, ως αντιπηκτικά, μεταφερόταν σε τριχοειδείς σωληνίσκους εξειδικευμένους για προσδιορισμό αιματοκρίτη, επίσης μικροδείγμα αίματος χρησιμοποιούνταν σε κυτταρομετρικό μηχάνημα για τον προσδιορισμό των εμμόρφων του αίματος κάθε πειραματοζώου, όπου γινόταν αυτόματα και η μέτρηση της αιμοσφαιρίνης.

Η πορεία κάθε ομάδας ζώων ακολουθούσε το πρωτόκολλο που είχε διατυπωθεί αντίστοιχα.

Έτσι, στα ζώα της ομάδας ελέγχου των ελέγχων γινόταν οι ανωτέρω χειρισμοί και οι προγραμματισμένες αιμοληψίες για την παρακολούθηση των αιματολογικών παραμέτρων που καθορίστηκαν.

Τα πειραματόζωα των ομάδων που εκτίθεντο στα ΗΜΠ μεταφερόταν μέσα στον κλωβό τους ανά τρία και αυτός τοποθετείτο σε συγκεκριμένη θέση, στο εσωτερικό του κλωβού Faraday, απέχουσα 30 cm από την κεραία της συσκευής εκπομπής των ΗΜΠ, επί όση ώρα όριζε το πρωτόκολλο.

Εφόσον τα πειραματόζωα είχαν εκτεθεί επί τους χρόνους που όριζε το πρωτόκολλο, κατόπιν αναισθητοποιούταν και γινόταν η αιμοληψία από την σφαγίτιδα φλέβα. Στο ληφθέν αίμα γινόταν ο προσδιορισμός του αιματοκρίτη, των εμμόρφων συστατικών του αίματος και της αιμοσφαιρίνης.

Berger J (1985). Screening of toxic hemolytic anaemia in laboratory rats: a model of phenylhydrazine-induced haemolysis. *Haematologica* 18: 193-200.

Imai K, Yoshimura S, Ohtaki T et al. (1981) One month studies on the subacute toxicity of captopril in the rats. *J Toxicol Sci* 6 (Suppl. II):189-21

ΠΡΑΓΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΣΧΕΤΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

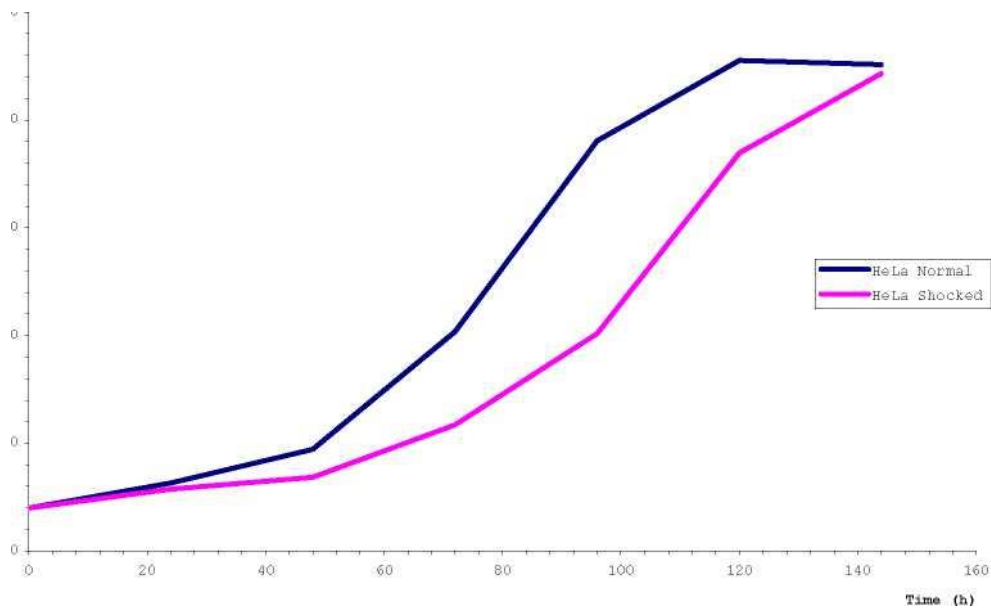
1. Καμπύλες ανάπτυξης

Όπως προαναφέρθηκε ανωτέρω στο συγκεκριμένο μέρος του συνολικού πειραματισμού δοκιμάστηκαν οι δράσεις μιας σειράς εκπεμπόμενων ηλεκτρομαγνητικών πεδίων – μέσω του πομπού της συσκευής MCDE – 100 V1 (Multi Chanel Dynamic Exciter 100 V1) στην έκφραση και λειτουργία συγκεκριμένων πρωτεϊνών οξειάς φάσης των κυττάρων HeLa μετά την έκθεσή τους σε θερμικά στρες μικρής έντασης. Αυτό έγινε μέσω σύγκρισης:

1^{ov}) των καμπυλών ανάπτυξης των κυτταροκαλλιιεργειών του πειράματος με τις αντίστοιχες καμπύλες ανάπτυξης των κυτταροκαλλιιεργειών ελέγχου.

2^{ov}) Μέσω σύγκρισης των ποσοστών σχηματισμού αποικιών στις καλλιέργειες που προαναφέραμε.

Πρώτα μελετήσαμε την δράση του ήπιου θερμικού σοκ χωρίς την οποιαδήποτε έκθεση σε ηλεκτρομαγνητικό πεδίο (καλλιέργειες μέσα σε μικρούς κλωβούς Faraday που ετίθεντο στο εσωτερικό του επωαστή), ώστε να δούμε τις προσαρμογές των κυττάρων στο θερμικό στρες, όπως αντανακλώνται στην βιωσιμότητά τους και στην ικανότητα πολλαπλασιασμού τους. Τα δεδομένα αυτά παρουσιάζονται στο ακόλουθο γράφημα πριν και μετά το θερμικό σοκ

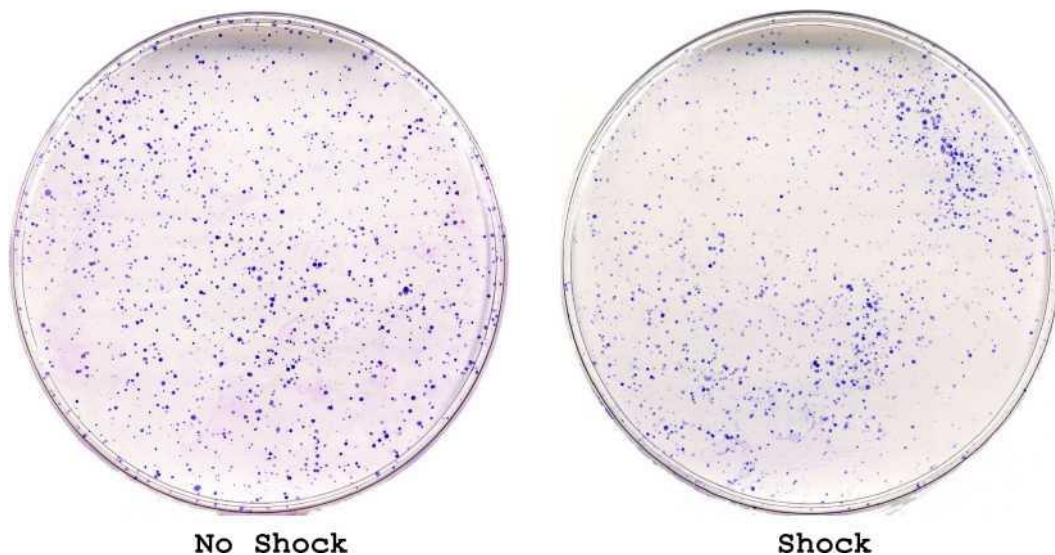


Εικόνα 1. Σύγκριση του ρυθμού ανάπτυξης μιας καλλιέργειας κυττάρων HeLa που χρησίμευσαν ως μάρτυρες (μαύρη γραμμή) και μιας δίδυμης καλλιέργειας κυττάρων HeLa που υπέστησαν θερμική καταπόνηση στους 43 βαθμούς C επί 60 min (μωβ καμπύλη). Τα θερμικώς καταπονημένα κύτταρα καθυστερούν να εισέλθουν σε εκθετική φάση πολλαπλασιασμού ένα χρονικό διάστημα 24 – 30 ωρών, ενώ και οι κλίσεις της καμπύλης της ανάπτυξης τους είναι μικρότερες εν σχέση με τις αντίστοιχες των κυττάρων ελέγχου.

2. Ικανότητα σχηματισμού αποικιών μετά από θερμικό σοκ

Πραγματοποιώντας ανακαλλιέργεια των κυττάρων μαρτύρων και των κυττάρων που υπέστησαν το ήπιο θερμικό stress και κατόπιν μελετώντας την ικανότητα σχηματισμού αποικιών στους μάρτυρες και στα κύτταρα με θερμικό σοκ διαπιστώσαμε ότι οι αποικίες των κυττάρων μαρτύρων είναι σαφώς πυκνότερες, μεγαλύτερες και πολυπληθέστερες αυτών που υπέστησαν την θερμική καταπόνηση. Συνεπώς οι διαφορές στις αναπτυξιακές καμπύλες επιβεβαιώνονται και από την σύγκριση των αποικιών των κυττάρων. Πολύ χαρακτηριστικά οι αποικίες των κυττάρων HeLa είναι τουλάχιστον διπλάσιες στο αριστερό

τρυβλίο, σε σύγκριση με εκείνες των κυττάρων HeLa που υπέστησαν το ωριαίο θερμικό σοκ και οι οποίες φαίνονται στο δεξιό τρυβλίο. Οι φωτογραφίες των τρυβλίων μετά από χρώση Giemsa φαίνονται στην ακόλουθη εικόνα:



Εικόνα 2: Διαφορές στην δημιουργία αποικιών μεταξύ των καλλιιεργειών κυττάρων HeLa: Στο αριστερό τρυβλίο (τρυβλίο ελέγχου που αναπτύχθηκε σε ομαλές συνθήκες κυτταροκαλλιέργειας) παρατηρούμε μια μεγάλη ανάπτυξη αποικιών, ενώ στο δεξιό τρυβλίο η ανάπτυξη των αποικιών είναι τουλάχιστον κατά 50% μειωμένη σε σύγκριση με το τρυβλίο ελέγχου. Το πείραμα επαναλήφθηκε έξι φορές και έδειξε πάντα την ίδια εικόνα. Συνεπώς το ήπιο θερμικό σοκ μειώνει αξιόλογα την ικανότητα πολλαπλασιασμού των κυττάρων HeLa

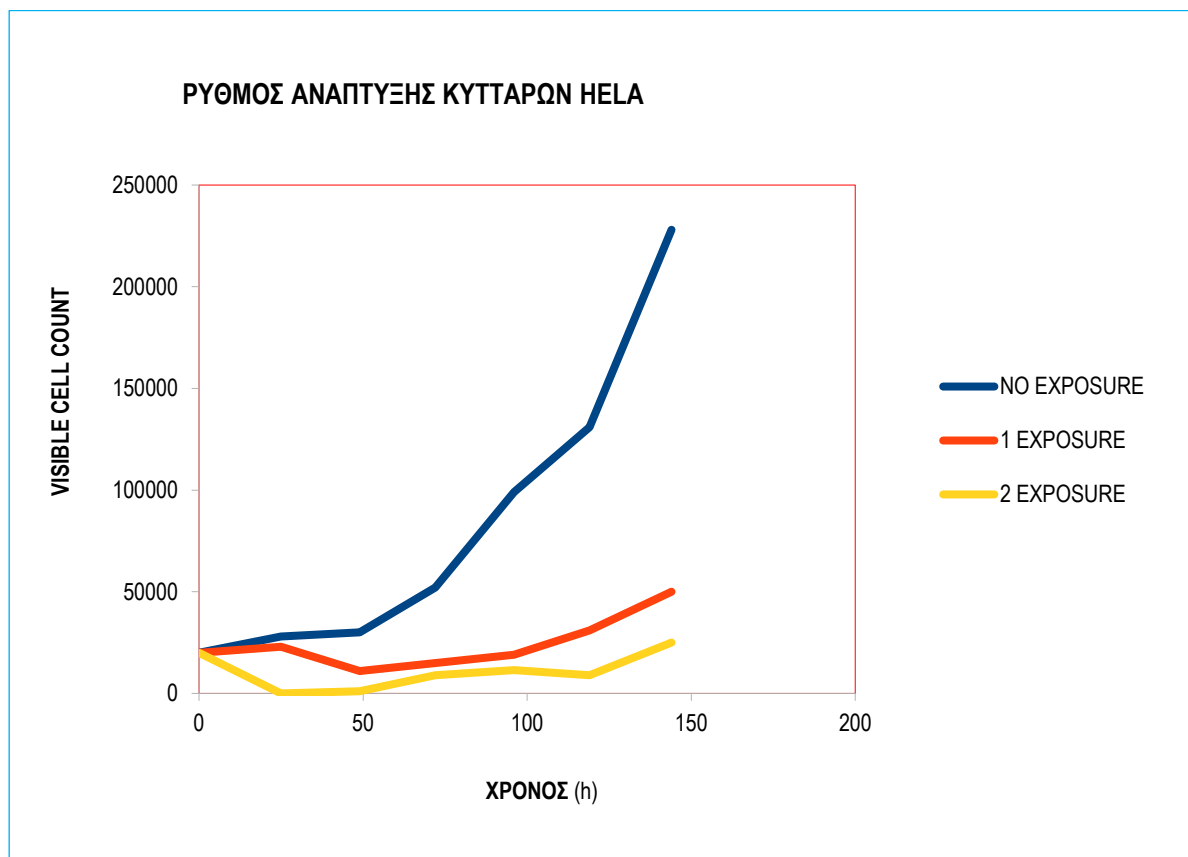
3. Έκθεση καλλιιεργειών κυττάρων HeLa σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία τυχαίων συχνοτήτων

Στο εν λόγω σκέλος του συνόλου των πειραμάτων χρησιμοποιήσαμε ισχυρά κύτταρα HeLa, τα οποία εκθέσαμε σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία τυχαίων συχνοτήτων, οι οποίες ελήφθησαν, χωρίς ανθρώπινη παρέμβαση, αλλά από μια συσκευή παραγωγής τυχαίων αριθμών. Τα κύτταρα HeLa είχαν δοκιμαστεί προηγουμένως, προκειμένου να ελεγχθεί ότι ήσαν ισχυρά και όχι εξασθενημένα, πράγμα το οποίο αποδεικνυόταν από την υψηλή αναπαραγωγική τους ικανότητα και τον μεγάλο αριθμό αποικιών που σχημάτιζαν στους πυθμένες των τρυβλίων δοκιμής. Οι τυχαίες συχνότητες που έδωσε η αντλία τυχαίων αριθμών και που χρησιμοποιήσαμε για την εκπομπή των πεδίων ήσαν τριακόσιες τριάντα τέσσερις. Μέσα σε αυτές δεν υπήρχαν συχνότητες κοινές με εκείνες της πρωτεΐνης HSP-70 Όλες τους συμπεριλαμβανόταν στο φάσμα των λεγόμενων χαμηλών συχνοτήτων

(Low Frequency) από 15 έως 20.000 Hz. Ο χρόνος έκθεσης ήταν 30 λεπτά. Οι καλλιέργειες χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, εκ των οποίων η πρώτη ομάδα εκτέθηκε μία φορά διάρκειας 30 min η δεύτερη ομάδα δύο φορές, κάθε μια διάρκειας 30 min, δηλαδή επί συνολικό χρόνο 60 min. Μετά από κάθε έκθεση οι καλλιέργειες επωάζονταν για 24 ώρες και στην συνέχεια υποβάλλονταν σε θερμικό σοκ (θερμική καταπόνηση).

Αποτελέσματα της έκθεσης των καλλιιεργειών κυττάρων HeLa σε τυχαίες συχνότητες ηλεκτρομαγνητικών πεδίων

Έκθεση σε ΗΜΠ τυχαίων συχνοτήτων, με θερμική καταπόνηση (σοκ)								
	Αριθμοί κυττάρων (μικροσκοπηση)							
	0	20	40	60	80	100	120	
TIME (h)	0	25	49	72	96	119	144	
Χωρίς έκθεση	20000	28000	30000	52000	99000	131000	228000	
1 έκθεση	20000	23000	11000	15000	19000	31000	50000	
2 έκθεση	20000	0	1000	9000	11500	9000	25000	



Εικόνα: Ικανότητα σχηματισμού αποικιών πριν και μετά την Έκθεση σε ΗΜΓ πεδία



Εικόνα 3

Στην ανωτέρω γραφική παράσταση που αποτυπώνει τις μετρήσεις του πληθυσμού των κυττάρων HeLa διαπιστώνουμε τα εξής:

1^{ον}) Τα μη εκτεθέντα κύτταρα παρουσιάζουν μια αναμενόμενη υψηλή αύξηση, η οποία εισέρχεται σε εκθετική φάση βαθμηδόν από την 48^η ώρα καλλιέργειας (μαύρη καμπύλη στην γραφική παράσταση).

2^{ον}) Τα κύτταρα HeLa, που εκτέθηκαν επί 30 min, όταν καλλιεργούνται μετά την έκθεση στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία των τυχαίων συχνοτήτων παρουσιάζουν αρχικά μείωση του ρυθμού πολλαπλασιασμού τους και κατόπιν αρχίζουν να αυξάνουν τις μιτώσεις τους, παραμένοντας ωστόσο σε χαμηλό πολλαπλασιαστικό ρυθμό, ο οποίος τείνει να εισέλθει σε εκθετική φάση μετά την παρέλευση 140 ωρών, από την έναρξη της καλλιέργειάς τους (μωβ καμπύλη στην γραφική παράσταση).

3^{ον}) Τα κύτταρα HeLa τα οποία εκτέθηκαν δύο φορές στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία των τυχαίων συχνοτήτων επί συνολικό χρόνο 60 min παρουσιάζουν ακόμη πιο μεγάλη πτώση στην πολλαπλασιαστική τους ικανότητα, εμφανίζοντας αρχικά μια μεγάλη ύφεση του αριθμού τους, που τείνει τις πρώτες ώρες προς τον μηδενισμό. Η καμπύλη ανάπτυξης επί σχεδόν 24 ώρες κινείται παράλληλα προς τον άξονα των τετμημένων σε πολύ μικρούς κυτταρικούς αριθμούς – γειτνιαζόμενους προς το μηδέν (άξονας χρόνου). Η ύφεση της αναπαραγωγής των κυττάρων HeLa διαρκεί επί 50 περίπου ώρες και κατόπιν αυτά αρχίζουν και πολλαπλασιάζονται βραδέως, ακολουθώντας μια μικρή αυξητική τάση. Η καμπύλη ανάπτυξης αρχίζει και γίνεται πιο εμφανής, ωστόσο μέχρι τις 120 ώρες δεν είναι εκθετικού τύπου. Εικάζουμε ότι μπορεί να εισέρχεται σε εκθετική αύξηση μετά τις 150

ώρες, πράγμα που δεν ελέγξαμε περαιτέρω. Εκείνο που μπορούμε να πούμε είναι ότι η διπλή έκθεση στα τυχαία ηλεκτρομαγνητικά πεδία προκαλεί σαφή ύφεση στον ρυθμό πολλαπλασιασμού αρχικά και κατόπιν μικρή αυξητική τάση.

Την ίδια συμπεριφορά των κυττάρων HeLa εμφανίζουν αυτά και στο επίπεδο των κυτταρικών καλλιιεργειών για σχηματισμό αποικιών. Οι αποικίες είναι δείκτης της βιωσιμότητάς τους. Όπως παρατηρούμε την σχετική εικόνα ανωτέρω, στο αριστερό τρυβλίο στο οποίο αναπτύχθηκαν κύτταρα που δεν είχαν εκτεθεί στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία ο αριθμός των αποικιών που πήραν κυανή χροιά, μέσω της χρώσης Giemsa, είναι ευκρινώς μεγάλος, ενώ στο κεντρικό και δεξιό τρυβλίο είναι πολύ μικρός. Η ελάττωση του αριθμού των αποικιών στα δύο τελευταία τρυβλία έχουν να κάνουν με την έκθεση των κυττάρων HeLa στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία των τυχαίων συχνοτήτων. Δηλαδή ακόμη και τα τυχαία πεδία εμφανίζουν σαφή αντιπολλαπλασιαστική δράση, πράγμα το οποίο θα μπορούσε να έχει ενδιαφέρον τόσο στην πρόληψη, όσο και στην κλινική πράξη, εφόσον φυσικά γινόταν η κατάλληλη αποδεικτική έρευνα επί των εφαρμογών. Βεβαίως μας διαφεύγει ακόμη ο σαφής μηχανισμός της δράσης των ηλεκτρομαγνητικών πεδίων. Αυτός ο μηχανισμός φαίνεται να σχετίζεται με την μεταφορά ενέργειας στα κύτταρα – στόχους και πιθανόν με την μεταφορά πληροφορίας ικανής να προσληφθεί από ένα βιολογικό σύστημα και να έχει μια πορεία η οποία – ανάλογα με την φύση των συχνοτήτων των προσπιπτόμενων πεδίων μπορεί να είναι είτε επιβιωτική, όπως θα δούμε κατωτέρω, ή βλαπτική, όπως ήδη βλέπουμε εδώ.

Έκθεση κυττάρων HeLa σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία διαμορφωμένα στις ιδιοσυχνότητες συντονισμού της πρωτεΐνης HSP-70

Προκειμένου να μελετήσουμε τις ενδεχόμενες βιομιμητικές δράσεις ηλεκτρομαγνητικών πεδίων διαμορφωμένων σύμφωνα με τις συχνότητες συντονισμού της πρωτεΐνης HSP-70 που ευρίσκεται στα συγκεκριμένα κύτταρα, λάβαμε τις συχνότητες συντονισμού της HSP-70, μέσω του διαγνωστικού σκέλους της συσκευής MCDE – 100V1, ως πρώτο βήμα. Οι συχνότητες αυτές θεωρητικά μπορούν να διεγείρουν και να ενισχύσουν την δράση της συγκεκριμένης πρωτεΐνης. Για τους σκοπούς του πειράματος αρχικά ελήφθη ένας αριθμός συχνοτήτων συντονισμού της HSP-70 από δείγμα καθαρής πρωτεΐνης με χρήση της συσκευής Multi-Channel Dynamic Exciter 100, όπως αναλύθηκε στην εισαγωγή. Χρησιμοποιήθηκαν 334 συχνότητες στο εύρος των χαμηλών συχνοτήτων, οι οποίες

αποθηκεύτηκαν στην μνήμη του υπολογιστή που οδηγεί το σύστημα καταγραφής και εκπομπής ηλεκτρομαγνητικών πεδίων, προκειμένου να χρησιμοποιηθούν για την πραγματοποίηση του πειράματος, όπως περιγράφεται αναλυτικά κατωτέρω.

Σχεδιασμός και υλοποίηση του πειράματος

Το πείραμα σχεδιάστηκε ως εξής:

1^{ov}) Ελήφθησαν κακοήθη κύτταρα της σειράς HeLa τα οποία ετέθησαν στην κυτταροκαλλιέργεια προκειμένου να ανανήσουν από την βαθιά κατάσταση και να γίνουν πλήρως λειτουργικά σε έναν χρόνο δύο περίπου εβδομάδων. Κατόπιν ελέγξαμε την αναπαραγωγική ικανότητα και την βιωσιμότητα των κυττάρων και έγινε επιλογή των πλήρως λειτουργικώς ισχυρών.

2^{ov}) Εν συνεχεία έγιναν καλλιέργειες ισχυρών κυττάρων HeLa και κατόπιν εκτέθηκαν στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία τα ήδη διαμορφωμένα με τις καταγραφείσες συχνότητες συντονισμού της πρωτεΐνης HSP-70. Η έκθεση διήρκησε 30' συνεχή λεπτά της ώρας. Εν συνεχεία τα τρυβλία επανήλθαν στον κυτταρικό επωαστή, όπου παρέμειναν επί 24 ώρες στις τακτικές επωαστικές συνθήκες (θερμοκρασία 37°C, 95% O₂ και 5% CO₂). Εφόσον τα κύτταρα αναπτύχθηκαν επί 24 ώρες εκτέθηκαν με κατάλληλη διάταξη επί 30' της ώρας σε υδατόλουτρο - του οποίου η θερμοκρασία ήταν καθηλωμένη και επιβεβαιωμένη με υδραργυρικό θερμόμετρο - σε ήπιο θερμικό σοκ, όμοιο με αυτό των προηγούμενων περιπτώσεων ($43 \pm 0,5^\circ\text{C}$ για 60 λεπτά). Μετά την λήξη της έκθεσης τα κύτταρα καλλιεργήθηκαν ξανά επί 24 ώρες στον επωαστή. Μετά την παρέλευση του συγκεκριμένου χρονικού διαστήματος τα κύτταρα αποκολλήθηκαν, συλλέχθηκαν, τοποθετήθηκαν στο αιμοκυττόμετρο Newbauer και μετρήθηκαν. Κατόπιν πραγματοποιήθηκαν σπορές των κυττάρων και επώαση για τον υπολογισμό της ικανότητας σχηματισμού αποικιών εκ μέρους τους, σε σύγκριση με κύτταρα ελέγχου τα οποία δεν εκτέθηκαν σε κανένα πεδίο μέσω συγκεκριμένης διάταξης. Μετά την λήξη των επώασεων τα κύτταρα χρωματίστηκαν με χρωστική Giemsa και έγινε υπολογισμός των αποικιών με στερεοσκόπιο.

Η πειραματική διαδικασία είναι όμοια με τη μελέτη της δράσης του τυχαίου ηλεκτρομαγνητικού πεδίου, με τη διαφορά ότι σε αυτήν την περίπτωση χρησιμοποιούνται συχνότητες συντονισμού της πρωτεΐνης HSP-70. Οι καλλιέργειες εκτέθηκαν για 30 λεπτά στο πεδίο και, μετά από 24ωρη επώαση, πραγματοποιήθηκε ήπιο θερμικό σοκ. Στη συνέχεια τα κύτταρα συλλέχθηκαν και υπολογίστηκε η ικανότητα σχηματισμού αποικιών.

Αποτελέσματα:

Τα αποτελέσματα, σε σύγκριση με αυτά των μη εκτεθειμένων καλλιέργειών, είναι τα ακόλουθα:

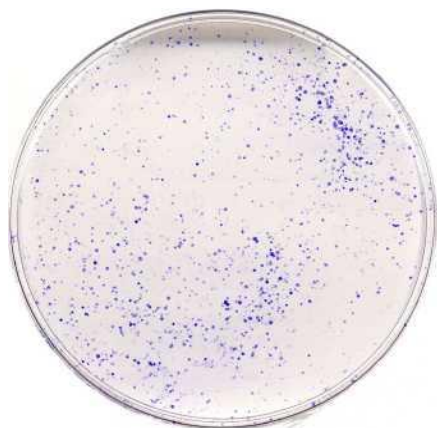
Τα κύτταρα HeLa που δεν εκτέθηκαν στο πεδίο και υπέστησαν το θερμικό σοκ των 30 min παρουσίασαν μετά τις επόμενες καλλιέργειές τους και την βαφή τους με την χρωστική Giemsa μια όψη των αποικιών τους στο τρυβλίο που εμφανίζεται στην φωτογραφία των τρυβλίων αρ.4^α:

Οι αποικίες στο εν λόγω τρυβλίο είναι σχετικά λίγες και με μικρό αριθμό κυττάρων.

Αντιθέτως τα κύτταρα HeLa που εκτέθηκαν στο ηλεκτρομαγνητικό πεδίο, το διαμορφωμένο ανάλογα με τις συχνότητες συντονισμού της πρωτεΐνης HSP-70 εμφάνισαν μια όψη πολύ πολυπληθέστερων και συρρεόντων σε ορισμένα σημεία αποικιών, καταλαμβάνοντας μεγάλη επιφάνεια του πυθμένα του τρυβλίου, όπως φαίνεται σαφώς στην φωτογραφία αριθ. 4β.

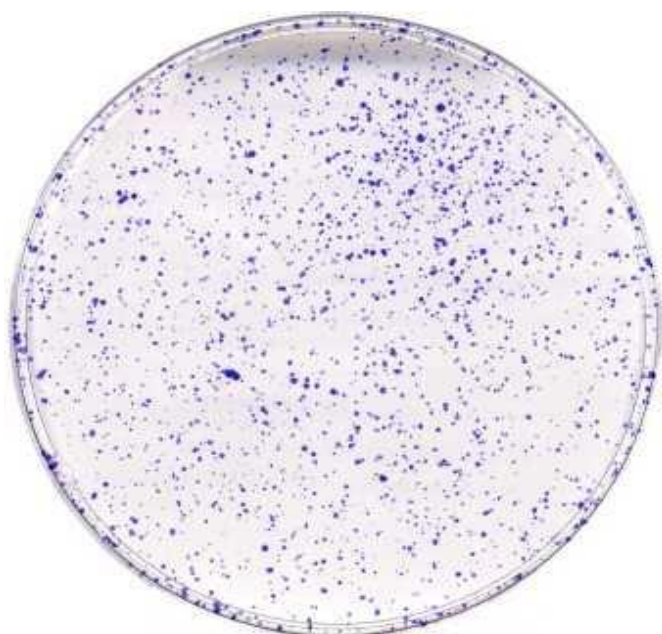
Η μέτρηση των αποικιών με στερεοσκόπιο έδειξε ότι ο μέσος όρος αποικιών σε έξι τρυβλία ελέγχου (ημίωρη έκθεση σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 43°C και κατόπιν συλλογή και καλλιέργεια) έδειξε τον σχηματισμό 590±36 αποικιών, ενώ στα τρυβλία που εκτέθηκαν στο ηλεκτρομαγνητικό πεδίο το διαμορφωμένο με τις συχνότητες της HSP έδειξε τον σχηματισμό 1458±68 αποικιών. Η στατιστική σημαντικότητα είναι μικρότερη του p<0,05. Οι διαφορές αυτές φαίνονται επίσης στον κατωτέρω πίνακα στον οποίον φαίνεται καθαρά ότι τα ΗΜΠ που έχουν διαμορφωθεί βάσει των συχνοτήτων συντονισμού της πρωτεΐνης HSP – 70 φαίνεται να έχουν προφυλαχθεί από την δράση της θερμικής ενέργειας σε ικανό τρόπο, εφόσον έχουν σχεδόν τριπλάσια ποσότητα αποικιών εν σχέσει προς τους ελέγχους

ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ ΑΠΟΙΚΙΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ HeLa ANA ΤΡΥΒΛΙΟ (ΑΡΙΘ ΤΡΥΒΛΙΩΝ 6)	ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ ΑΠΟΙΚΙΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ HeLa ANA ΤΡΥΒΛΙΟ (ΑΡΙΘ ΤΡΥΒΛΙΩΝ 6)
ΤΡΥΒΛΙΑ ΕΛΕΓΧΟΥ (Περιέχοντα κύτταρα προερχόμενα από εκτεθέντα σε θερμικό σοκ 43°C, 30 min)	ΤΡΥΒΛΙΑ ΕΚΤΕΘΗΜΕΝΑ ΣΕ ΗΜΠ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ HSP-70 (Περιέχοντα κύτταρα προερχόμενα από εκτεθέντα πρώτα σε ΗΜΠ HSP-70 και κατόπιν σε θερμικό σοκ 43°C, 30 min)
590±36	1458±68 (p<0,05)



4Α: Αποικίες κυττάρων HeLa μετά την θερμική καταπόνηση

Εικόνα 4α: Έλεγχος ικανότητας δημιουργίας αποικιών των κυττάρων HeLa



Εικόνα 4β: Ικανότητα δημιουργίας αποικιών κυττάρων HeLa εκτεθειμένων στο πεδίο της HSP-70 και κατόπιν σε θερμικό σοκ

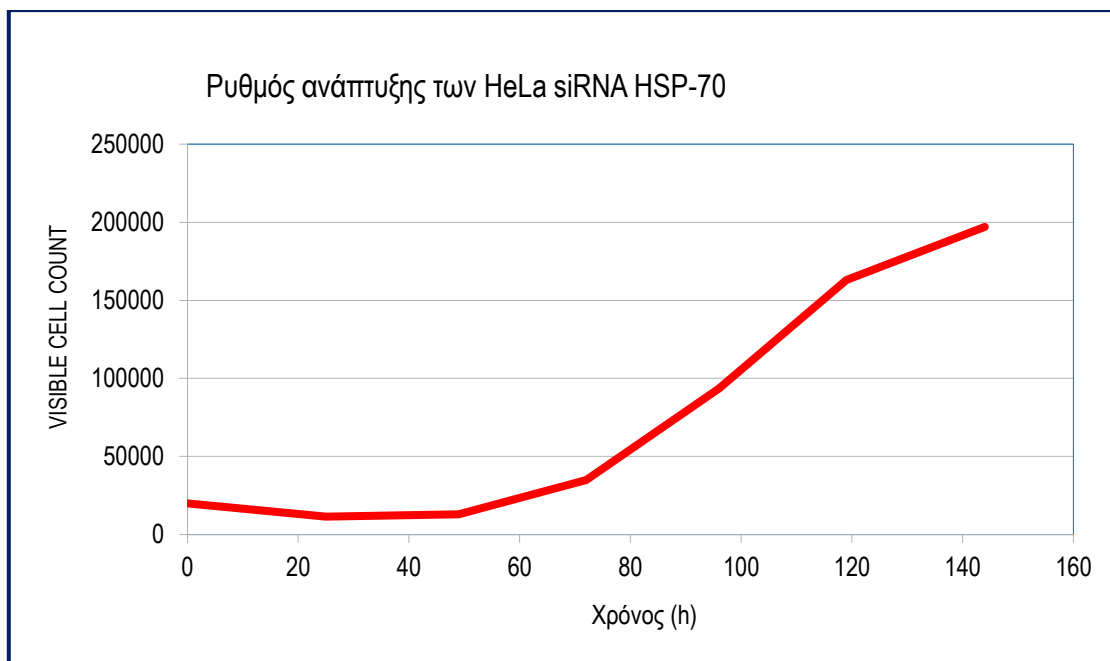
Έκθεση γενετικά τροποποιημένων κυττάρων HeLa τα οποία δεν εκφράζουν την πρωτεΐνη HSP-70

Στα πειράματα αυτής της σειράς χρησιμοποιήθηκε μια παραλλαγή των κυττάρων HeLa τα οποία δεν εκφράζουν το γονίδιο της πρωτεΐνης HSP-70 και συνεπώς δεν μπορούν να προστατευτούν ακόμη και όταν υποστούν σχετικά ήπια θερμικά σοκ, με αποτέλεσμα να αποθνήσκουν μαζικά. Τις λεπτομέρειες της φύσης των εν λόγω κυττάρων δώσαμε στο αρχικό μέρος του κεφαλαίου των υλικών και μεθόδων.

Ο στόχος του εν λόγω πειράματος ήταν το να μελετήσουμε κατά πόσον τα γενετικώς μειονεκτικά αυτά κύτταρα είναι σε θέση να προστατευτούν ή όχι όταν εκτεθούν σε ένα ήπιο θερμικό σοκ του επιπέδου των 43 °C επί βραχύ χρονικό διαστήματα αντιστοίχως 60 min, εφόσον προηγουμένως έχουν εκτεθεί σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία διαμορφωμένα σύμφωνα με τις συχνότητες συντονισμού της πρωτεΐνης HSP-70.

Για την πραγματοποίηση των συγκεκριμένων πειραμάτων χρησιμοποιήσαμε κύτταρα της προαναφερθείσας σειράς HeLa siRNA HSP-70. Αρχικά πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις ανάπτυξης και ικανότητας σχηματισμού αποικιών και παράλληλα ελέγχθηκε η ικανότητα επιβίωσης ενός ήπιου θερμικού σοκ εφαρμόζοντας το πρωτόκολλο που αναφέραμε ανωτέρω. Περιληπτικά τα κύτταρα σπάρθηκαν σε τρυβλία των 10 ml σε αριθμό 2.000 κυττάρων / ml θρεπτικού υλικού. Τα κύτταρα αφέθηκαν να πολλαπλασιαστούν σε φυσιολογικές συνθήκες καλλιέργειας, υπό θερμοκρασία 37°C, σε ατμόσφαιρα περιέχουσα 95% O₂ και 5% CO₂. Γινόταν οπτικός έλεγχος των κυττάρων και κατά συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα μέτρηση αυτών. Υπό τις σταθερές αυτές συνθήκες η καμπύλη ανάπτυξης φαίνεται στο διάγραμμα 1. Βάσει του διαγράμματος παρατηρούμε ότι η συγκεκριμένη σειρά εμφανίζει έναν αξιόλογο χρόνο υστέρησης εξ αιτίας του χαμηλού πολλαπλασιασμού αυτής που προσεγγίζει τις 72 ώρες (lag phase 72 h).

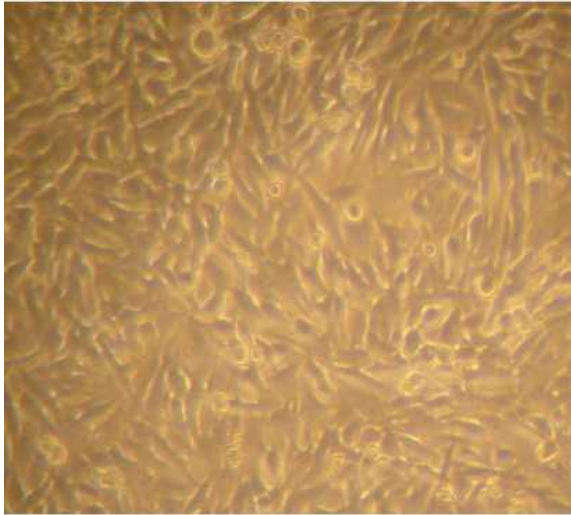
HeLa siRNA HSP-70 GROWTH RATE							
	VISIBLE CELL COUNT						
	0	20	40	60	80	100	120
TIME (h)	0	25	49	72	96	119	144
HeLa siRNA HSP-70 GROWTH RATE	20000	11500	13000	35000	93500	163000	197000



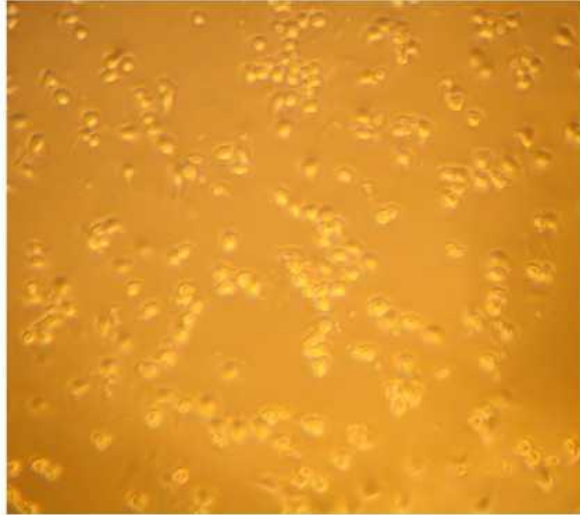
Διάγραμμα 1

Ο χαμηλός ρυθμός πολλαπλασιασμού αντικατοπτρίζει την δυσκολία που αντιμετωπίζουν τα κύτταρα να προσαρμοστούν στις συνθήκες της κυτταροκαλλιέργειας εξ αιτίας της έλλειψης της πρωτεΐνης HSP-70. Τα δεδομένα αυτά φαίνονται στην ακόλουθη καμπύλη ανάπτυξης των κυττάρων HeLa siRNA HSP-70. Η ανάπτυξη των κυττάρων εισέρχεται σε εκθετική φάση μετά από 80 ώρες ενώ αρχίζει να διαμορφώνει κάμψη, πιθανόν προετοιμαζόμενη να εισέλθει σε οροπέδιο (Plateau) μετά από 140 ώρες συνεχούς καλλιέργειας. Τα κύτταρα αυτά είναι εξαιρετικά ευαίσθητα τόσο στην αύξηση της περιεκτικότητας της ατμόσφαιρας της καλλιέργειας σε οξυγόνο, όσο και στην αύξηση της μερικής τάσης του.

Είναι πολύ σημαντικό να υπογραμμίσουμε ότι τόσο το θερμικό, όσο και το οξειδωτικό stress αντιμετωπίζονται σημαντικά από την πρωτεΐνη HSP-70, οπότε η απόλυτη έλλειψη αυτής από τον συγκεκριμένο τύπο κυττάρων καθορίζει την εκδήλωση αυτής της πολύ μεγάλης τους ευαισθησίας στα οξειδωτικά και θερμικά ερεθίσματα. Στην συνέχεια σπείραμε και πολλαπλασιάσαμε τα συγκεκριμένα κύτταρα HeLa siRNA HSP-70 μέχρι να καταλάβουν τον πυθμένα του τρυβλίου (πλήρης συρροή) μετά δε ετέθησαν σε θερμοκρασία 43 °C επί 60 min.



HeLa siRNA HSP-70 κύτταρα πριν το θερμικό σοκ (μεγέθυνση 20x)



HeLa siRNA HSP-70 μετά θερμικό σοκ 60 min (μεγέθυνση 20x)

Πριν το θερμικό σοκ τα τρυβλία με τα συρρέοντα κύτταρα είχαν φωτογραφηθεί και μετά από αυτό παρατηρήθηκαν και ετέθησαν ξανά στον επωαστή. Μετά την παρέλευση 24 ωρών φωτογραφήθηκαν εκ νέου.

Η ανάλυση της φωτογραφίας έδειξε ότι το σύνολο των κυττάρων ήσαν νεκρά. Είχαμε δηλαδή θάνατο 100%. Το τρυβλίο ετέθη υπό καλλιέργεια επί 160 ώρες και δεν παρατηρήθηκε η ανάπτυξη ουδεμιάς αποικίας. Στην αριστερή άνω φωτογραφία φαίνεται η εικόνα των συρρεόντων κυττάρων HeLa siRNA HSP-70 λίγα λεπτά πριν την επιτέλεση του θερμικού σοκ στους 43 °C επί 60 min.

Βλέπουμε ότι τα κύτταρα είναι σε πολύ καλή κατάσταση. Η αριστερή φωτογραφία έχει ληφθεί 24 ώρες μετά το θερμικό σοκ και δείχνει σαφώς ότι όλα τα κύτταρα είναι νεκρά καθώς έχουν αποκολληθεί από τον πυθμένα του τρυβλίου και αιωρούνται μέσα στο καλλιεργητικό υγρό. Το ποσοστό θνησιμότητας είναι 100%.

Μετά την κατάδειξη ότι η κυτταρική σειρά HeLa siRNA HSP-70 είναι απολύτως ευάλωτη στην θερμική καταπόνηση, ακόμη και στην ήπια – του υψηλού πυρετού – καθώςον στερούνται πλήρως της έκφρασης της HSP-70.

Μετά από το ως άνω προκαταρκτικό πείραμα χωρίσαμε τις ποσότητες των κυττάρων που διαθέταμε σε τρεις ευρείες ομάδες. Οι ομάδες αυτές εκτέθηκαν στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία για συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα σύμφωνα με ένα προσδιορισμένο σχήμα:

1^{ov}) Η πρώτη ομάδα δεν εκτέθηκε στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία, αλλά τα τρυβλία που περιείχαν τα κύτταρά της τοποθετήθηκαν στο εσωτερικό του κλωβού Faraday, που περιείχαν το σύστημα MCDE-100V1, σε απόσταση 25 cm από την κεραία εκπομπής (εξόδου) του πομπού των πεδίων.

Η γεννήτρια των ηλεκτρομαγνητικών πεδίων καθ' όλη την διάρκεια παραμονής των τρυβλίων στο εσωτερικό του κλωβού παρέμεινε σβηστή. Το σχήμα αυτό ήταν της λεγόμενης «εικονικής έκθεσης» (sham exposure).

Μια ομάδα τρυβλίων παρέμεινε 30 min, ενώ μια ισάριθμη ομάδα παρέμεινε 2x30 min και μια επίσης ισάριθμη ομάδα παρέμεινε στο εσωτερικό του κλωβού στην ίδια θέση 3x30 min.

Αυτές οι υποομάδες αποτέλεσαν συνολικά την ομάδα ελέγχου χωρίς έκθεση.

2^{ov}) Η δεύτερη ομάδα τρυβλίων με κύτταρα HeLa siRNA HSP-70 τοποθετήθηκε στο ίδιο μέρος του εσωτερικού του κλωβού Faraday, στην ίδια θέση και απόσταση από την κεραία του πομπού, εκτιθέμενη για τα ίδια ως άνω χρονικά διαστήματα σε πεδία τυχαίων συχνοτήτων, αλλά του ίδιου αριθμού με τον αριθμό των συχνοτήτων συντονισμού της πρωτεΐνης HSP-70.

Οι συχνότητες που χρησιμοποιήθηκαν προέκυψαν από μια γεννήτρια τυχαίων αριθμών, όπως και ανωτέρω. Οι συχνότητες αυτές ήταν ισάριθμες με τις συχνότητες συντονισμού της πρωτεΐνης HSP-70.

Ο στόχος ήταν οι συνθήκες να εξομοιωθούν απολύτως, ούτως ώστε να μην υπάρχει κάποιος αστάθμητος παράγοντας που θα μπορούσε να επηρεάσει τον πειραματισμό. Οι υποομάδες αυτές αποτέλεσαν συνολικά την δεύτερη ομάδα ελέγχου με έκθεση.

3^{ov}) Η τρίτη ομάδα τρυβλίων αποτέλεσε την κυρίως ομάδα του πειράματος. Τα τρυβλία περιείχαν κύτταρα HeLa siRNA HSP-70 τα οποία σπάρθηκαν σε ίσους αριθμούς, όπως των ανωτέρω ελέγχων και τοποθετήθηκαν στην ίδια θέση εντός του κλωβού και σε απόσταση από την κεραία. Τα τρυβλία αυτά εκτέθηκαν στις συχνότητες συντονισμού της πρωτεΐνης HSP-70 σε ισάριθμες ομάδες ως εξής: η πρώτη επί 30 min, η δεύτερη επί 30x2 min και η τρίτη 30x3 min.

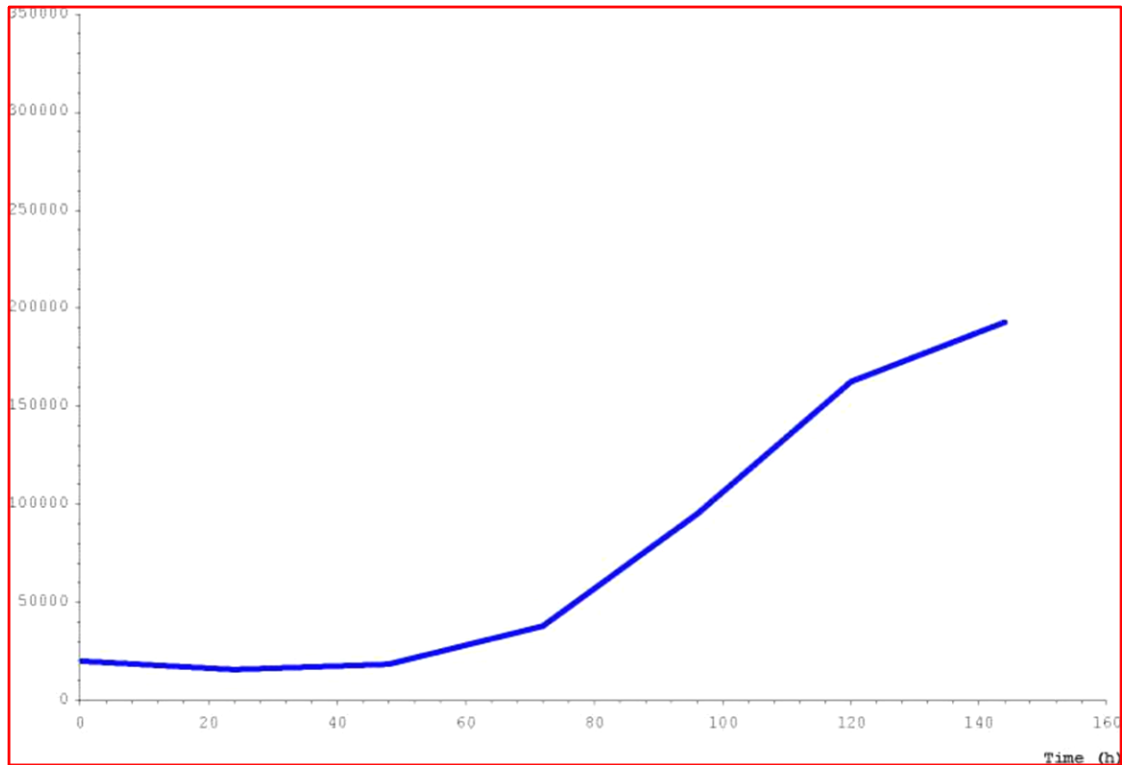
Οι ομάδες αυτές σχηματοποιούνται στον ακόλουθο πίνακα:

ΧΡΟΝΟΙ ΕΚΘΕΣΗΣ	30' (πρώτα λεπτά) X1	30' (πρώτα λεπτά) X2	30' (πρώτα λεπτά) X3
ΟΜΑΔΕΣ ΕΛΕΓΧΟΥ ΤΩΝ ΕΛΕΓΧΩΝ ΧΩΡΙΣ ΕΚΘΕΣΗ ΣΕ ΠΕΔΙΑ	15	15	15
ΟΜΑΔΕΣ ΕΛΕΓΧΟΥ ΜΕ ΕΚΘΕΣΗ ΣΕ ΠΕΔΙΑ ΤΥΧΑΙΩΝ ΣΥΧΝΟΤΗΤΩΝ	15	15	15
ΟΜΑΔΕΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ ΕΚΠΟΜΠΗΣ ΠΕΔΙΩΝ ΣΥΧΝΟΤΗΤΩΝ HSP-70	15	15	15

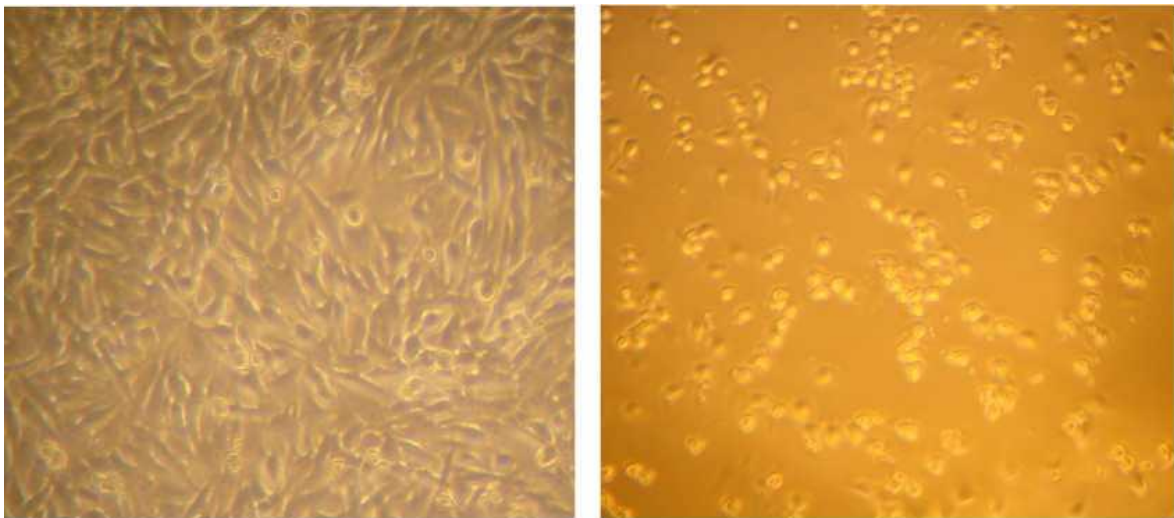
Είναι πολύ σημαντικό να υπογραμμίσουμε ότι ελήφθη ιδιαίτερη μέριμνα για την εξασφάλιση της πλήρους ομοιότητας των πειραματικών συνθηκών. Στο σημείο αυτό ο κλωβός Faraday που χρησιμοποιήσαμε ελέγχθηκε πολλές φορές με δύο τρόπους, όπως περιγράψαμε στο κεφάλαιο των Υλικών και Μεθόδων.

Αποτελέσματα των άνω περιγραφέντων πειραμάτων

1^{ov}) Η μέτρηση της ανάπτυξης των κυττάρων HeLa siRNA HSP-70 σε χρονικά διαστήματα τα οποία ξεκινούν από τον χρόνο μηδέν και φτάνουν μέχρι τις 160 ώρες δείχνουν ότι στα κύτταρα αυτά η απουσία της πρωτεΐνης HSP-70 ασκεί αρνητική δράση στην πολλαπλασιαστική τους ικανότητα, όπως φαίνεται από την αρχική μείωση του αριθμού των κυττάρων στις πρώτες 24 ώρες, αλλά και την εξαιρετικά βραδεία ανάπτυξη τους μέχρι περίπου τις 70 ώρες. Κατόπιν τα κύτταρα εισέρχονται σε μια ανάπτυξη που δεν είναι αμιγώς εκθετικού τύπου, μέχρι τον χρόνο των 160 ωρών που παρακολούθησαμε την ανάπτυξή τους, στον οποίο φθάνουν και τον μέγιστο αριθμό που παρατηρήσαμε στο πείραμα. Συνεπώς η πρωτεΐνη HSP-70 παίζει πολύ σημαντικό ρόλο για τις προσαρμογές τους και εν τέλει την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό τους (διάγραμμα 1). Όταν τα κύτταρα αυτά τεθούν εκτεθούν σε ήπιο θερμικό σοκ δεν επιβιώνουν και αποθνήσκουν σε ποσοστό 100%.

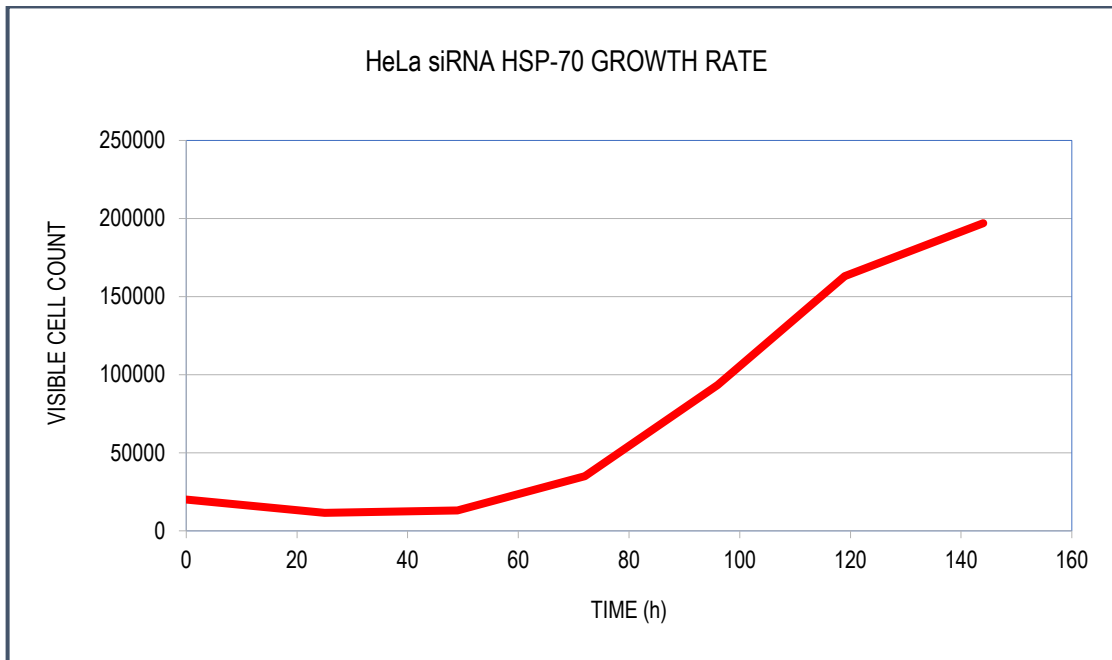


Εικόνα 3. Καμπύλη ανάπτυξης κυττάρων HeLa si HSP-70. Παρατηρούμε την ιδιαίτερη βραδεία ανάπτυξη των κυττάρων, της οποίας ο αργός ρυθμός οφείλεται στην απουσία της πρωτεΐνης HSP-70.



Κύτταρα HeLa siRNA HSP-70 πριν και μετά την έκθεσή τους σε θερμικό σοκ 43°C επί 60 min. Παρατηρείται ολικός θάνατος των κυττάρων που αποκολλώνται και αιωρούνται στο θρεπτικό υλικό.

HeLa siRNA HSP-70 GROWTH RATE								
VISIBLE CELL COUNT								
	0	20	40	60	80	100	120	140
TIME (h)	0	25	49	72	96	119	144	
HeLa siRNA HSP-70 GROWTH RATE	20000	11500	13000	35000	93500	163000	197000	



Εικόνα 4 Πορεία ανάπτυξης κυττάρων HeLa si RNA HSP-70 τα οποία εκτέθηκαν επί 30 min σε 334 συχνότητες συντονισμού της πρωτεΐνης HSP-70 (που ελήφθησαν μέσω του διαγνωστικού τμήματος της συσκευής MCDE-100V1, 4 μονάδες εκπομπής 400 συνολικά διάλυν) και κατόπιν υπέστησαν θερμικό σοκ στους 43 °C. Μετά το σοκ τα κύτταρα ετέθησαν υπό καλλιέργεια και έδειξαν πολλαπλασιαστική δραστηριότητα, υποδεικνύοντας ότι η έκθεση στις συχνότητες της HSP-g70 τα προστατεύσαν από τον θερμικό θάνατο.

1) Ομάδες Ελέγχου των Ελέγχων

Τα κύτταρα όλων των ομάδων Ελέγχου των Ελέγχων δεν κατόρθωσαν να επιβιώσουν από το θερμικό σοκ και απεβίωσαν σε ποσοστό **100%**. Το πλήρες αυτό ποσοστό θνησιμότητας είναι αναμενόμενο καθώς τα εν λόγω κύτταρα της σειράς **HeLa siRNA HSP-70** αδυνατούν να εμφανίσουν την οιαδήποτε έκφραση της πρωτεΐνης **HSP-70** επειδή το γονίδιο της δεν είναι σε θέση να δημιουργήσει μονόκλωνο mRNA. Συνεπώς τα κύτταρα αυτά δεν είχαν καμιά δυνατότητα να ξεπεράσουν με επιτυχία το επιβιωτικό φράγμα της θερμικής καταπόνησης και κατέρρευσαν απολύτως ως πληθυσμός μη δυνάμενα να αναπτύξουν καμιά αποικία στις μετά το σοκ καλλιέργειες.

2) *Ομάδες Ελέγχου με τυχαίες συχνότητες*

Όλες οι ομάδες Ελέγχου με τυχαίες συχνότητες είχαν απολύτως την ίδια κατάληξη με τα κύτταρα των ομάδων Ελέγχου των Ελέγχων. Οι τυχαίες συχνότητες δεν βοήθησαν διόλου στην επίτευξη οιασδήποτε επιβίωσης από την θερμική καταπόνηση, διότι η μεταφερόμενη σε αυτά ηλεκτρομαγνητική πληροφορία δεν λειτούργησε ως συγκεκριμένος μηχανισμός, ή μήνυμα προστασίας, των κυττάρων **HeLa siRNA HSP-70**. Και στην περίπτωση αυτήν το ποσοστό θνησιμότητας ήταν 100%, δηλαδή ολική κατάρρευση του κυτταρικού πληθυσμού σε όλα τα τρυβλία με μηδενική ανάπτυξη αποικιών μετά τις καλλιέργειές τους.

3) *Ομάδες κυττάρων έκθεσης στις συχνότητες συντονισμού της HSP-70*

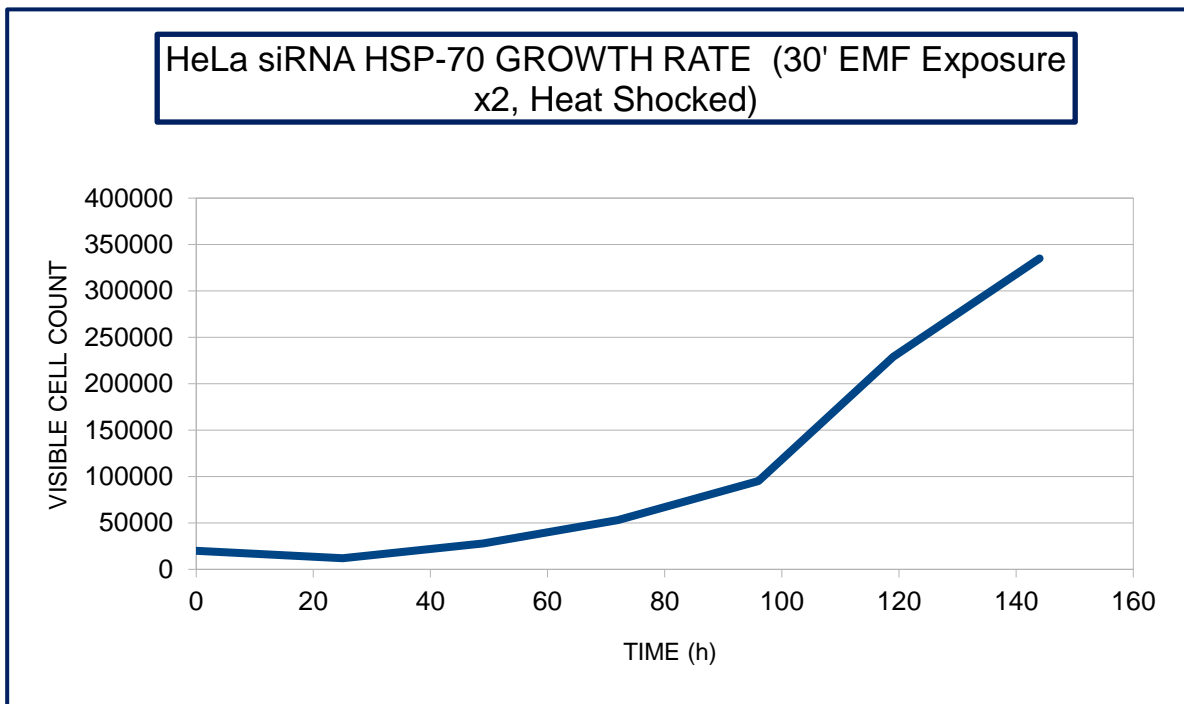
Συνολικά οι ομάδες κυττάρων **HeLa siRNA HSP-70** που εκτέθηκαν επί διαφορετικούς χρόνους στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία τα διαμορφωμένα σύμφωνα με τις συχνότητες συντονισμού της πρωτεΐνης **HSP-70** παρουσίασαν μεγάλο ποσοστό επιβίωσης, ξεπερνώντας το θανατηφόρο φράγμα της θερμικής καταπόνησης. Οι καμπύλες ανάπτυξης των εν λόγω κυττάρων φαίνεται να εμφανίζουν μια συσχέτιση αύξησης της βιωσιμότητας των κυττάρων που εκπροσωπούν ανάλογη με τον χρόνο έκθεσης (διαγράμματα 4, 5, 6 όπου οι αντίστοιχες εκθέσεις των κυττάρων στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία συντονισμού της πρωτεΐνης 70 του θερμικού σοκ είναι 1x30' min, 2x30' min & 3x30' min X αντιστοίχως). Έτσι παρατηρούμε τα εξής:

1^{ον} Στο διάγραμμα 4 τα κύτταρα κατά τις πρώτες 24 ώρες προσεγγιστικά μετά την δράση της θερμικής καταπόνησης μειώνονται σε αριθμό πλησιάζοντας αρκετά τον μηδενισμό του πληθυσμού τους. Ωστόσο μετά τις 24 ώρες παρουσιάζουν μια ελαφρά αύξηση στον ρυθμό του πολλαπλασιασμού τους, η οποία φαίνεται να έχει την ίδια κλίση μέχρι τον χρόνο των 72 ωρών. Κατόπιν η καμπύλη ανάπτυξης αυξάνει την κλίση της διατηρώντας την στην ίδια γωνία μέχρι την 100^η ώρα. Μετά την υπέρβαση της 100^{ης} ώρας η ταχύτητα πολλαπλασιασμού των κυττάρων σχεδόν υπερδιπλασιάζεται εισερχόμενη σε εκθετική φάση.

2^{ον} Στο διάγραμμα 5 τα κύτταρα εκτέθηκαν επί διπλάσιο χρόνο (2x30 min) στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία που εκπέμπονται διαμορφωμένα σύμφωνα με τις συχνότητες συντονισμού της HSP-70. Παρατηρούμε τα κύτταρα επιβίωσαν του θερμικού σοκ και ο ρυθμός πολλαπλασιασμού τους ανακάμπτει ταχέως ήδη μετά το πέρας των πρώτων 24 ωρών από την θερμική καταπόνηση, εισερχόμενος σε εκθετική φάση από τις 95 περίπου ώρες.

3^{ον} Στο διάγραμμα 6 τα κύτταρα εκτέθηκαν επί τριπλάσιο χρόνο (3x30 min) στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία που εκπέμπονται διαμορφωμένα σύμφωνα με τις συχνότητες συντονισμού της HSP-70. Παρατηρούμε τα κύτταρα επιβίωσαν του θερμικού σοκ και ο ρυθμός πολλαπλασιασμού τους ανακάμπτει μετά το πέρας των 48 ωρών από την θερμική καταπόνηση, εισερχόμενος σε εκθετική φάση από τις 75 περίπου ώρες.

HeLa siRNA HSP-70 GROWTH RATE (30' EMF Exposure x2, Heat Shocked)									
VISIBLE CELL COUNT									
	0	20	40	60	80	100	120	140	160
TIME (h)	0	25	49	72	96	119	144		
HeLa siRNA HSP-70 GROWTH RATE	20000	12000	28000	53000	95000	229000	335000		



Εικόνα 5: Πορεία ανάπτυξης των κυττάρων HeLa siRNA - HSP - 70 εκτεθέντων σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία διαμορφωμένα προς τις συχνότητες συντονισμού της πρωτεΐνης HSP-70. Η έκθεση στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία τα διαμορφωμένα σύμφωνα με τις συχνότητες συντονισμού της HSP-70 έχει χρονική διάρκεια 2x30' min Παρατηρούμε ότι η ανάκαμψη της ικανότητας πολλαπλασιασμού των κυττάρων είναι ταχύτερη σε σύγκριση με την αντίστοιχη εκείνων που είχαν εκτεθεί μόνον επί 30 min στα ίδια συντονισμένα πεδία.

Σχηματισμός αποικιών

Είναι σαφές ότι η εκπομπή των συχνοτήτων συντονισμού της πρωτεΐνης HSP – 70 λειτουργεί ισχυρώς προστατευτικά βοηθώντας τα κύτταρα **HeLa siRNA HSP-70** να επιβιώσουν του θερμικού σοκ ως εάν το αντίστοιχο γονίδιο της να εξέφραζε την σχετική πρωτεΐνη οξείας φάσης. Το ζήτημα αυτό φαίνεται να ακολουθεί μια μη δόσοεξαρτώμενη συμπεριφορά, καθόσον παρά τον διπλασιασμό και τριπλασιασμό του χρόνου έκθεσης στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία, δεν έχουμε αντιστοίχως διπλασιασμό και τριπλασιασμό της προστατευτικής δράσης τους, πράγμα που υποδεικνύει ότι η βέλτιστη απόδοση της έκθεσης να διέπεται από έναν περιοριστικό κανόνα ως προς τον χρόνο πρόσκρουσης του πεδίου με τα κύτταρα της συγκεκριμένης σειράς. Τα δεδομένα που μας οδηγούν στην σκέψη αυτή φαίνονται πολύ καθαρότερα από την ικανότητα σχηματισμού αποικιών των κυττάρων που εκτέθηκαν στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία, υποβλήθηκαν σε θερμικό σοκ και κατόπιν αφέθηκαν να πολλαπλασιαστούν επί μακρά χρονικά διαστήματα για να σχηματίσουν αποικίες. Έτσι στις κατωτέρω φωτογραφίες των δημιουργηθέντων αποικιών βλέπουμε την ακόλουθη διαβάθμιση:

1^{ov}) Τα κύτταρα **HeLa siRNA HSP-70** που υφίστανται το θερμικό σοκ, χωρίς προηγουμένως να έχουν δεχθεί την δράση του πεδίου αποθνήσκουν 100% (φωτογραφία άνω αριστερά).

2^{ov}) Τα κύτταρα **HeLa siRNA HSP-70** που υφίστανται το θερμικό σοκ, έχοντας προηγουμένως εκτεθεί στην δράση του πεδίου επί 30 min εμφανίζουν μια διάχυτη δημιουργία πολύ μικρών αποικιών με ελάχιστες από αυτές να έχουν ένα ορατό μέγεθος διά γυμνού οφθαλμού (φωτογραφία άνω δεξιά).

3^{ov}) Τα κύτταρα **HeLa siRNA HSP-70** που υφίστανται το θερμικό σοκ, έχοντας προηγουμένως εκτεθεί στην δράση του πεδίου 30x2 min εμφανίζουν μια διάχυτη δημιουργία μεγάλων και πολυάριθμων αποικιών πολλές εκ των οποίων ένα ορατό μέγεθος διά γυμνού οφθαλμού (φωτογραφία κάτω αριστερά).

4^{ov}) Τα κύτταρα **HeLa siRNA HSP-70** που υφίστανται το θερμικό σοκ, έχοντας προηγουμένως εκτεθεί στην δράση του πεδίου 30x3 min εμφανίζουν μια διάχυτη δημιουργία αξιόλογου αριθμού αποικιών, οι οποίες είναι μεν ορατές διά γυμνού οφθαλμού αλλά σαφώς λιγότερες σε σύγκριση με εκείνες των κυττάρων που εκτέθηκαν επί 30x2 min στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία των συχνοτήτων συντονισμού της πρωτεΐνης 70 του θερμικού σοκ (φωτογραφία κάτω δεξιά).

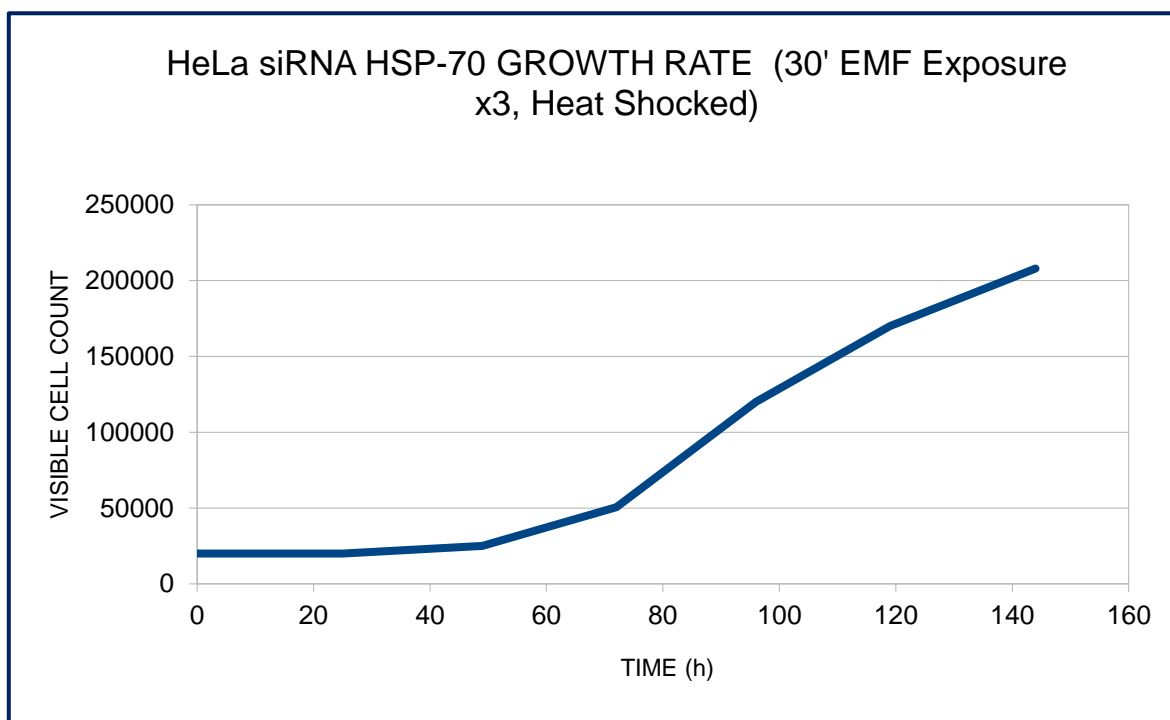
Η καταμέτρηση των αποικιών με στερεοσκόπιο έδειξε τα αποτελέσματα που φαίνονται στον κατωτέρω πίνακα:

Πίνακας

ΟΜΑΔΕΣ ΕΛΕΓΧΟΥ ΤΩΝ ΕΛΕΓΧΩΝ ΧΩΡΙΣ ΕΚΘΕΣΗ ΣΕ ΠΕΔΙΑ	ΟΜΑΔΕΣ ΕΛΕΓΧΟΥ ΕΚΘΕΣΗΣ ΣΕ ΤΥΧΑΙΑ ΠΕΔΙΑ	ΟΜΑΔΕΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ ΕΚΠΟΜΠΗΣ ΠΕΔΙΩΝ ΣΥΧΝΟΤΗΤΩΝ HSP-70
ΧΡΟΝΟΣ ΕΚΘΕΣΗΣ ΣΤΑ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΑ ΠΕΔΙΑ ΤΗΣ HSP-70	ΧΡΟΝΟΣ ΕΚΘΕΣΗΣ	ΧΡΟΝΟΣ ΕΚΘΕΣΗΣ
0	0 min	1x30 min
ΑΠΟΙΚΙΕΣ 0	ΑΠΟΙΚΙΕΣ 0	ΑΠΟΙΚΙΕΣ 255 ±12
-	2x30 min	2x30 min
-	0	1743 ± 49
-	3x30 min	834 ±28

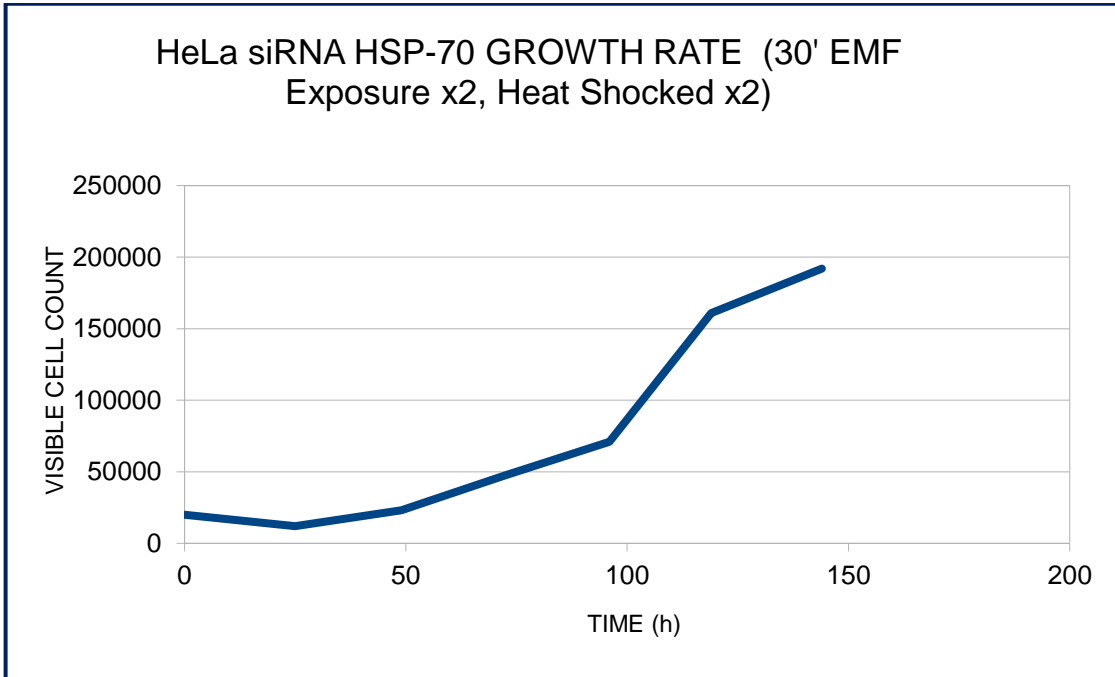
Πίνακας: Παρατηρούμε ότι τα επιβιώσαντα κύτταρα HeLa siRNA HSP-70 είναι μηδενικά στην περίπτωση του ελέγχου των ελέγχων χωρίς έκθεση στο διαμορφωμένο πεδίο κατά την ομάδα συχνοτήτων συντονισμού της HSP-70. Επίσης το ίδιο συμβαίνει και στην περίπτωση των τυχαίων πεδίων. Τα κύτταρα όμως που εκτίθενται στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία τα διαμορφωμένα σύμφωνα με τις συχνότητες συντονισμού της συγκεκριμένης πρωτεΐνης κατόπιν επιβιώνουν μετά την έκθεσή τους σε θερμικό σοκ επί 60 min. Η καλύτερη απόδοση σχηματισμού αποικιών εμφανίζεται από τα κύτταρα HeLa siRNA HSP-70 που εκτέθηκαν επί 60 min στα διαμορφωμένα πεδία. **p<0,05.**

HeLa siRNA HSP-70 GROWTH RATE (30' EMF Exposure x3, Heat Shocked)									
VISIBLE CELL COUNT									
	0	20	40	60	80	100	120	140	160
TIME (h)	0	25	49	72	96	119	144		
HeLa siRNA HSP-70 GROWTH RATE	20000	20000	25000	50500	120000	170000	208000		

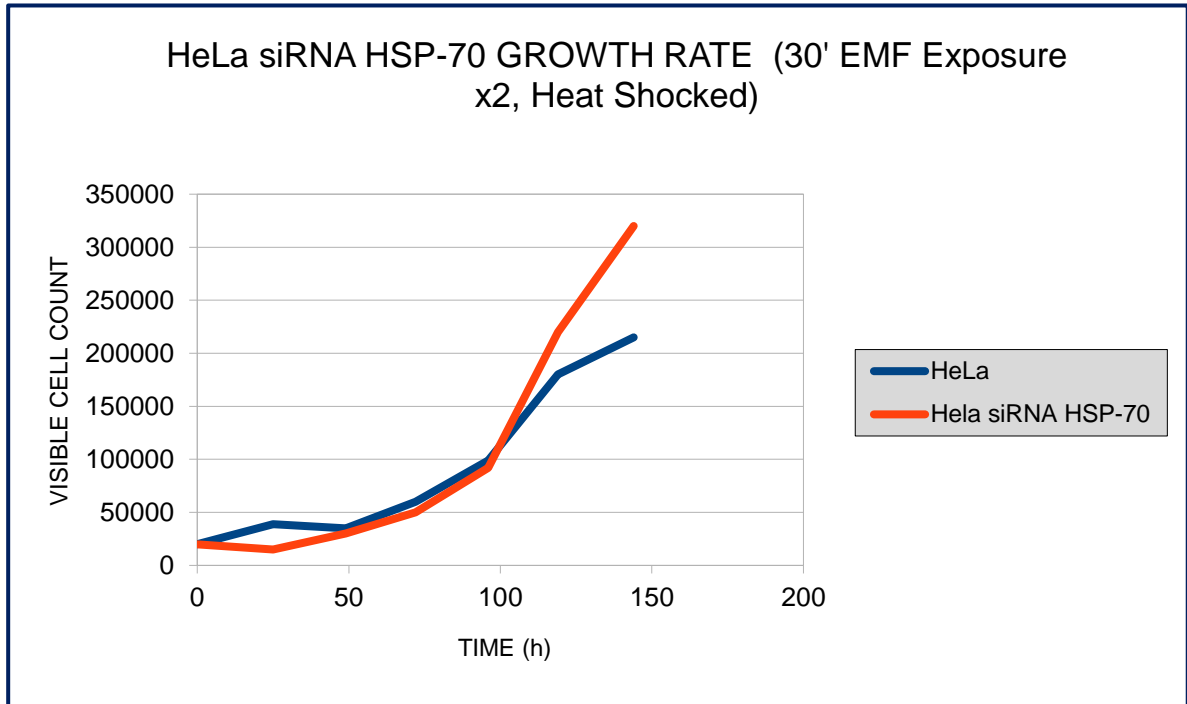


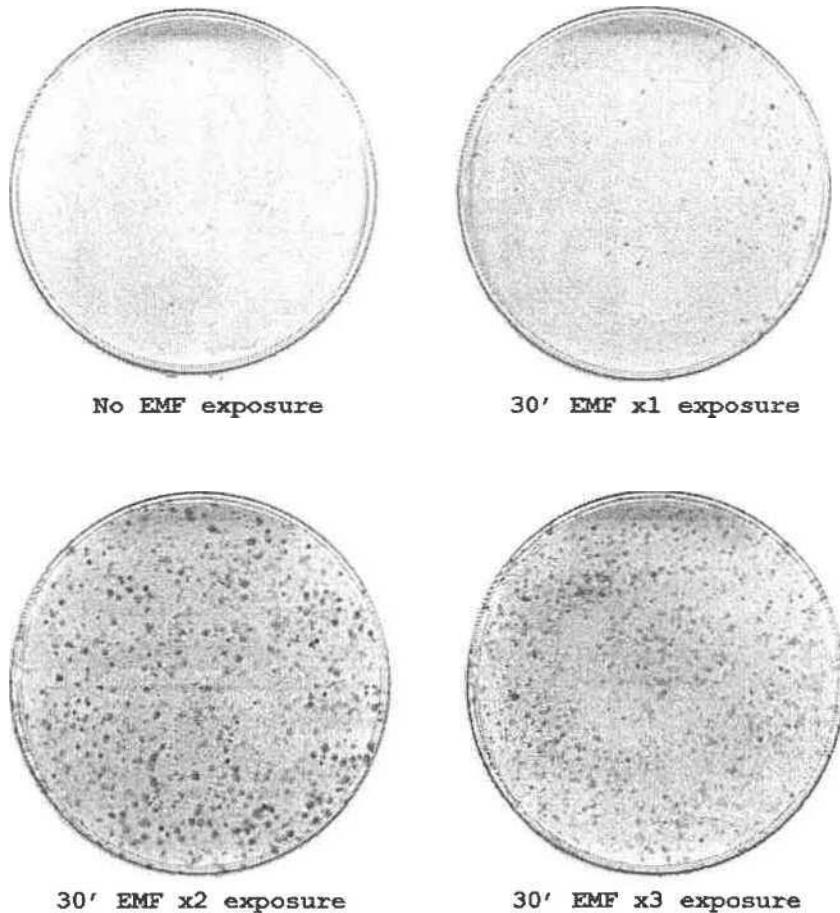
Εικόνα 6: καμπύλη ανάπτυξης των κυττάρων HeLa siRNA HSP-70 που εκτέθηκαν επί 90 min σε ΗΜΠ διαμορφωμένα ως οι συχνότητες συντονισμού της πρωτεΐνης 70 του θερμικού σοκ. Παρατηρούμε ότι η πολλαπλασιαστική ικανότητα των κυττάρων επανακάμπτει σε 48 ώρες μετά την χορήγηση του θερμικού σοκ και στις 78 – 80 ώρες, κατά προσέγγιση, εισέρχεται σε εκθετική φάση, υποδεικνύοντας ότι τα διαμορφωμένα ΗΜΠ έχουν δράση ανάλογη με την πρωτεΐνη HSP-70.

HeLa siRNA HSP-70 GROWTH RATE (30' EMF Exposure x2, Heat Shocked x2)									
VISIBLE CELL COUNT									
	0	20	40	60	80	100	120	140	160
TIME (h)	0	25	49	72	96	119	144		
HeLa siRNA HSP-70 GROWTH RATE	20000	12000	23000	47000	71000	161000	192000		



COMPARATIVE GROWTH RATE									
	VISIBLE CELL COUNT								
	0	20	40	60	80	100	120	140	160
TIME (h)	0	25	49	72	96	119	144		
HeLa	20000	39000	35000	60000	99000	180000	215000		
HeLa siRNA HSP-70	20000	15000	30000	50000	92000	220000	320000		





Φωτογραφίες κυτταρικών καλλιιεργειών που υπέστησαν θερμικό σοκ μετά την έκθεσή τους, ή μη, σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία διαμορφωμένα σύμφωνα με τις συχνότητες συντονισμού, οι οποίες είχαν καταγραφεί μέσω του διαγνωστικού μέρους της συσκευής MCDE – 100 V1. Επάνω αριστερά φωτογραφία μακροχρόνιας καλλιέργειας τρυβλίου περιέχοντος κύτταρα HeLa siRNA HSP-70 τα οποία δεν είχαν εκτεθεί σε ΗΜΓ πεδία συντονισμού της HSP-70 και κατόπιν υπέστησαν θερμικό σοκ στους 43°C επί 60 min. Στην άνω δεξιά φωτογραφία εικόνα τρυβλίου περιέχοντος κύτταρα HeLa siRNA HSP-70 τα οποία εκτέθηκαν σε ΗΜΠ συχνοτήτων συντονισμού της HeLa siRNA HSP-70 επί 30 min κατόπιν υποβλήθηκαν σε θερμικό σοκ. Παρατηρούμε μικρό σχηματισμό αποικιών. Στην κάτω αριστερή φωτογραφία έχουμε διπλασιασμό (2x10 min) της έκθεσης στα πεδία συντονισμού και μεγάλη αύξηση των αποικιών, ενώ στην κάτω δεξιά εικόνα έχουμε τριπλασιασμό του χρόνου έκθεσης (3x30 min) αλλά μείωση των αποικιών εν σχέσει με την προηγούμενη καλλιέργεια.

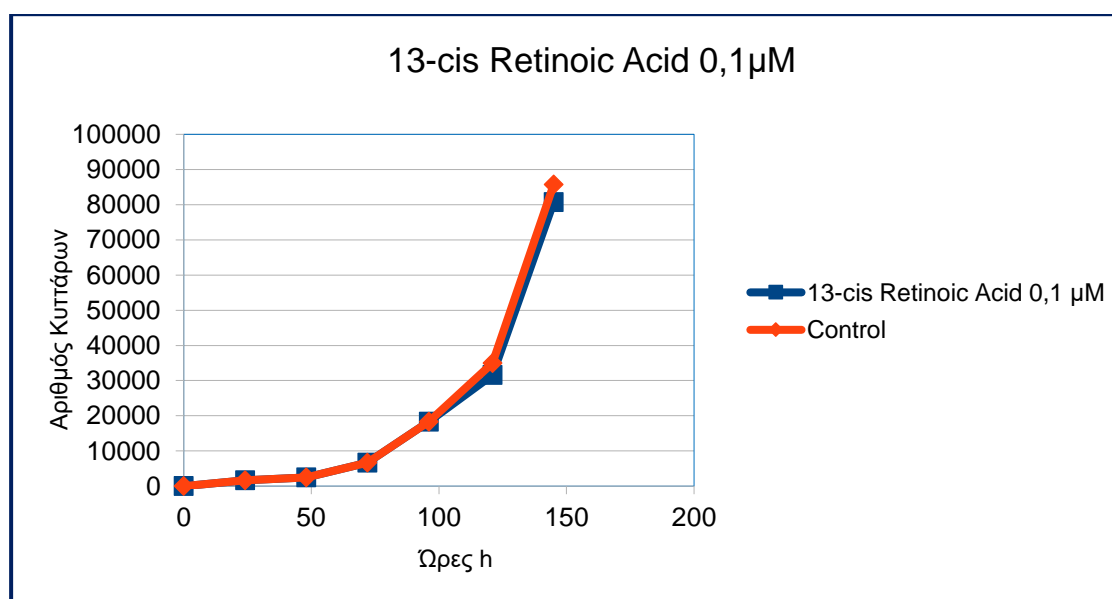
ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΔΙΑΦΟΡΟΠΟΙΗΣΗΣ ΚΥΤΤΑΡΩΝ K562 ΜΕ ΧΗΜΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ ΚΑΙ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΑ ΠΕΔΙΑ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ

Δράσεις 13-cis ρετινοϊκού οξέος στα κύτταρα K562

Το 13-cis ρετινοϊκό οξύ που χρησιμοποιήσαμε έχει μορφή στερεά και κρυσταλλική. σε στερεά κρυσταλλική μορφή, ενώ το διαλυτικό του μέσο είναι το DMSO. Στην μελέτη της δράσης του δοκιμάστηκαν οι παρακάτω συγκεντρώσεις: 0.1, 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 25, 50, 75, 100, 125, 500 και 1000 μM και προέκυψαν καμπύλες ανάπτυξης για την κάθε περίπτωση

Αποτελέσματα

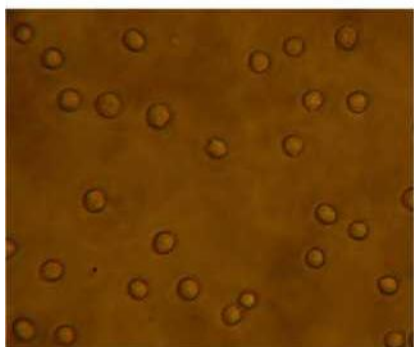
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
13-cis Retinoic Acid 0,1 μM	0	1665	2497,5	6660	18315	31635	80752,5
Control	0	1665	2497,5	6660	18315	34965	85747,5



Διάγραμμα 1

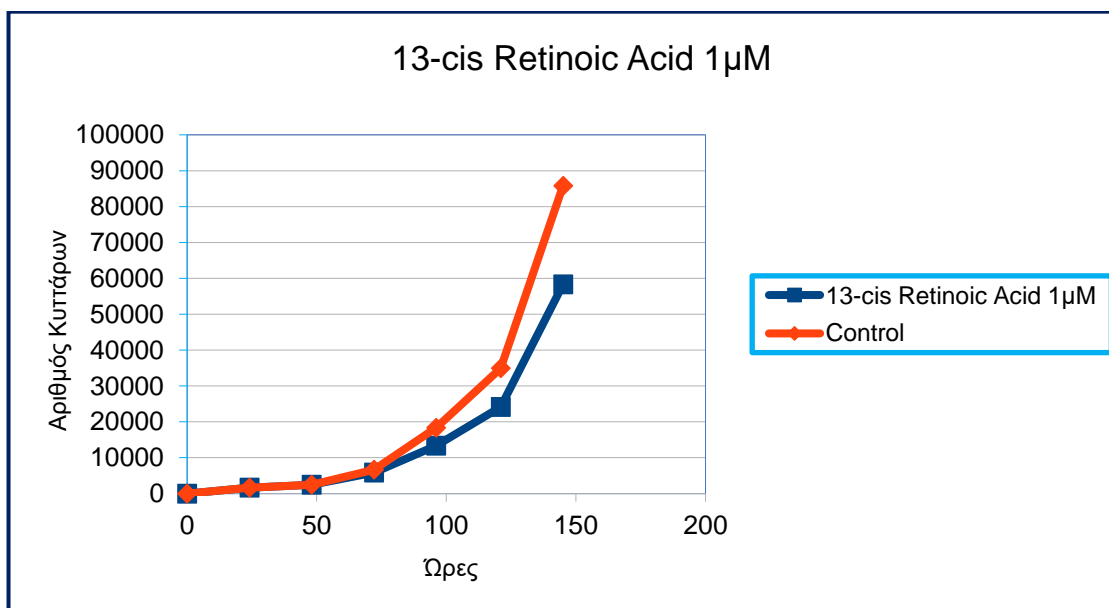
Από τις καμπύλες ανάπτυξης των συγκεντρώσεων 0.1 και 0.5 μM του 13-cis ρετινοϊκού οξέος παρατηρείται ότι το control και το δείγμα έχουν τον ίδιο ρυθμό ανάπτυξης.

Αυτό υποδηλώνει ότι οι συγκεντρώσεις αυτές δεν επηρεάζουν τον ρυθμό ανάπτυξης της κυτταρικής σειράς K562. Δεν παρατηρείται καμία αλλαγή στο σχήμα, το μέγεθος και το χρώμα των κυττάρων όπως φαίνεται και από την εικόνα.



Φωτογραφία στο μικροσκόπιο των κυττάρων K562. Δεν παρατηρούνται αλλαγές στο μέγεθος και στο χρώμα.

	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
13-cis Retinoic Acid 1 μ M	0	1665	2497,5	5827,5	13320	24142,5	58275
Control	0	1665	2497,5	6660	18315	34965	85747,5

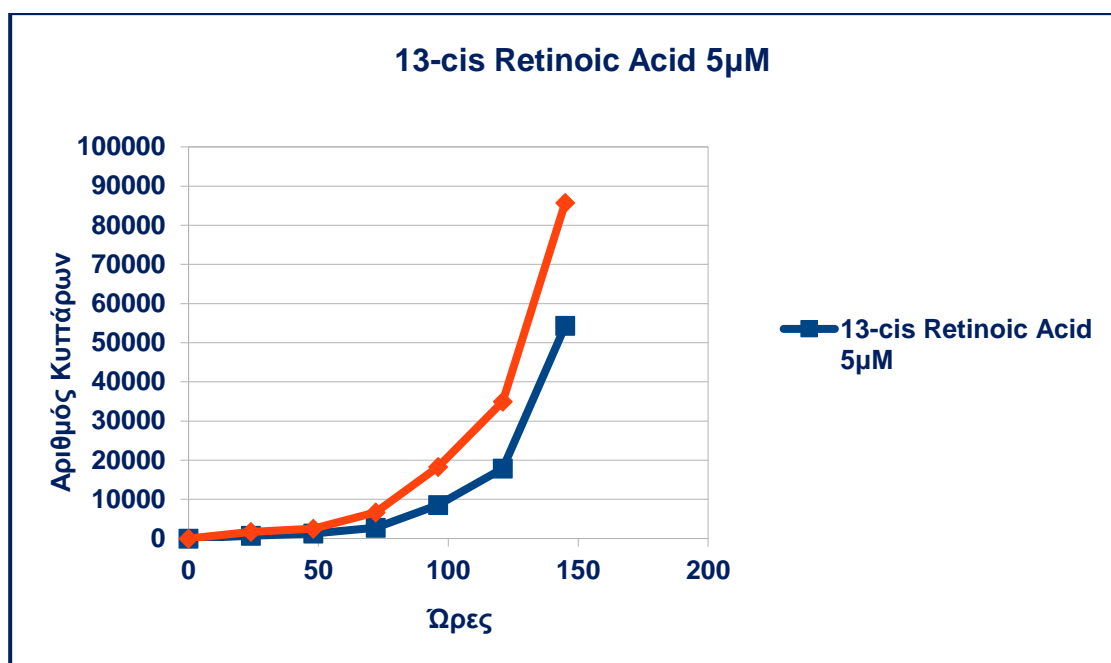


Διάγραμμα 2

Η κυανή γραμμή αντιπροσωπεύει τους ελέγχους ενώ η μωβ καμπύλη αντιπροσωπεύει τα κύτταρα στα οποία τέθηκε ρετινοϊκό οξύ **1 μ M** συγκέντρωσης. Στην συγκέντρωση αυτή οι δύο καμπύλες ήδη παρουσιάζουν απόκλιση ενώ ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων με ρετινοϊκό οξύ μειώνεται σαφώς, αλλά εξακολουθεί να έχει εκθετική πορεία.

Αποτελέσματα

	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
13-cis Retinoic Acid 5 μ M	0	714,285	1285,713	2714,283	8571,42	17857,125	54285,66
Control	0	1665	2497,5	6660	18315	34965	85747,5



Διάγραμμα 3

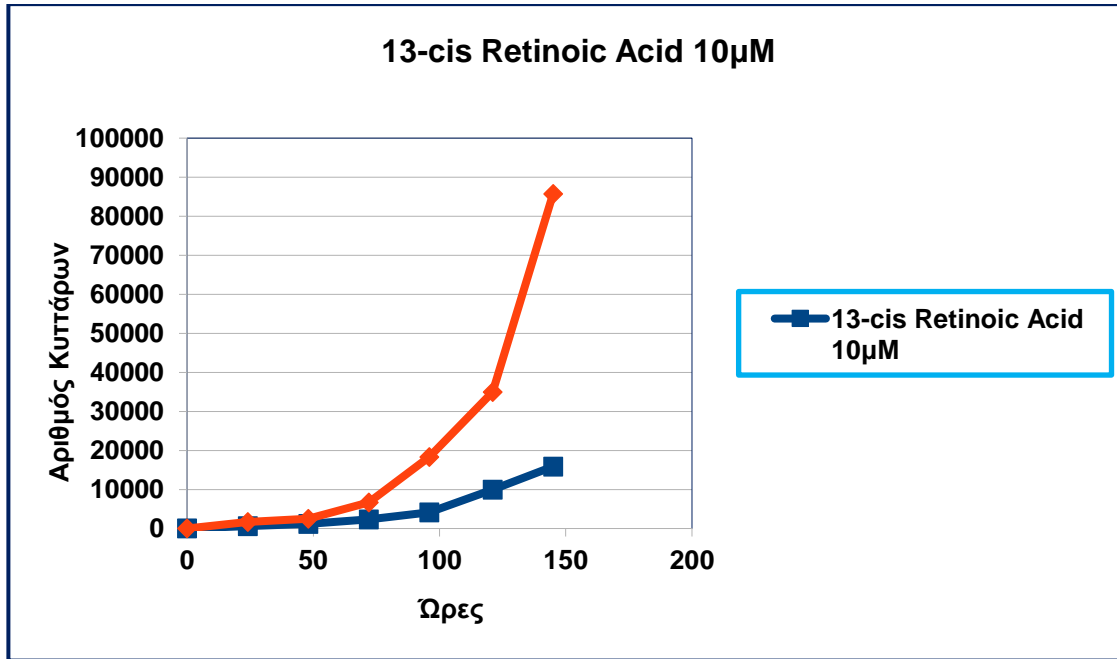
Η κυανή γραμμή αντιπροσωπεύει τους ελέγχους ενώ η μωβ καμπύλη αντιπροσωπεύει τα κύτταρα στα οποία τέθηκε ρετινοϊκό οξύ **5 μ M** συγκέντρωσης. Στην συγκέντρωση αυτή οι δύο καμπύλες παρουσιάζουν μεν απόκλιση ενώ ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων με ρετινοϊκό οξύ μειώνεται αλλά εξακολουθεί να έχει εκθετική πορεία. Το σχήμα και το μέγεθος των κυττάρων δεν μεταβάλλεται ως προς τους ελέγχους.

Γενικότερα στις συγκεντρώσεις ρετινοϊκού οξέος μεταξύ 1 – 10 μ M δεν παρατηρείται μεγάλη διαφορά στην εξέλιξη των καμπυλών ανάπτυξης των κυττάρων, παρά το γεγονός ότι υπάρχει επιβράδυνση του ρυθμού ανάπτυξης εν σχέσει με τους ελέγχους. Επίσης η μορφολογία των κυττάρων παραμένει αμετάβλητη και όμοια ως προς εκείνη των ελέγχων.

Συνεπώς στις μικρές αυτές συγκεντρώσεις μπορούμε να πούμε ότι το 13-cis-ρετινοϊκό οξύ δεν δρα διαφοροποιητικά, ούτε προκαλεί μειώσεις του κυτταρικού πολλαπλασιασμού.

Αποτελέσματα

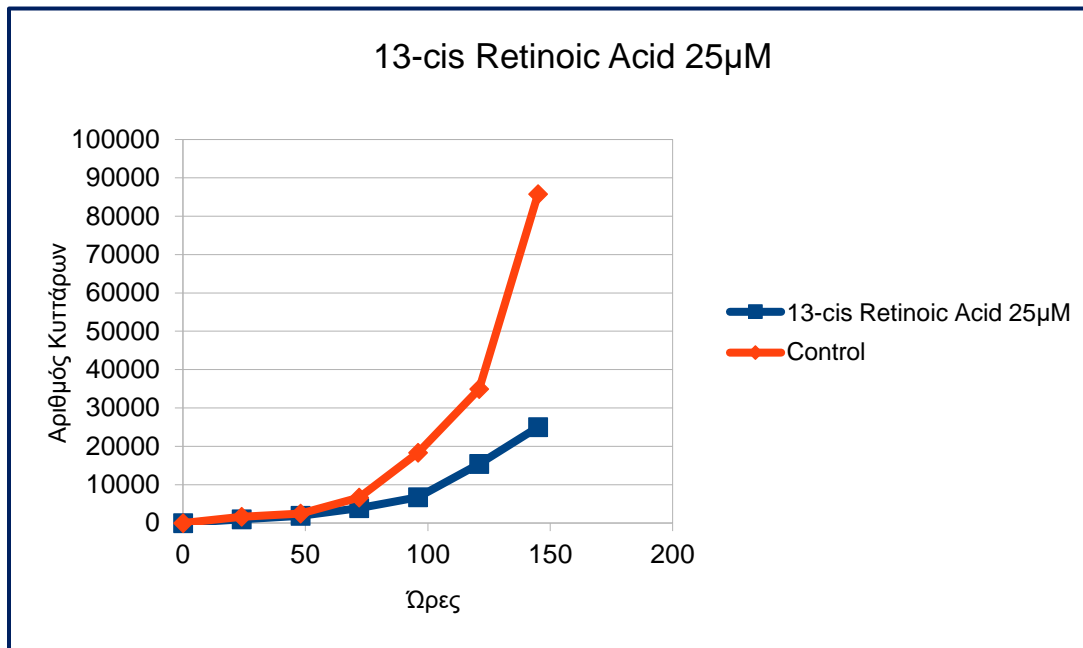
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
13-cis Retinoic Acid 10 μ M	0	588,235	1176,47	2352,94	4117,645	9999,995	15882,345
Control	0	1665	2497,5	6660	18315	34965	85747,5



Διάγραμμα 4

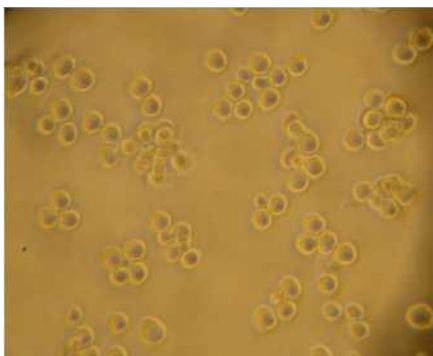
Αποτελέσματα

	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
13-cis Retinoic Acid 25 μ M	0	961,535	1923,07	3846,14	6730,745	15385,56	24999,91
Control	0	1665	2497,5	6660	18315	34965	85747,5



Διάγραμμα5

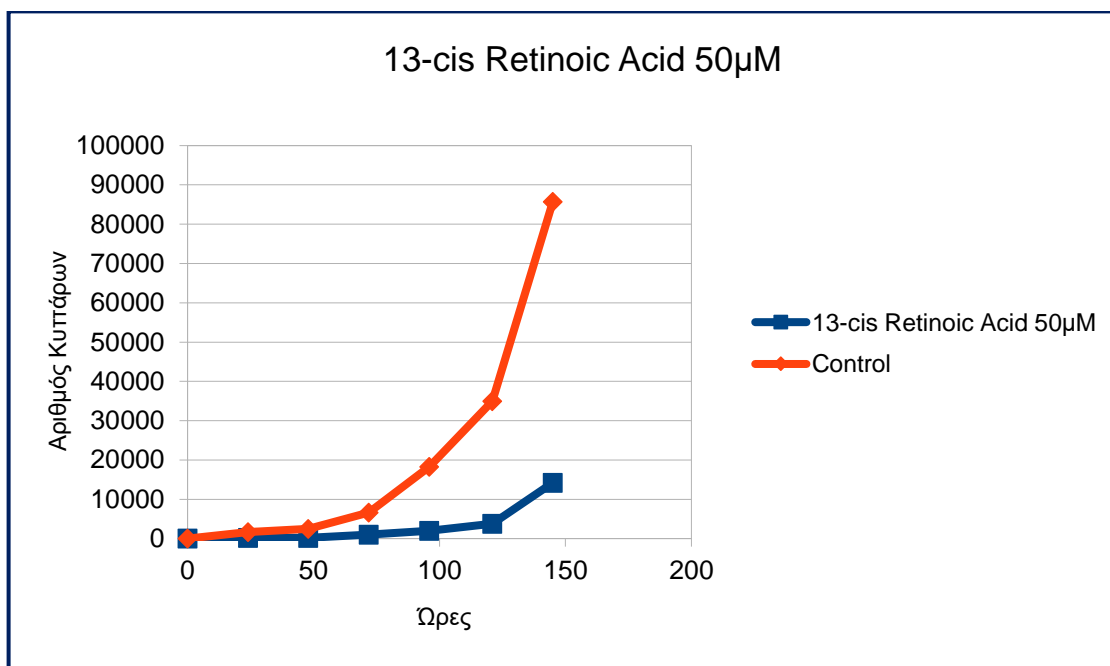
Η κυανή γραμμή αντιπροσωπεύει τους ελέγχους ενώ η μωβ καμπύλη αντιπροσωπεύει τα κύτταρα στα οποία τέθηκε ρετινοϊκό οξύ 25 μM συγκέντρωσης. Στην συγκέντρωση αυτή οι δύο καμπύλες μεγάλη απόκλιση και ο ρυθμός ανάπτυξης των κυττάρων K562 που επώαστηκαν με 25 μM ρετινοϊκού οξέος είναι σημαντικά μικρότερος, ως προς τον αντίστοιχο των ελέγχων.



Η φωτογραφική απεικόνιση των κυττάρων K562 δείχνει ότι αυτά συρρέουν σε ολιγάριθμες αποικίες ενώ τα κύτταρα εξακολουθούν να είναι μικρά και δεν παρουσιάζουν διαφορά χρώματος στο κυτταρόπλασμα. Ωστόσο φαίνεται σε μερικά από αυτά ότι οι πυρήνες τους παρουσιάζουν μια ελαφρά έκκεντρη μετακίνηση, η οποία μπορεί να ληφθεί ως ένδειξη διαφοροποίησης.

Αποτελέσματα

	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
13-cis Retinoic Acid 50μM	0	211,126	211,126	1052,63	1999,997	3810,523	14210,505
Control	0	1665	2497,5	6660	18315	34965	85747,5



Διάγραμμα 6

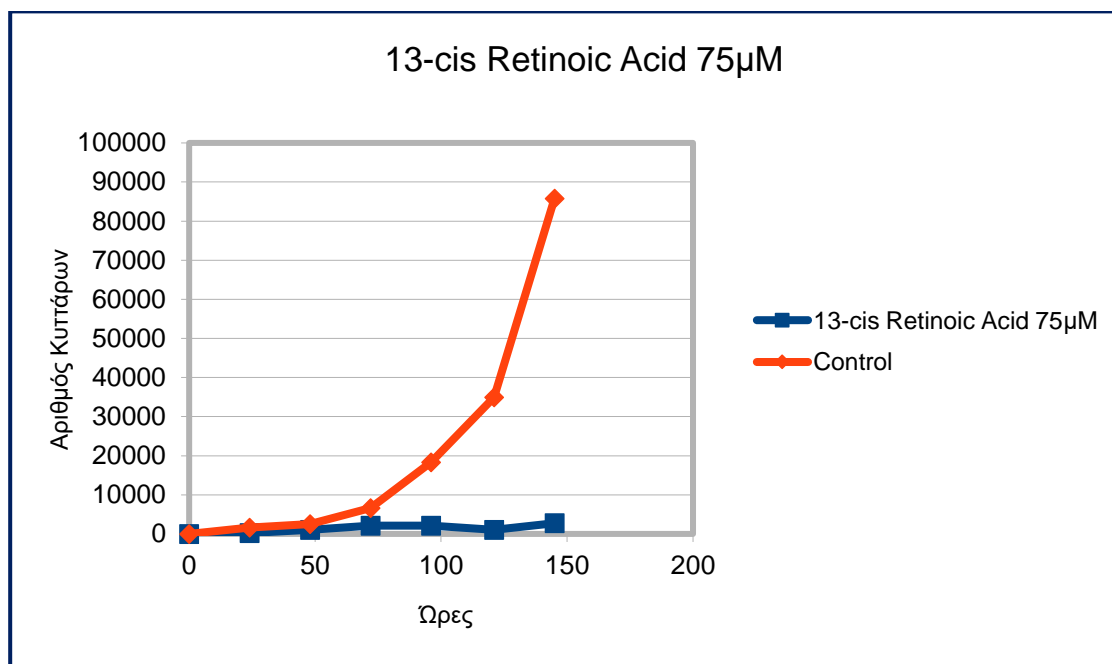
Καμπύλες ανάπτυξης κυττάρων K562.

Η κυανή γραμμή αποτελεί την καμπύλη ανάπτυξης κυττάρων K562 που πολλαπλασιάζονται ελεύθερα χωρίς την παρουσία κάποιας ανασταλτικής ουσίας. Η μωβ καμπύλη δείχνει τον ρυθμό πολλαπλασιασμού των κυττάρων K562 με προσθήκη 13-cis-ρετινοϊκού οξέος συγκέντρωσης 50 μM στο καλλιεργητικό υγρό των κυττάρων.

Παρατηρούμε ότι η προσθήκη του ρετινοϊκού οξέος σε αυτήν την συγκέντρωση οδηγεί σε μεγάλη επιβράδυνση της ανάπτυξης των κυττάρων.

Αποτελέσματα

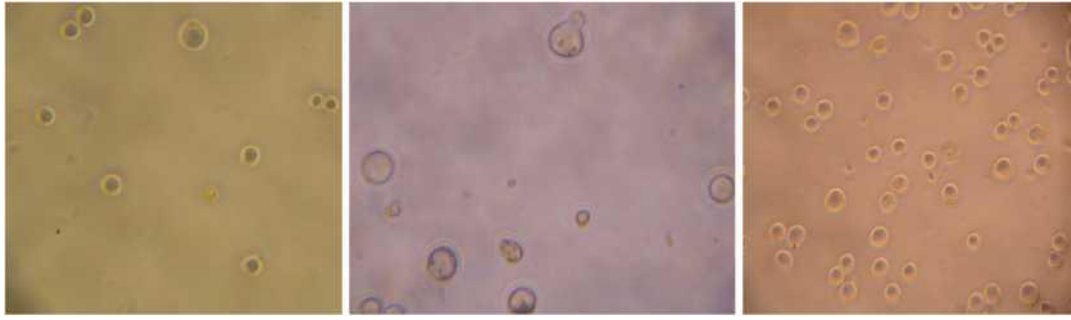
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
13-cis Retinoic Acid 75μM	0	210,526	1052,63	2105,26	2105,26	1052,63	2736,838
Control	0	1665	2497,5	6660	18315	34965	85747,5



Διάγραμμα 7

Καμπύλες ανάπτυξης κυττάρων K562.

Η κυανή γραμμή αποτελεί την καμπύλη ανάπτυξης κυττάρων K562 που πολλαπλασιάζονται ελεύθερα χωρίς την παρουσία κάποιας ανασταλτικής ουσίας. Η μωβ καμπύλη δείχνει τον ρυθμό πολλαπλασιασμού των κυττάρων K562 με προσθήκη 13-cis-ρετινοϊκού οξέος συγκέντρωσης 75 μM στο καλλιεργητικό υγρό των κυττάρων. Παρατηρούμε ότι η προσθήκη του ρετινοϊκού οξέος σε αυτήν την συγκέντρωση οδηγεί σε σχεδόν πλήρη αναστολή του πολλαπλασιασμού των κυττάρων και σε σταθεροποίηση του αριθμού τους στις τιμές που είχαν περίπου κατά την σπορά τους.

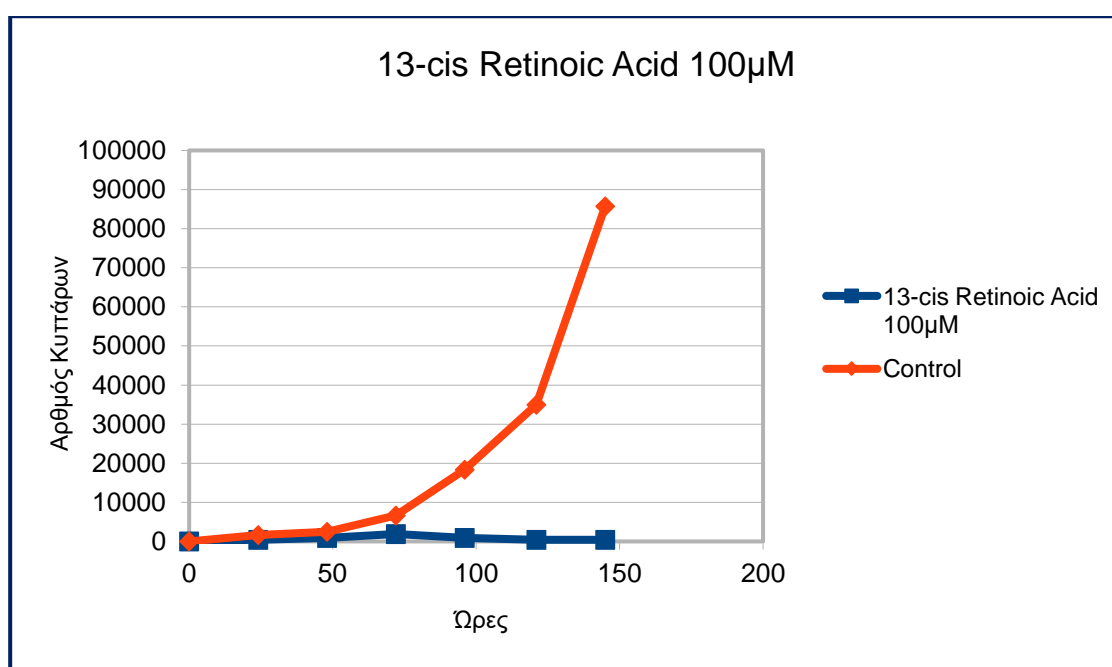


Στις φωτογραφίες αυτές παρατηρούμε την δράση των συγκεντρώσεων των 75 μM του 13-*cis*-ρετινοϊκού οξέος στα κύτταρα K562 σε διαφορετικές χρονικές στιγμές. Στην αριστερή εικόνα βλέπουμε τα κύτταρα K562 μετά από ένα χρόνο καλλιέργειας 48 ωρών. Παρατηρούμε ότι τα κύτταρα είναι πιο μεγάλα από τα αρχικά κύτταρα που σπάρθηκαν. Η τοποθέτηση του πυρήνα είναι ακόμη κεντρική, ενώ υπάρχει μια μικρή αλλαγή χροιάς στο κυτταρόπλασμα. Στην δεξιά εικόνα βλέπουμε τα κύτταρα λίγη ώρα μετά την σπορά τους. Ο αριθμός των κυττάρων είναι μεγαλύτερος από τον αντίστοιχο αριθμό τους των 48 ωρών καλλιέργειας, ενώ ο πυρήνας είναι τοποθετημένος κεντρικά. Στην μεσαία εικόνα παρατηρούμε ότι η μορφολογία των κυττάρων είναι πολύ διαφορετική από αυτήν της στιγμής 0 και της στιγμής των 48 ωρών. Τα κύτταρα έχουν μεγαλύτερο μέγεθος από εκείνο της στιγμής μετά στην σπορά (δεξιά εικόνα) ενώ το πρωτόπλασμα τους εμφανίζει χροιά ελαφρά κίτρινη. Ωστόσο η σημαντικότερη μορφολογική τους διαφορά σχετίζεται με την θέση του πυρήνα, ο οποίος είναι τοποθετημένος έκκεντρα, σε επαφή με την κυτταροπλασματική μεμβράνη (π.χ στο κύτταρο που ευρίσκεται στο κάτω μέρος της εικόνας σε επαφή με το πλαίσιο της και στο μέσο αυτού (ώρα 6 αν επρόκειτο για ωρολόγιο), όπως επίσης και στο κύτταρο της θέσης ώρα 12 (άνω κεντρικά στο μέσον). Ειδικά στο εν λόγω κύτταρο που ευρίσκεται στην θέση της ώρας 12 παρατηρούμε μια σφαιρική προεκβολή του κυτταροπλάσματος στο άνω μέρος του κυττάρου που αντιστοιχεί στο *στιγμιότυπο της εκπορήνισής* του, δηλαδή της αποβολής του πυρήνα. Στο μέσον επίσης της αριστερής πλευράς του τετράγωνου πλαισίου της φωτογραφίας (θέση 9^η ώρα) υπάρχει ένα μεγάλο κύτταρο το οποίο δεν εμφανίζει πυρήνα. Η συνολική εικόνα δείχνει ότι τα κύτταρα K562 διαφοροποιούνται σε κύτταρα τείνοντα μορφολογικά προς τα ερυθρά αιμοσφαίρια. Η εικόνα αυτή επιβεβαιώνεται και από τις αντίστοιχες μετρήσεις του περιεχομένου της αιμοσφαιρίνης σε κύτταρα διαφόρων ωρών καλλιέργειας, όπως θα δούμε κατωτέρω.

Στις συγκεντρώσεις των 100 μM 13-cis- ρετινοϊκού οξέος τα κύτταρα K562 σταματούν πλέον να πολλαπλασιάζονται και ο αριθμός τους στις 140 ώρες καλλιέργειας είναι μικρότερος από τον αριθμό των αρχικώς σπαρθέντων κυττάρων.

Αποτελέσματα

	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
13-cis Retinoic Acid 100 μM	0	400	900	1900	900	400	400
Control	0	1665	2497,5	6660	18315	34965	85747,5



Διάγραμμα 8

Διάγραμμα ανάπτυξης κυττάρων K562.

Η κυανή καμπύλη δείχνει την ανάπτυξη των κυττάρων ελέγχου. Η μωβ καμπύλη δείχνει την ανάπτυξη των κυττάρων στα οποία προσθέσαμε 100 μM 13-cis- ρετινοϊκού οξέος. Παρατηρούμε ότι η καμπύλη ανάπτυξης των κυττάρων παρουσία αυτής της συγκέντρωσης του ρετινοϊκού οξέος είναι παράλληλη και εφάπτεται με τον άξονα των X. Η κατωτέρω εικόνα στο μικροσκόπιο (μεγέθυνση 20x) επιβεβαιώνει την πλήρη απουσία κυτταρικής ανάπτυξης.



Εικόνα κυττάρων K562 μετά από 140 ώρες καλλιέργειας. Τα κύτταρα είναι λιγότερα από εκείνα τα οποία σπείραμε στα τρυβλία.

Οι δράσεις του 13-cis ρετινοϊκού οξέος στα κύτταρα K562 είναι πολύ ισχυρές και δόσοεξαρτώμενες. Τα κύτταρα μεταβάλουν το ρυθμό ανάπτυξης, αλλάζουν μορφολογικά και αποκτούν χαρακτηριστικά προερυθροβλαστών. Παρατηρείται συσσώρευση χρωστικών στο κυτταρόπλασμα, έκκεντρη τοποθέτηση του πυρήνα και εκφυρήνιση.

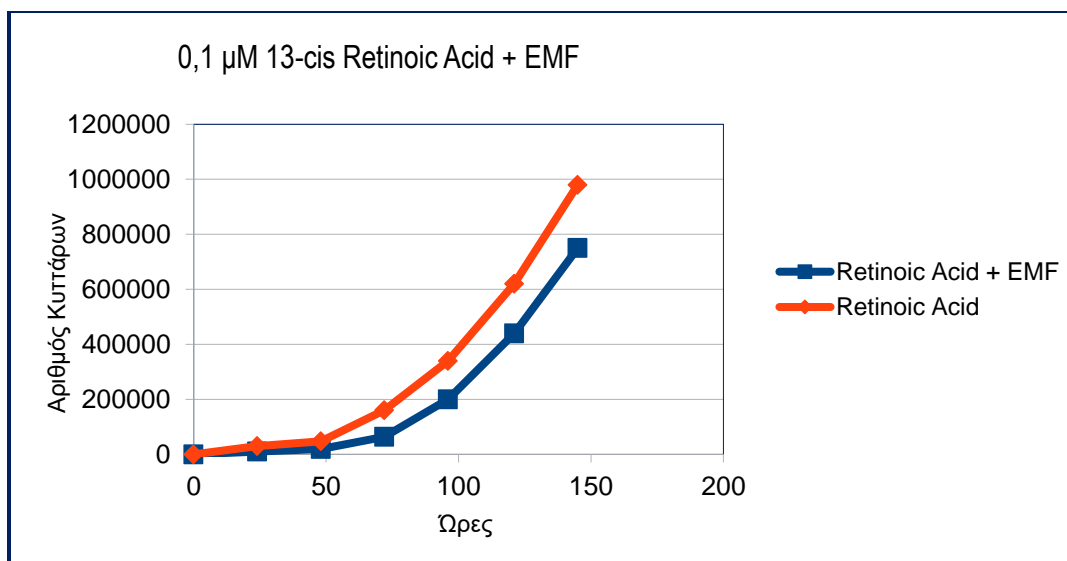
Συνδυασμός του 13-cis ρετινοϊκού οξέος ως ουσία με τις συχνότητες συντονισμού αυτού

Και σε αυτήν την περίπτωση το 13-cis ρετινοϊκό οξύ διαλύεται σε DMSO. Οι συγκεντρώσεις οι οποίες δοκιμάστηκαν είναι: 0.1, 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 25, 50, 75, 100 και 125 μM . Τα δείγματα αυτά υπόκεινται σε ημίωρη καθημερινή έκθεση στις συχνότητες συντονισμού του 13-cis ρετινοϊκού οξέος.

Από τις παρακάτω καμπύλες ρυθμού ανάπτυξης παρατηρείται ότι σε περίπτωση χορήγησης του 13-cis ρετινοϊκού οξέος, με παράλληλη έκθεση των καλλιιεργειών στις συχνότητες συντονισμού του, προκύπτουν πάντα μικρότεροι ρυθμοί ανάπτυξης από αυτές στις οποίες έχει χορηγηθεί μόνο το 13-cis ρετινοϊκό οξύ

Αποτελέσματα

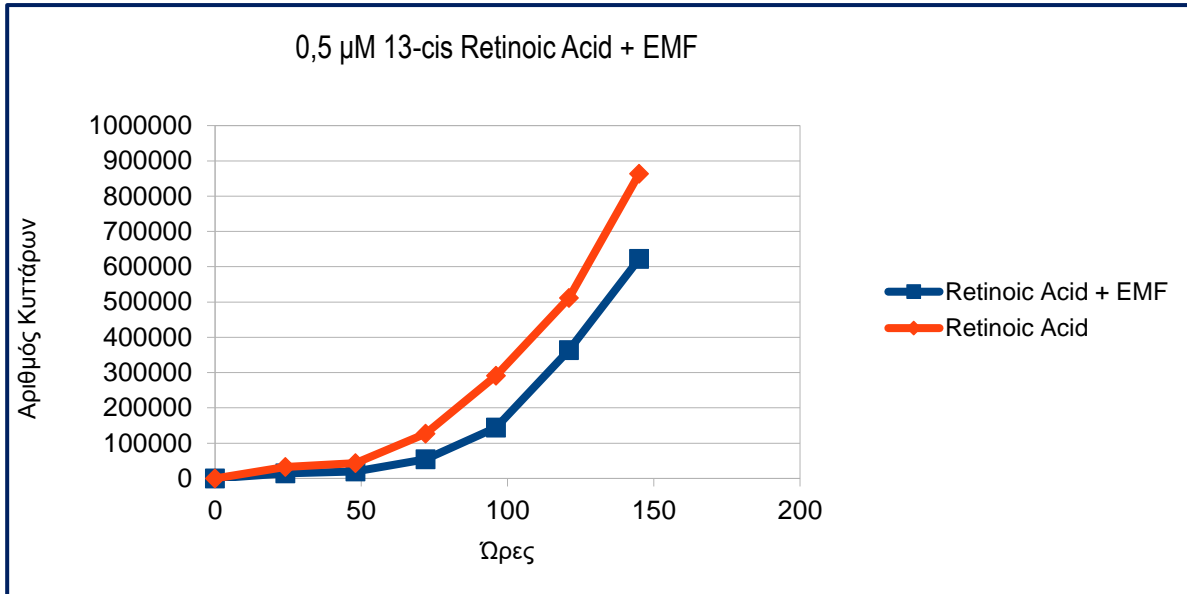
0,1 μ M 13-cis Retinoic Acid + EMF							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
Retinoic Acid + EMF	0	10000	20000	64000	200000	440000	750000
Retinoic Acid	0	30000	47000	160000	340000	620000	980000



Διάγραμμα 9

Αποτελέσματα

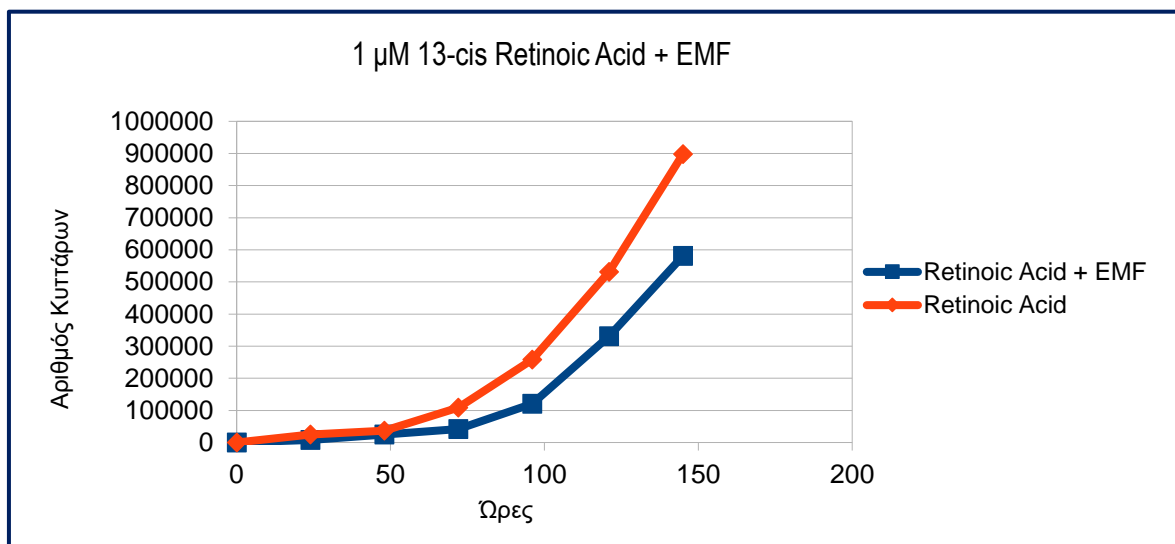
0,5 μ M 13-cis Retinoic Acid + EMF							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
Retinoic Acid + EMF	0	14550	19998	54540	143650	363600	622210
Retinoic Acid	0	32750	43650	127260	290880	511000	863550



Διάγραμμα 10

Αποτελέσματα

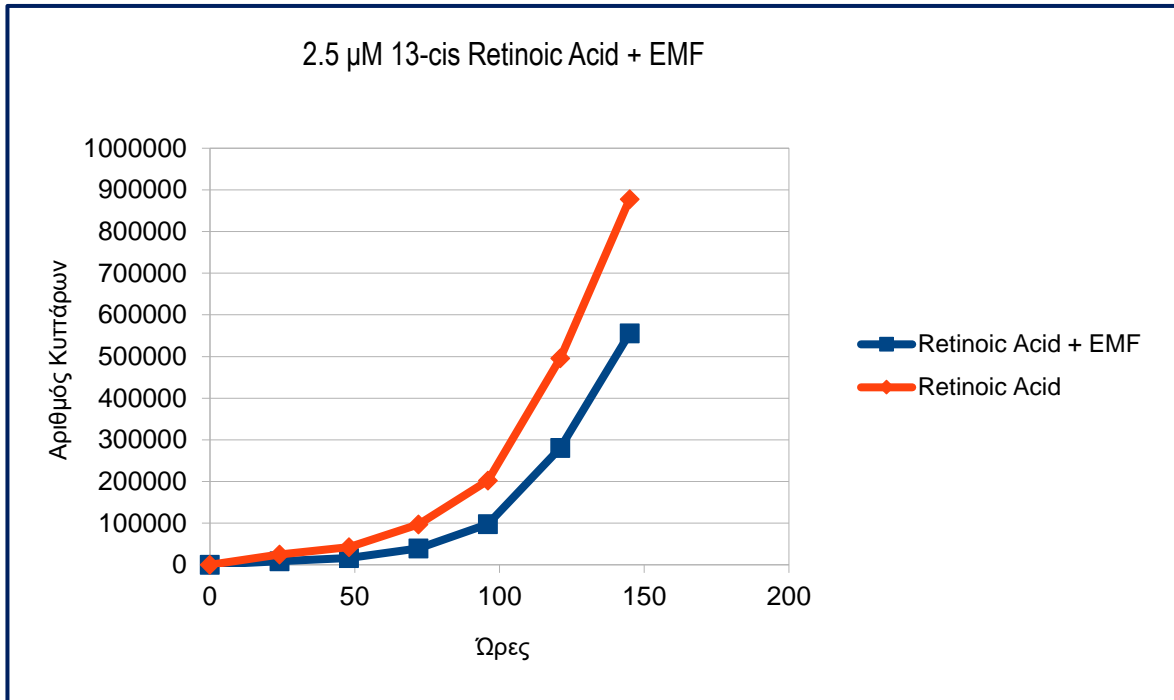
1 μ M 13-cis Retinoic Acid + EMF							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
Retinoic Acid + EMF	0	8325	24975	41625	120530	330650	580750
Retinoic Acid	0	24975	36630	108225	258075	531135	898000



Διάγραμμα11

Αποτελέσματα

2.5 μ M 13-cis Retinoic Acid + EMF							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
Retinoic Acid + EMF	0	8325	15975	39625	98150	280650	555750
Retinoic Acid	0	24975	42630	97100	202530	496135	878000



Διάγραμμα 12



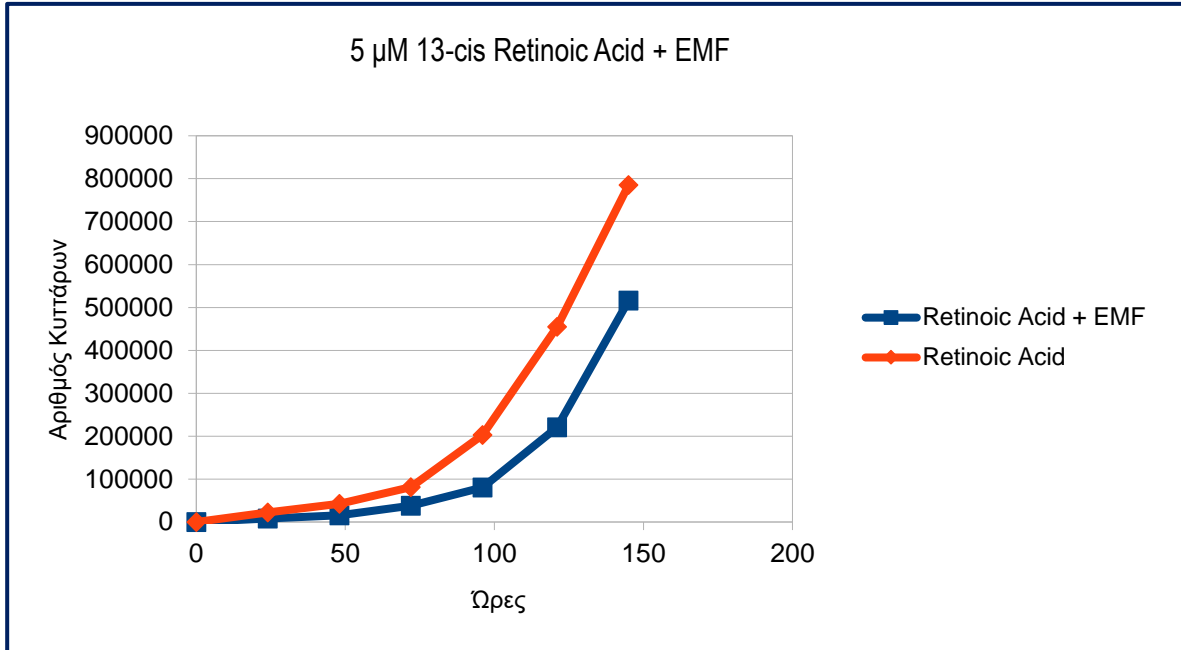
Η εικόνα αυτή παρουσιάζει τα κύτταρα control. Την ίδια ακριβώς εικόνα εμφανίζουν και τα κύτταρα των δειγμάτων 0.1, 0,5, 1, 2.5 και 5 μ M με ταυτόχρονη έκθεση τους στις συχνότητες συντονισμού του 13-cis ρετινοϊκού οξέος.

Μεγαλύτερη μείωση του ρυθμού ανάπτυξης παρατηρείται από το δείγμα με συγκέντρωση 10 μ M του 13-cis ρετινοϊκού οξέος και πάνω. Στο κατωτέρω διάγραμμα αρ. 12 φαίνεται η μείωση του ρυθμού πολλαπλασιασμού των κυττάρων.

Στο παρακάτω **διάγραμμα 13** βλέπουμε περαιτέρω μείωση του ρυθμού πολλαπλασιασμού των κυττάρων.

Αποτελέσματα

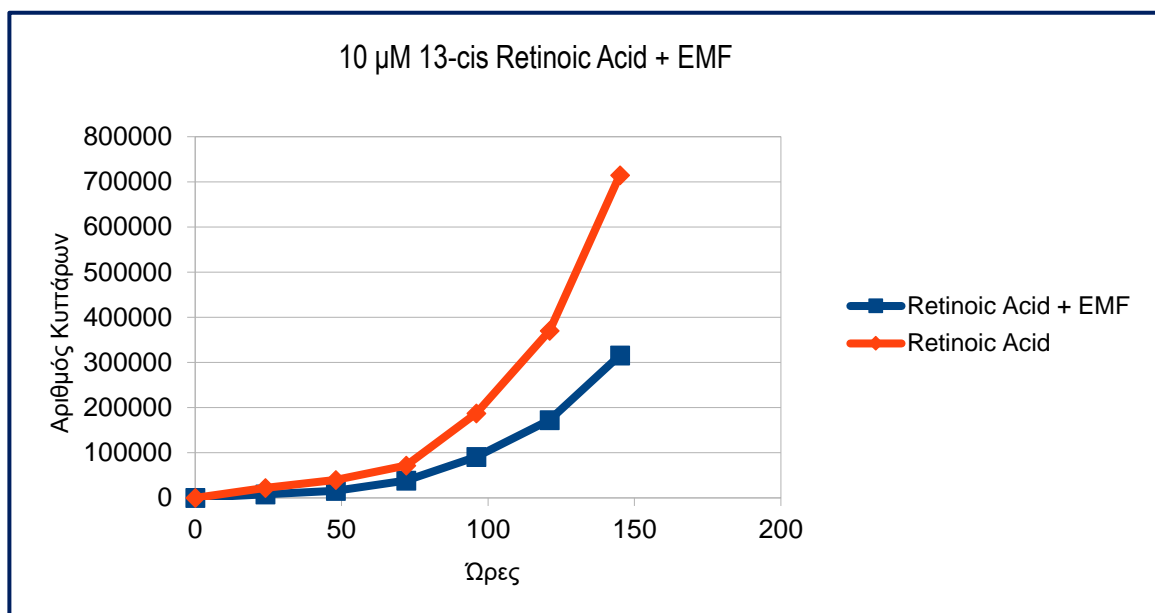
5 μ M 13-cis Retinoic Acid + EMF							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
Retinoic Acid + EMF	0	8325	15975	38200	80625	220650	515750
Retinoic Acid	0	21975	42630	81625	202530	455135	785000



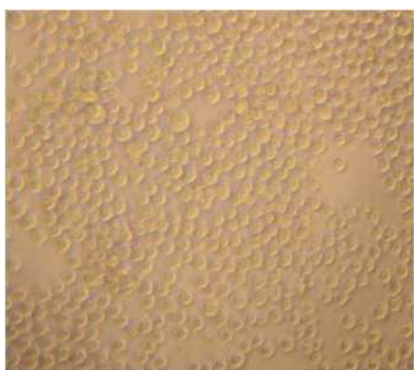
Διάγραμμα 13

Αποτελέσματα

10 μ M 13-cis Retinoic Acid + EMF							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
Retinoic Acid + EMF	0	8325	15975	38200	90625	172650	315750
Retinoic Acid	0	21975	39630	71625	187530	370135	715000



Διάγραμμα 14



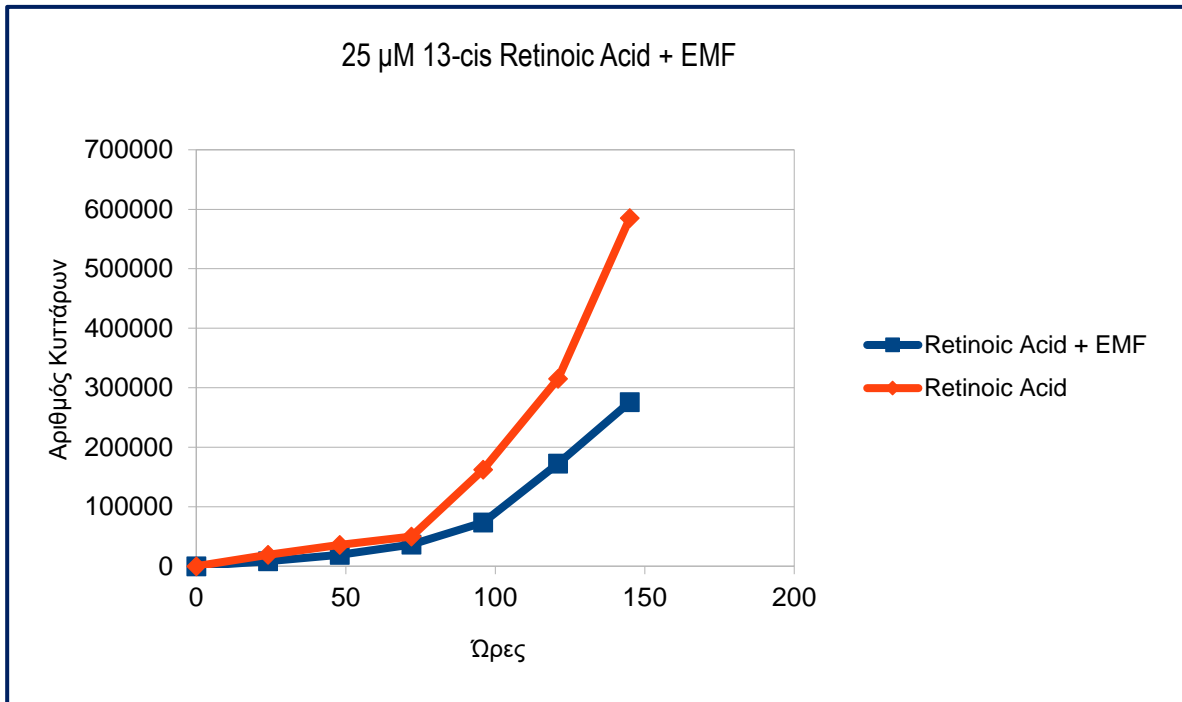
Το δείγμα 10 μ M + EMF 13-cis ρετινοϊκού οξέος εμφανίζει την εξής εικόνα:

Από την εικόνα αυτή παρατηρείται ότι δεν υπάρχει κάποια δομική διαφορά στα κύτταρα. Το μόνο που μπορεί να τονιστεί είναι ότι έχει αρκετά μικρότερο αριθμό κυττάρων από το control.

Το δείγμα 25 μ M + EMF 13-cis ρετινοϊκού οξέος εμφανίζει την ακόλουθη εικόνα:

Αποτελέσματα

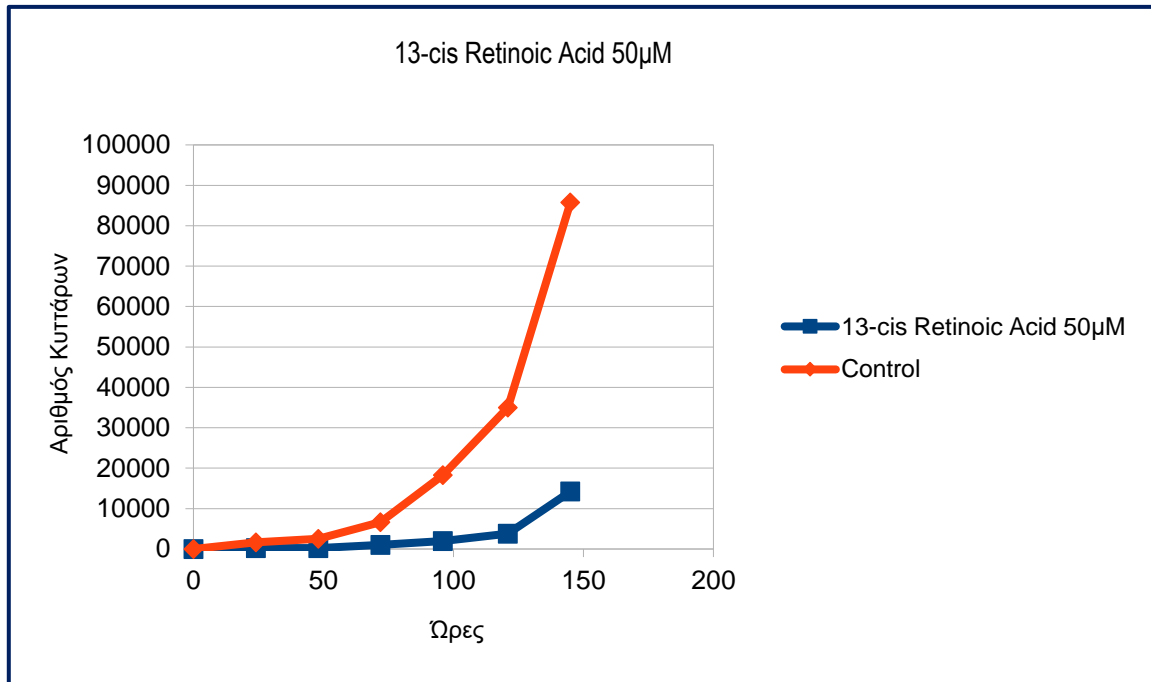
25 μ M 13-cis Retinoic Acid + EMF							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
Retinoic Acid + EMF	0	8325	18975	36200	73625	172650	275750
Retinoic Acid	0	18975	35630	49625	162530	315135	585000



Διάγραμμα 15

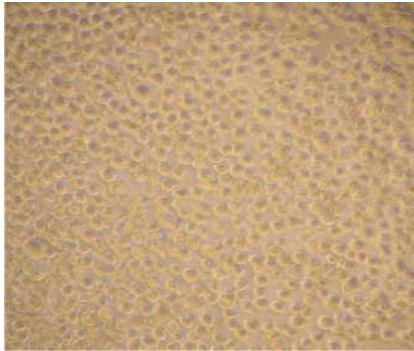
Αποτελέσματα

50 μ M 13-cis Retinoic Acid + EMF							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
Retinoic Acid + EMF	7000	9400	11000	17000	30100	65500	72000
Retinoic Acid	7000	12000	19000	25000	59000	144000	



Διάγραμμα 16

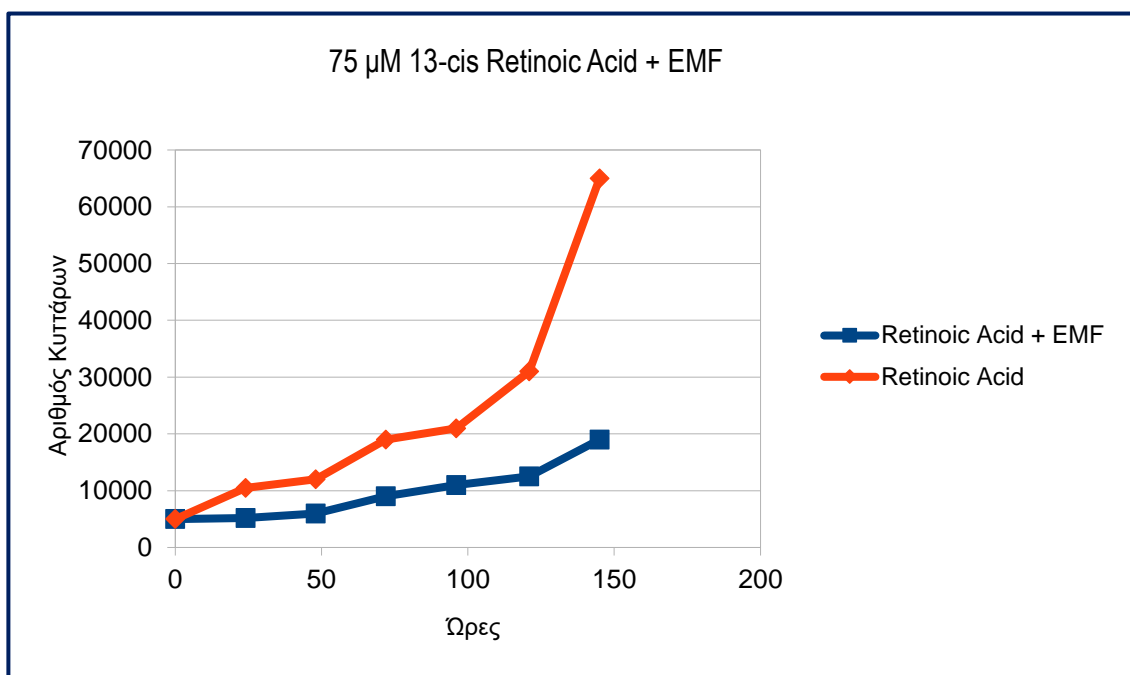
Η μόνη δομική διαφορά η οποία παρατηρείται στα κύτταρα αυτά είναι η έκκεντρη τοποθέτηση του πυρήνα τους.



Στην φωτογραφία βλέπουμε μεταβολές διαφορές που σχετίζονται με την έναρξη σαφών μορφολογικών διαφοροποιήσεων στα κύτταρα K562. Έτσι παρατηρούμε την αισθητή έκκεντρη τοποθέτηση και σαφή πύκνωση του πυρήνα των κυττάρων, γεγονότα που προηγούνται της εκπυρήνισής τους.

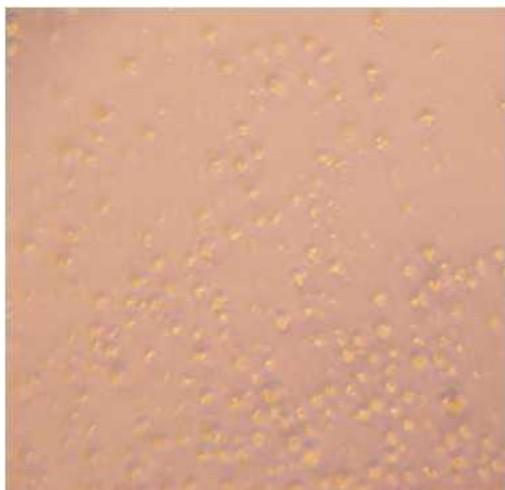
Αποτελέσματα

75 μ M 13-cis Retinoic Acid + EMF							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
Retinoic Acid + EMF	5000	5200	6000	9000	11000	12500	19000
Retinoic Acid	5000	10500	12000	19000	21000	31000	65000



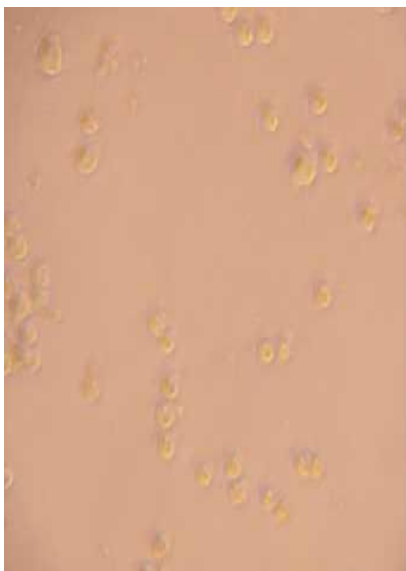
Διάγραμμα 17:

Η εικόνα αυτή παρουσιάζει την κατάσταση των κυττάρων στην συγκέντρωση 75μM + EMF 13-cis ρετινοϊκού οξέος. Από αυτήν παρατηρείται μεγάλη μείωση του αριθμού των κυττάρων, κίτρινη χροιά του κυτταροπλάσματός τους και αύξηση των αποπτωτικών κυττάρων.



Η εικόνα αυτή παρουσιάζει την κατάσταση των κυττάρων στην συγκέντρωση 100μM + EMF 13-cis ρετινοϊκού οξέος. Από αυτήν παρατηρείται μεγάλη μείωση του αριθμού των κυττάρων και κίτρινη χροιά του κυτταροπλάσματος. Από την εικόνα αυτή διακρίνεται ότι το μεγαλύτερο ποσοστό των κυττάρων αυτών είναι αποπτωτικά

Συμπεράσματα



Η χορήγηση διαφόρων συγκεντρώσεων του 13-cis ρετινοϊκού οξέος με ταυτόχρονη έκθεση των κυττάρων K562 στο φάσμα συντονισμού του παρουσιάζει ένα φαινόμενο συνέργειας. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τα χαρακτηριστικά των διαφοροποιημένων κυττάρων να είναι πιο εμφανή σε σχέση τόσο προς τα αντίστοιχα των κυττάρων μαρτύρων, όσο και προς εκείνα των κυττάρων K562 που έλαβαν μόνο 13-cis ρετινοϊκό οξύ ή εκτέθηκαν μόνο στο φάσμα συντονισμού του 13-cis ρετινοϊκού οξέος.

Από τις εικόνες στις δύο μεγαλύτερες συγκεντρώσεις μπορούμε να υποθέσουμε ότι πρώτα διαφοροποιούνται τα κύτταρα (δηλαδή παράγεται αιμοσφαιρίνη) ενώ στη συνέχεια αποτυγχάνουν να αναπτυχθούν λόγω των μεγάλων συγκεντρώσεων του οξέος.

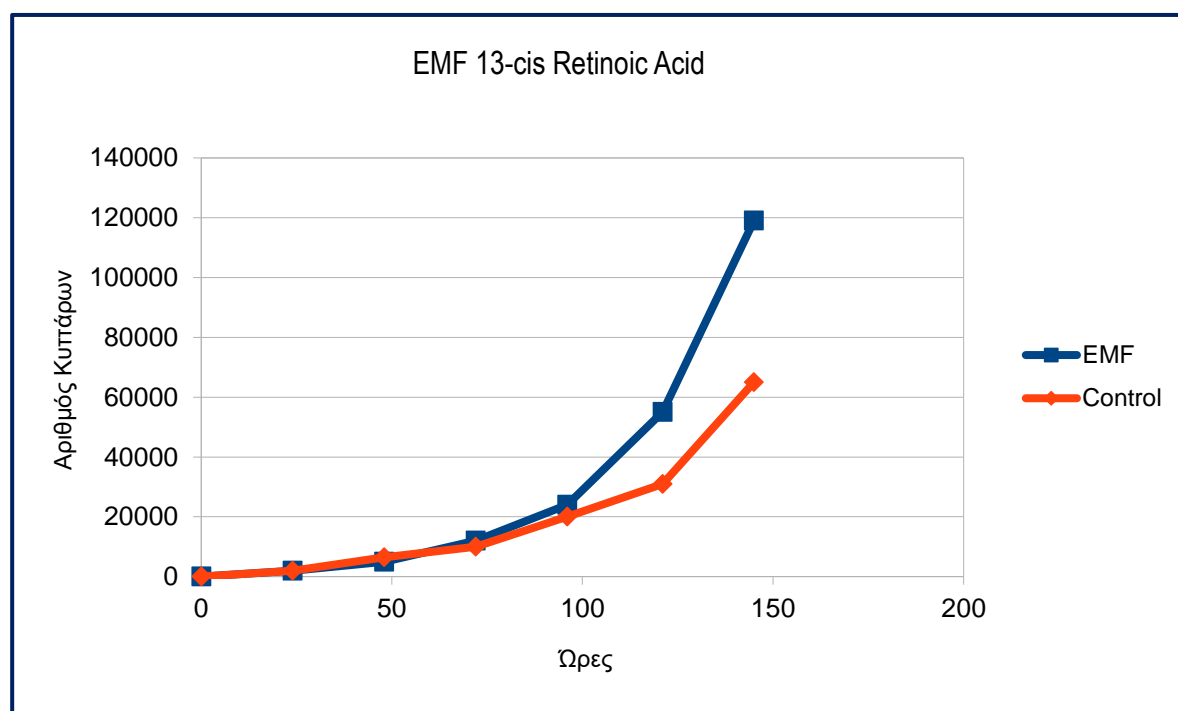
Έκθεση των κυττάρων στις συχνότητες συντονισμού του 13-cis ρετινοϊκού οξέος

Τα κύτταρα K562 σε αυτήν την περίπτωση εκτίθενται στις συχνότητες συντονισμού του 13-cis ρετινοϊκού οξέος σε 24 βάση για χρονικό διάστημα 30 λεπτών. Ο αρχικός αριθμός κυττάρων είναι 5000. Για την μελέτη της δράσης του φάσματος του 13-cis ρετινοϊκού οξέος χρησιμοποιήθηκαν τυχαία φάσματα συντονισμού. Η έκθεση των κυττάρων στο τυχαίο φάσμα πραγματοποιήθηκε σε καθημερινή βάση για χρονικό διάστημα 30 λεπτών.

Οι καμπύλες ανάπτυξης που προέκυψαν είναι:

Αποτελέσματα

EMF 13-cis Retinoic Acid							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
EMF	0	2000	5000	12000	24000	55000	119000
Control	0	2000	6500	10000	20000	31000	65000

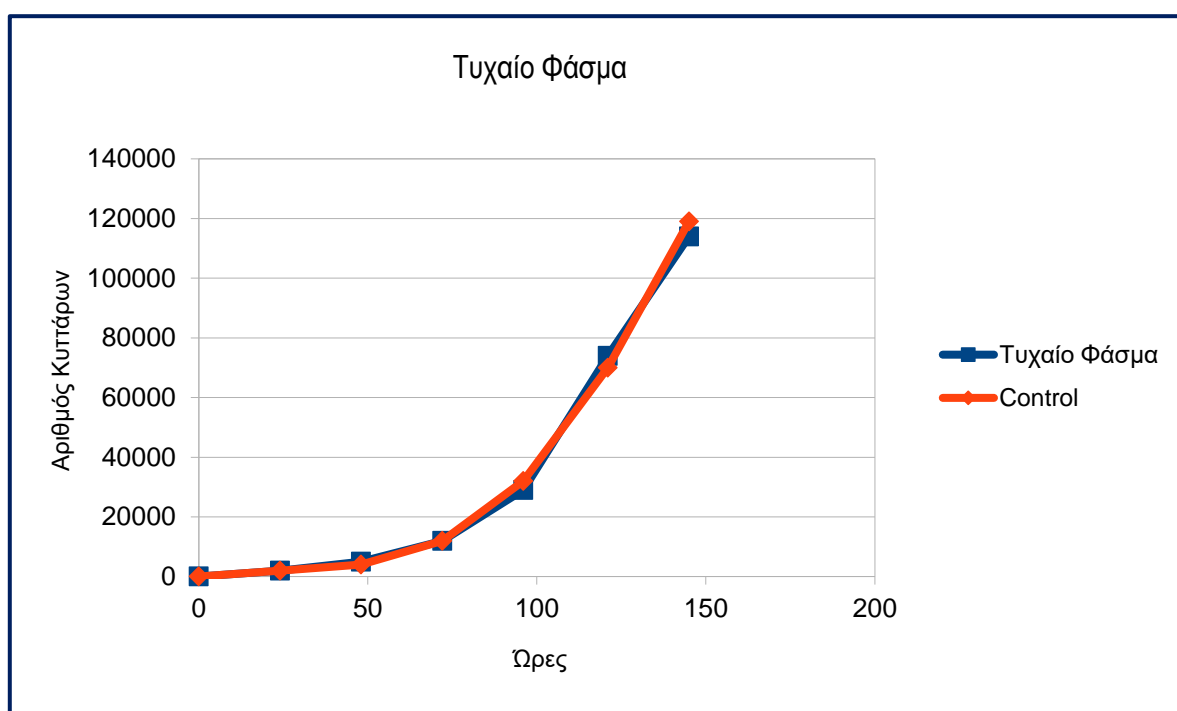


Διάγραμμα 18

Το control για αυτή την περίπτωση είναι τα φυσιολογικά κύτταρα K562 ενώ το δείγμα εκτίθεται στις συχνότητες συντονισμού του 13-cis ρετινοϊκού οξέος για 30 λεπτά σε καθημερινή βάση. Το τυχαίο φάσμα αποτελείται από τον ίδιο αριθμό συχνοτήτων και βρίσκεται στο ίδιο εύρος τιμών με τις συχνότητες συντονισμού του 13-cis ρετινοϊκού οξέος.

Αποτελέσματα

Τυχαίο Φάσμα							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
Τυχαίο Φάσμα	0	2000	5000	12000	29000	74000	114000
Control	0	2000	4000	12000	32000	70000	119000



Διάγραμμα 19

Συμπεράσματα

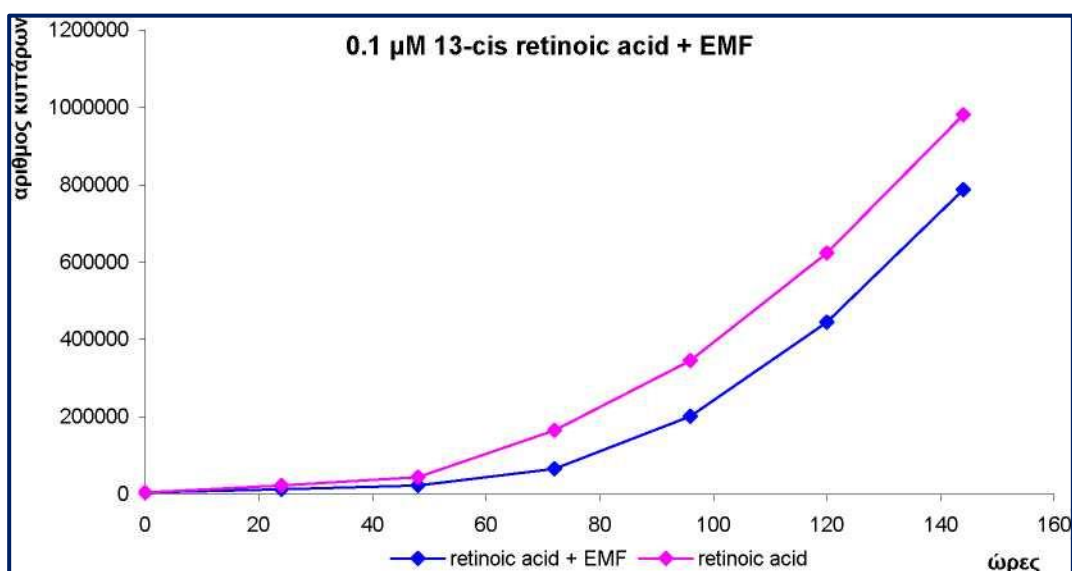
Τα κύτταρα K562 επηρεάζονται επίσης και από την δράση του ηλεκτρομαγνητικού δακτυλικού αποτυπώματος του 13-cis ρετινοϊκού οξέος. Τα δεδομένα αποδεικνύουν ότι έχουμε σαφή μείωση του ρυθμού ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων τα οποία όμως μετά από λίγο χρόνο εισέρχονται και αυτά στην εκθετική φάση. Μορφολογικά τα

χαρακτηριστικά διαφοροποίησης υπάρχουν μεν αλλά σε πολύ μικρότερο βαθμό σε σχέση προς εκείνα όπου πραγματοποιείται χορήγηση του οξέος. Για τον έλεγχο της δράσης των φασμάτων συντονισμού των διαφοροποιητικών παραγόντων πραγματοποιήθηκε μια επιπλέον μέτρηση. Τα κύτταρα εκτέθηκαν σε τυχαίο φάσμα συντονισμού και παρατηρήθηκε ότι δεν επηρέαζε καθόλου τον ρυθμό ανάπτυξης των κυττάρων.

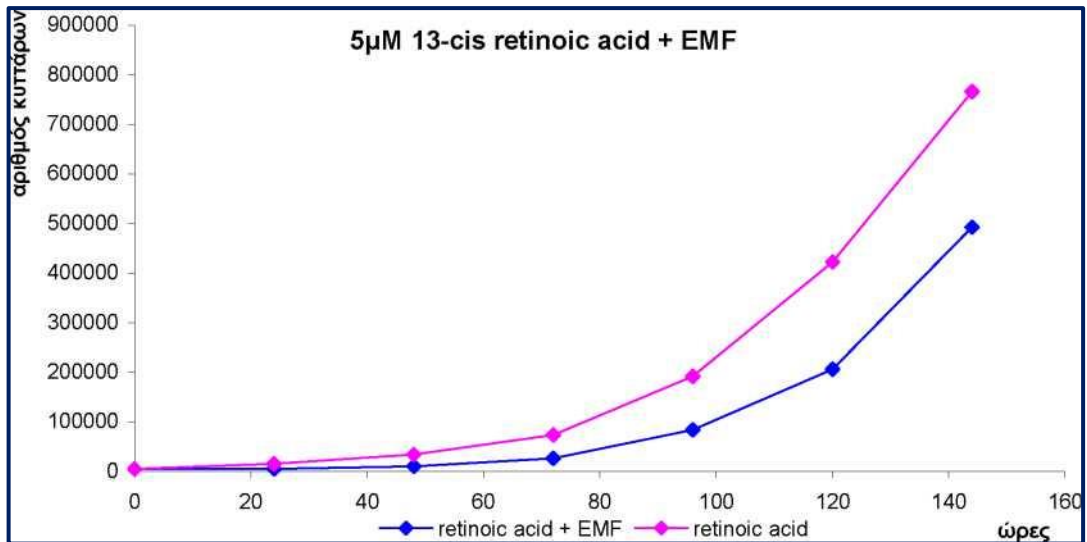
Συνδυασμός του 13-cis ρετινοϊκού οξέος ως ουσία με έκθεση σε ΗΜΠ διαμορφωμένα σύμφωνα με τις συχνότητες συντονισμού αυτού

Στα πειράματα αυτά το 13-cis ρετινοϊκό οξύ χορηγήθηκε διαλυμένο σε DMSO. Οι συγκεντρώσεις αυτού που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οι ακόλουθες: 0.1, 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 25, 50, 75, 100 και 125 μM . Τα τρυβλία των εν λόγω πειραμάτων με τα κύτταρα K562 εκτίθεντο επί 30' min καθημερινά σε ΗΜΠ διαμορφωμένα σύμφωνα με τις συχνότητες συντονισμού του 13-cis ρετινοϊκού οξέος.

Από τις παρακάτω καμπύλες ρυθμού ανάπτυξης παρατηρείται ότι σε περίπτωση χορήγησης του 13-cis ρετινοϊκού οξέος, με παράλληλη έκθεση των καλλιιεργειών στις συχνότητες συντονισμού του, προκύπτουν πάντα μικρότεροι ρυθμοί ανάπτυξης από αυτές στις οποίες έχει χορηγηθεί μόνο το 13-cis ρετινοϊκό οξύ

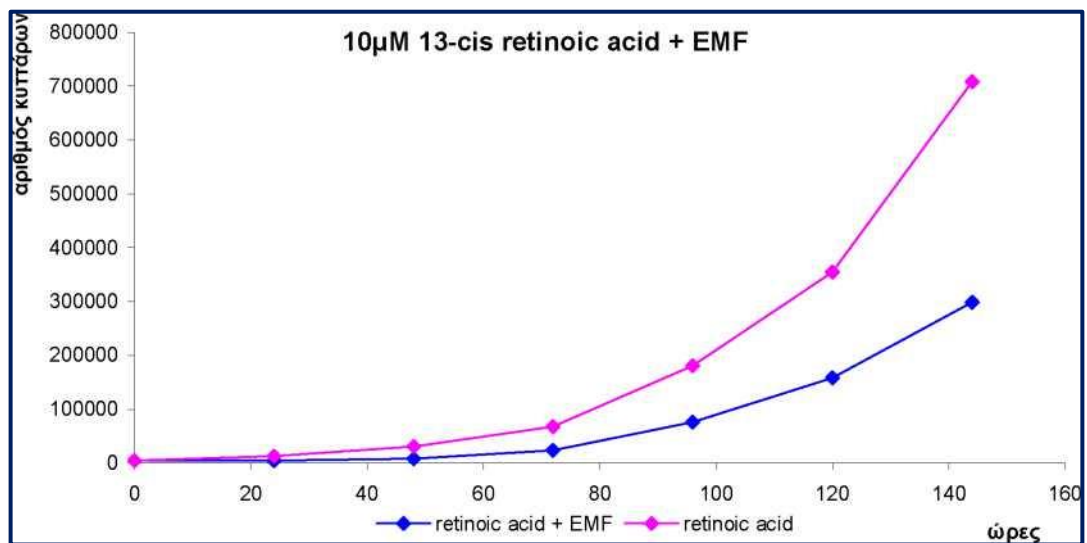


Διάγραμμα αρ. 20

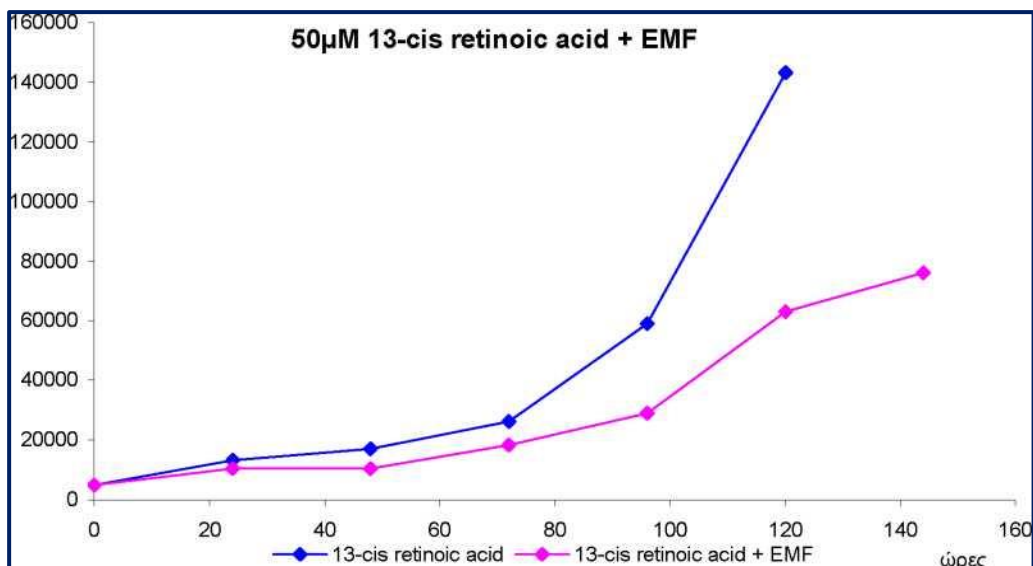


Διάγραμμα αρ. 21

Μεγαλύτερη μείωση του ρυθμού ανάπτυξης παρατηρείται από το δείγμα με συγκέντρωση 10µM του 13-cis ρετινοϊκού οξέος και πάνω.



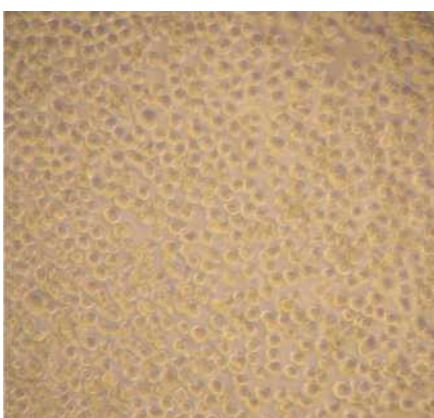
Διάγραμμα αρ. 22



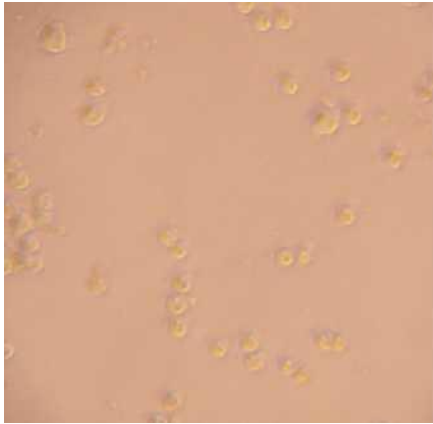
Διάγραμμα αρ. 23



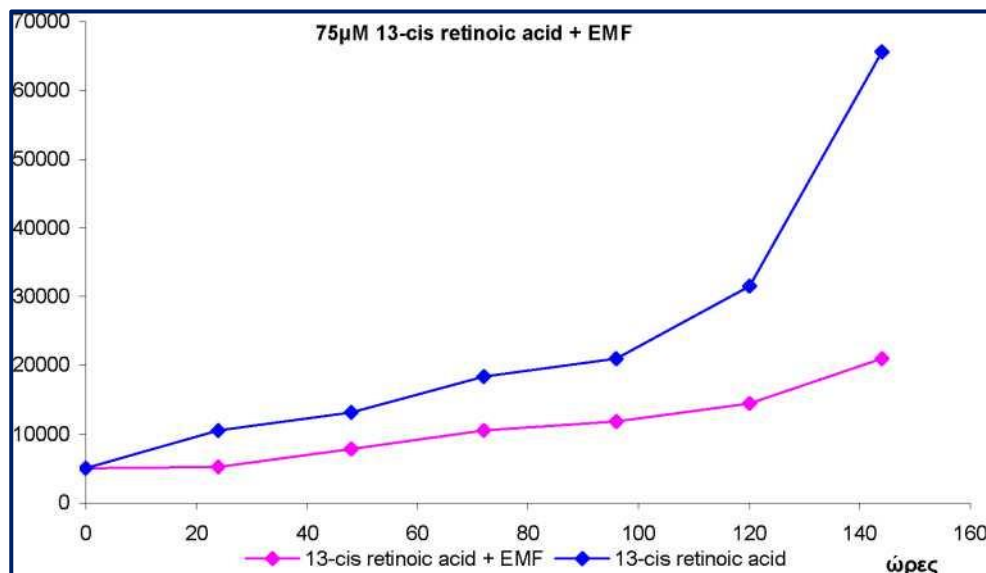
Η εικόνα αυτή δείχνει την κατάσταση των κυττάρων K5622 των τρυβλίων ελέγχου. Επίσης πανομοιότυπες εικόνες παρουσιάζουν τα κύτταρα των τρυβλίων που περιέχουν συγκεντρώσεις 0.1, 0,5, 1, 2.5 και 5µM του 13-cis – ρετινοϊκού οξέος που ταυτοχρόνως με την χορήγηση του ρετινοϊκού υφίστανται έκθεση στις συχνοτήτες συντονισμού του εν λόγω οξέος.



Τα τρυβλία των κυττάρων στα οποία χορηγήθηκαν 25µM 13-cis ρετινοϊκού οξέος και ταυτοχρόνως εκτέθηκαν σε ΗΜΠ συχνοτήτων συντονισμού του μορίου αυτού εμφανίζουν την ακόλουθη αντιπροσωπευτική εικόνα. Σε αυτήν παρατηρούμε μείωση του συνολικού πληθυσμού και μορφολογικά την έκκεντρη τοποθέτηση του πυρήνα τους.



Η εικόνα αυτή παρουσιάζει την κατάσταση των κυττάρων στην συγκέντρωση 75μM + EMF 13-cis ρετινοϊκού οξέος. Από αυτήν παρατηρείται μεγάλη μείωση του αριθμού των κυττάρων, κίτρινη χροιά του κυτταροπλάσματος τους και αύξηση των αποπτωτικών κυττάρων.



Διάγραμμα αρ. 24

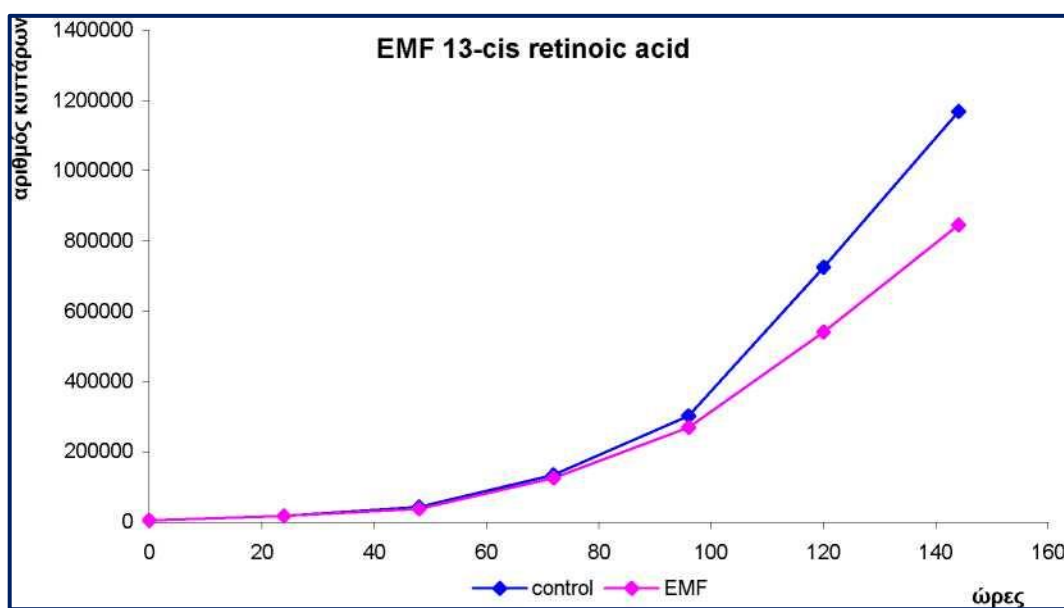
Διάγραμμα αρ. 24: Έκθεση κυττάρων K562 και ταυτόχρονη χορήγηση 13-cis-ρετινοϊκού οξέος σε συγκέντρωση 75 μM. Σε σύγκριση με την δράση μόνον του ρετινοϊκού οξέος παρατηρούμε ότι η ταυτόχρονη έκθεση των κυττάρων και στα συντονισμένα πεδία επιφέρει διαφοροποίηση και μείωση του ρυθμού πολλαπλασιασμού τους.

Έκθεση των κυττάρων στις συχνότητες συντονισμού του 13-cis ρετινοϊκού οξέος

Στα πειράματα αυτά τα κύτταρα K562 εκτίθενται στις συχνότητες συντονισμού του 13-cis ρετινοϊκού οξέος για χρονικό διάστημα 30 λεπτών, ανά 24ωρο. Ο αρχικός αριθμός των σπερνόμενων κυττάρων είναι 5000. Προκειμένου να διαφοροποιήσουμε την δράση της δράσης του φάσματος των συχνοτήτων συντονισμού του 13-cis ρετινοϊκού οξέος χρησιμοποιήθηκε προς σύγκριση ένα τυχαίο φάσμα ισάριθμων συχνοτήτων που προέκυψαν από γεννήτρια τυχαίων αριθμών. Η έκθεση των κυττάρων στο τυχαίο φάσμα γινόταν σε καθημερινή βάση για χρονικό διάστημα 30 λεπτών.

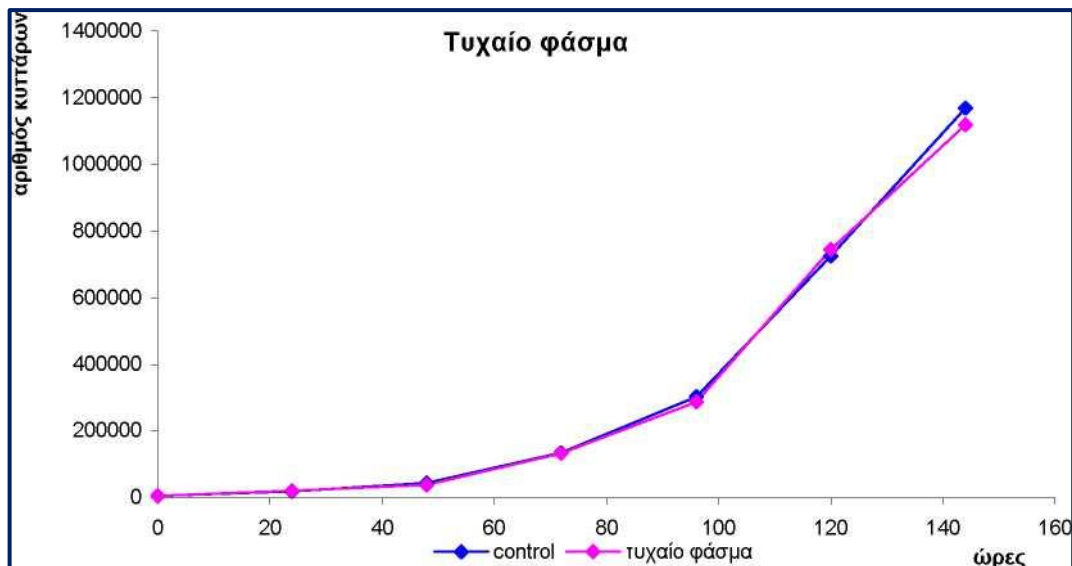
Αποτελέσματα

Οι καμπύλες ανάπτυξης που προέκυψαν είναι οι ακόλουθες:



Διάγραμμα αρ. 25

Το control για αυτή την περίπτωση είναι τα φυσιολογικά κύτταρα K562 ενώ το δείγμα εκτίθεται στις συχνότητες συντονισμού του 13-cis ρετινοϊκού οξέος για 30 λεπτά σε καθημερινή βάση. Το τυχαίο φάσμα αποτελείται από τον ίδιο αριθμό συχνοτήτων και βρίσκεται στο ίδιο εύρος τιμών με τις συχνότητες συντονισμού του 13-cis ρετινοϊκού οξέος.



Διάγραμμα αρ. 26

Συμπεράσματα

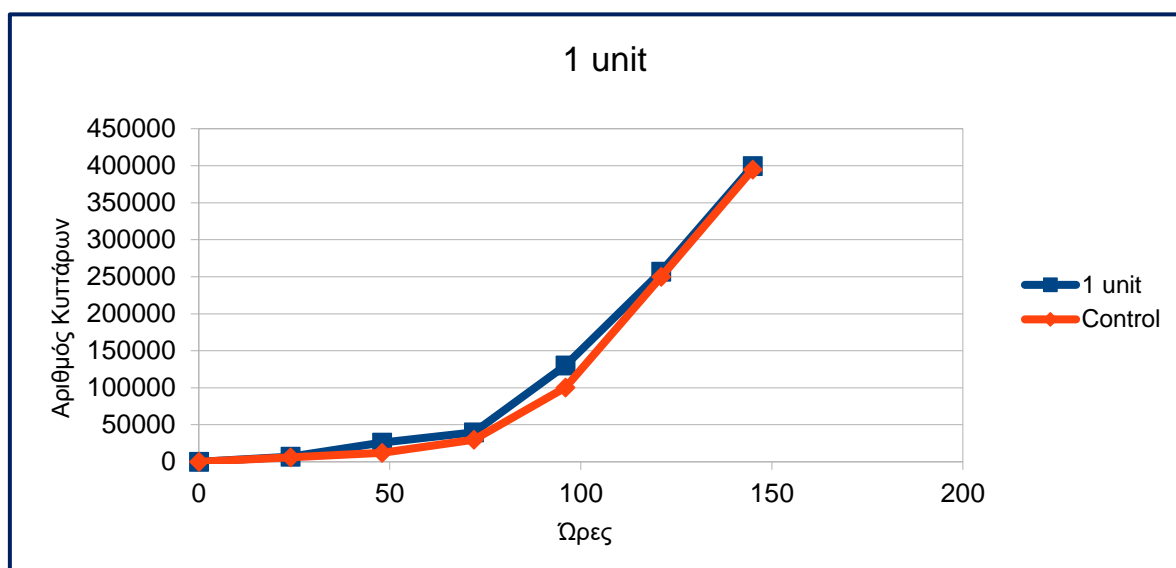
Τα κύτταρα K562 επηρεάζονται επίσης και από την δράση του ηλεκτρομαγνητικού δακτυλικού αποτυπώματος του 13-cis ρετινοϊκού οξέος. Τα δεδομένα αποδεικνύουν ότι έχουμε σαφή μείωση του ρυθμού ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων τα οποία όμως μετά από λίγο χρόνο εισέρχονται και αυτά στην εκθετική φάση. Μορφολογικά τα χαρακτηριστικά διαφοροποίησης υπάρχουν μεν αλλά σε πολύ μικρότερο βαθμό σε σχέση προς εκείνα όπου πραγματοποιείται χορήγηση του οξέος. Για τον έλεγχο της δράσης των φασμάτων συντονισμού των διαφοροποιητικών παραγόντων πραγματοποιήθηκε μια επιπλέον μέτρηση. Τα κύτταρα εκτέθηκαν σε τυχαίο φάσμα συντονισμού και παρατηρήθηκε ότι δεν επηρέαζε καθόλου τον ρυθμό ανάπτυξης των κυττάρων.

Μελέτη της δράσης της ανθρώπινης ανασυνδυασμένης ερυθροποιητίνης (rhEPO)

Η ανθρώπινη ανασυνδυασμένη ερυθροποιητίνη (rhEPO) που χρησιμοποιήθηκε ελήφθη σε υγρή μορφή και δεν χρειάστηκε κάποιος διαλύτης. Οι συγκεντρώσεις της rhEPO που δοκιμάστηκαν ήταν 1, 2.5, 5, 7.5, 10 και 12.5 units και προέκυψαν καμπύλες ανάπτυξης για την κάθε περίπτωση.

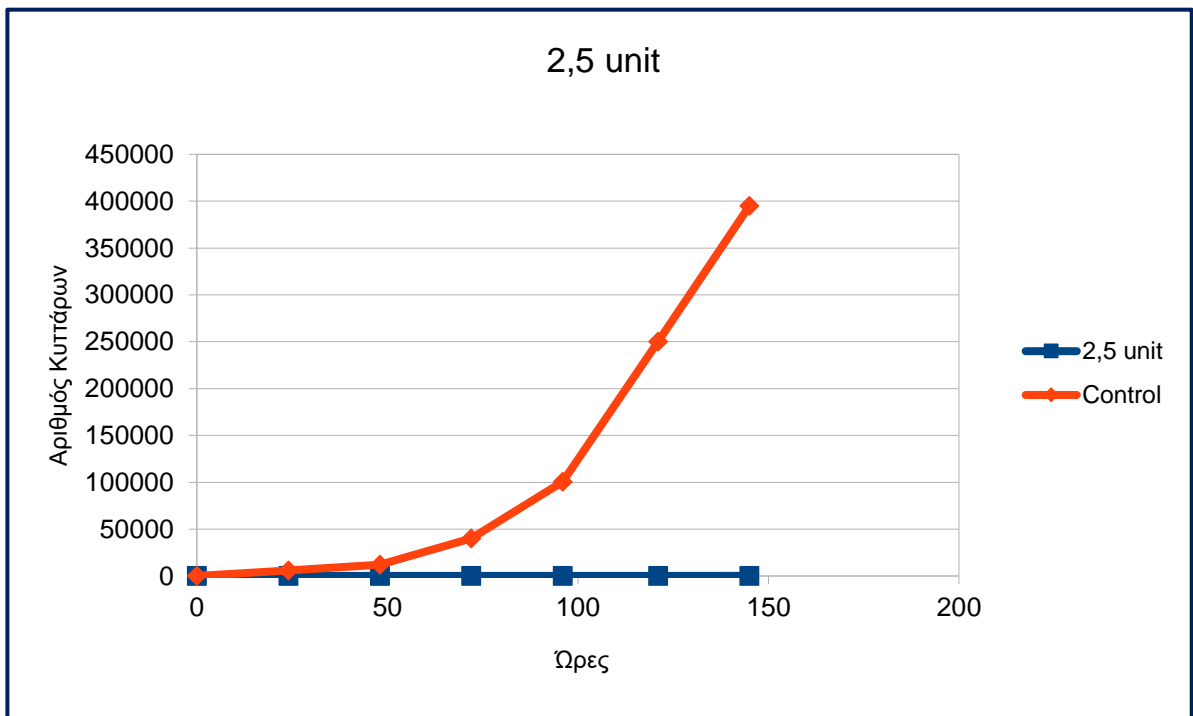
Αποτελέσματα

1 unit							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
1 unit	0	7000	26000	40000	130000	257000	399500
Control	0	6000	12000	30000	100500	250000	395000



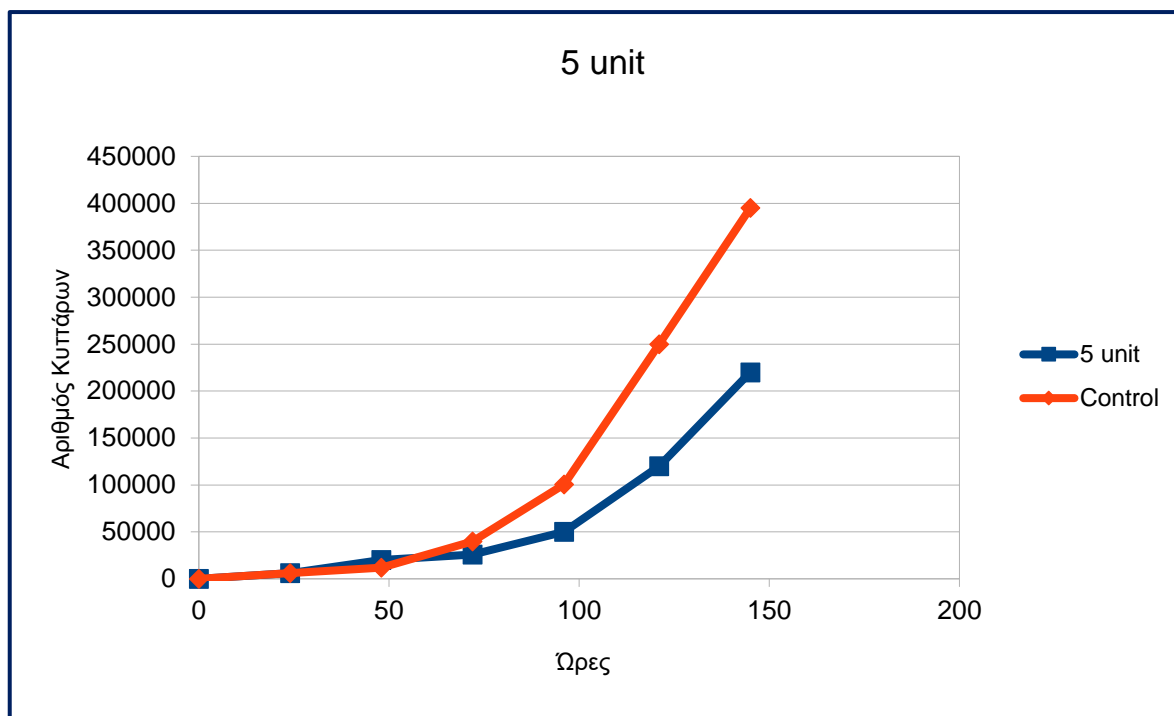
Από τα διαγράμματα του ρυθμού ανάπτυξης παρατηρείται ότι για την συγκέντρωση 1 unit της ερυθροποιητίνης ο ρυθμός ανάπτυξης τους δεν έχει καμία διαφορά από αυτών των κυττάρων control.

2,5 unit							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
2,5 unit	0	6000	26000	27000	75000	165000	350500
Control	0	6000	12000	40000	100500	250000	395000



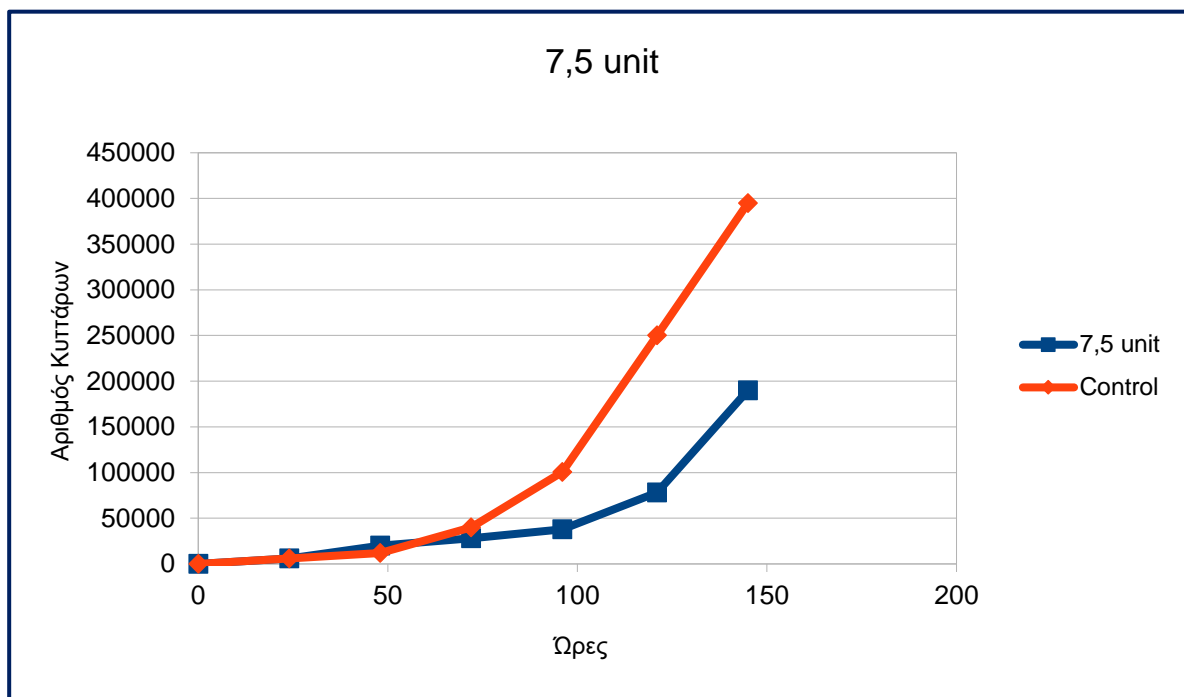
Για τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις παρατηρείται μια σταδιακή μείωση του ρυθμού ανάπτυξης των δειγμάτων σε σύγκριση με τα κύτταρα control.

5 unit							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
5 unit	0	6000	20000	26000	50000	120000	220000
Control	0	6000	12000	40000	100500	250000	395000



Στις 5 μονάδες ερυθροποιητίνης παρατηρήθηκε μεγαλύτερη μείωση του ρυθμού πολλαπλασιασμού των κυττάρων K562 σε συνάρτηση με αυτόν που σημειώθηκε στα κύτταρα ελέγχου. Παρατηρούμε ότι ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός εισέρχεται σε εκθετική φάση από την 100^η ώρα και μετά στα κύτταρα που έλαβαν EPO. Η άνοδος της καμπύλης ανάπτυξης των κακοήθων κυττάρων ήδη σημειώνεται σταδιακά από το πέρας του πρώτου εικοσιτετραώρου. Οι αντίστοιχες κλίσεις της καμπύλης ανάπτυξης της ομάδας των κυττάρων ελέγχου.

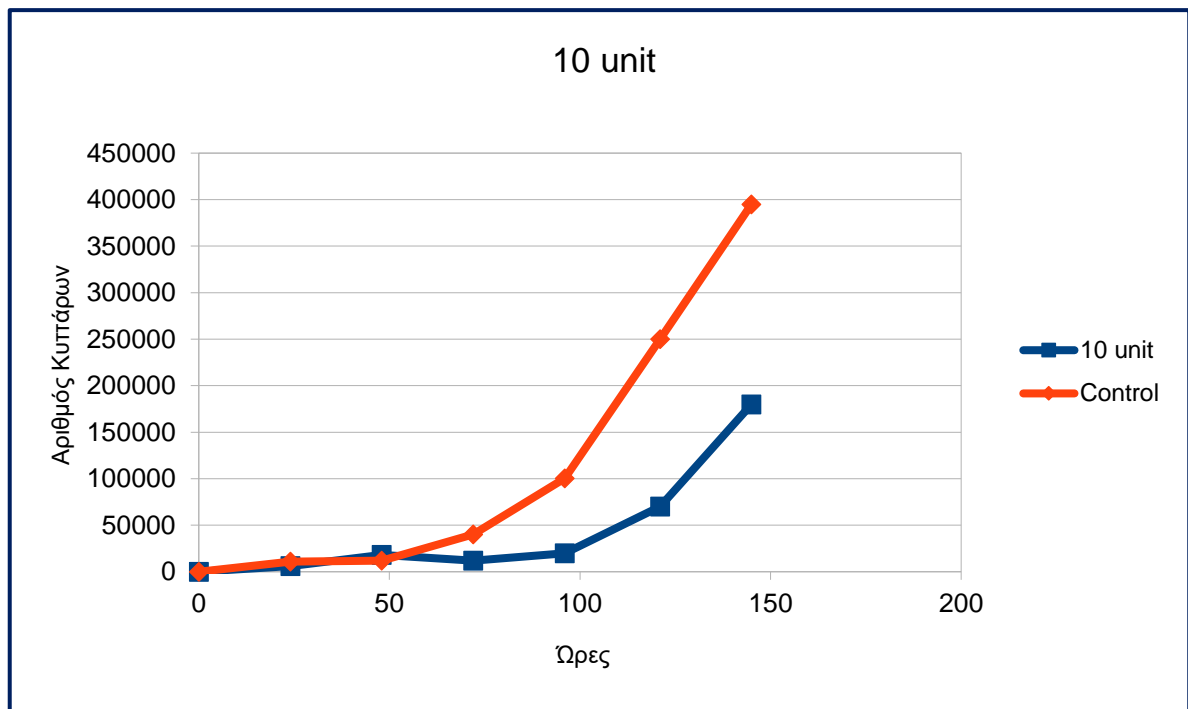
7,5 unit							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
7,5 unit	0	6000	20000	28000	38000	78000	190000
Control	0	6000	12000	40000	100500	250000	395000



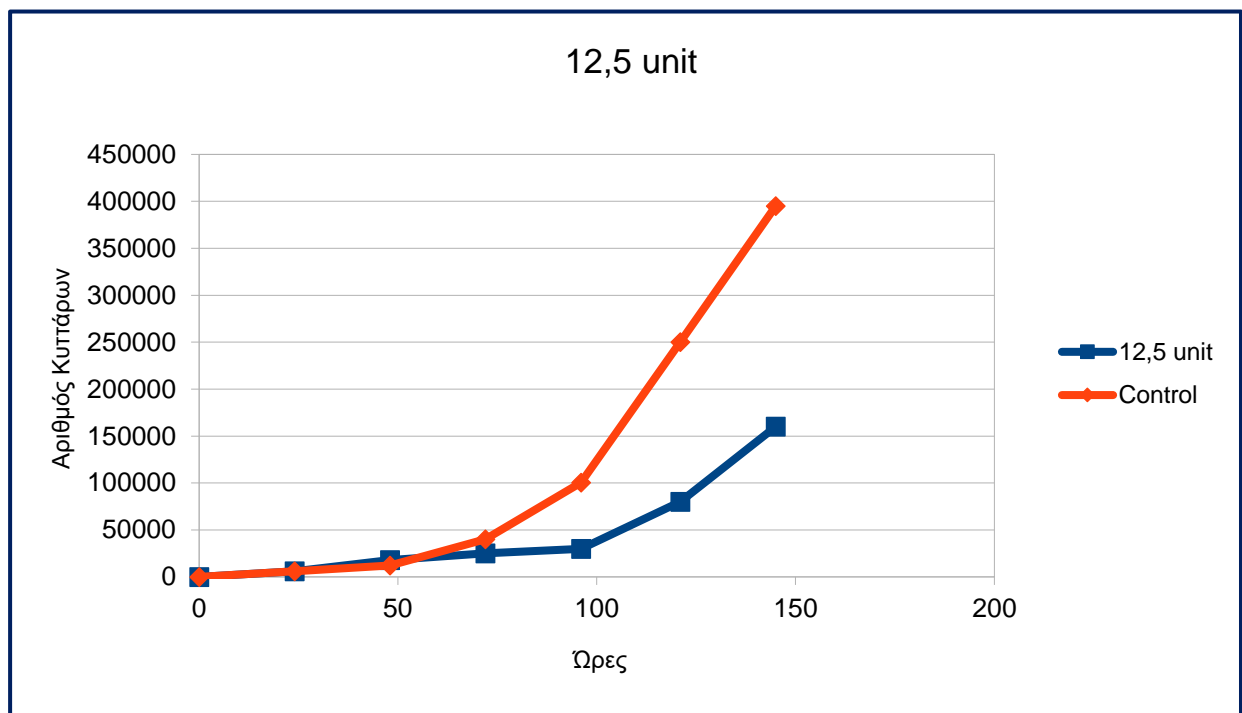
Στις 7,5 μονάδες EPO δεν βλέπουμε ουσιαστική διαφορά στον πολλαπλασιαστικό ρυθμό των κυττάρων, σε σύγκριση με τα πειράματα της ομάδας κυττάρων παρουσία 5 μονάδων EPO. Δηλαδή η ανάπτυξή τους εισέρχεται σε εκθετική φάση μεταξύ 100 – 140 ωρών. Η κλίση της καμπύλης ανάπτυξης στις ομάδες των κακοήθων κυττάρων που έλαβαν τις 7,5 μονάδες EPO είναι πιο μικρή εν σχέσει με την αντίστοιχη των κυττάρων του ελέγχου, πράγμα που υποδεικνύει μια επιβράδυνση.

Στις 10 μονάδες EPO παρατηρούμε μια σταθεροποίηση του ρυθμού πολλαπλασιασμού των κυττάρων K562 όμοια με εκείνη που βλέπουμε με την χορήγηση 5 μονάδων EPO.

10 unit							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
10 unit	0	6000	18000	12000	20000	70000	180000
Control	0	11000	12000	40000	100500	250000	395000

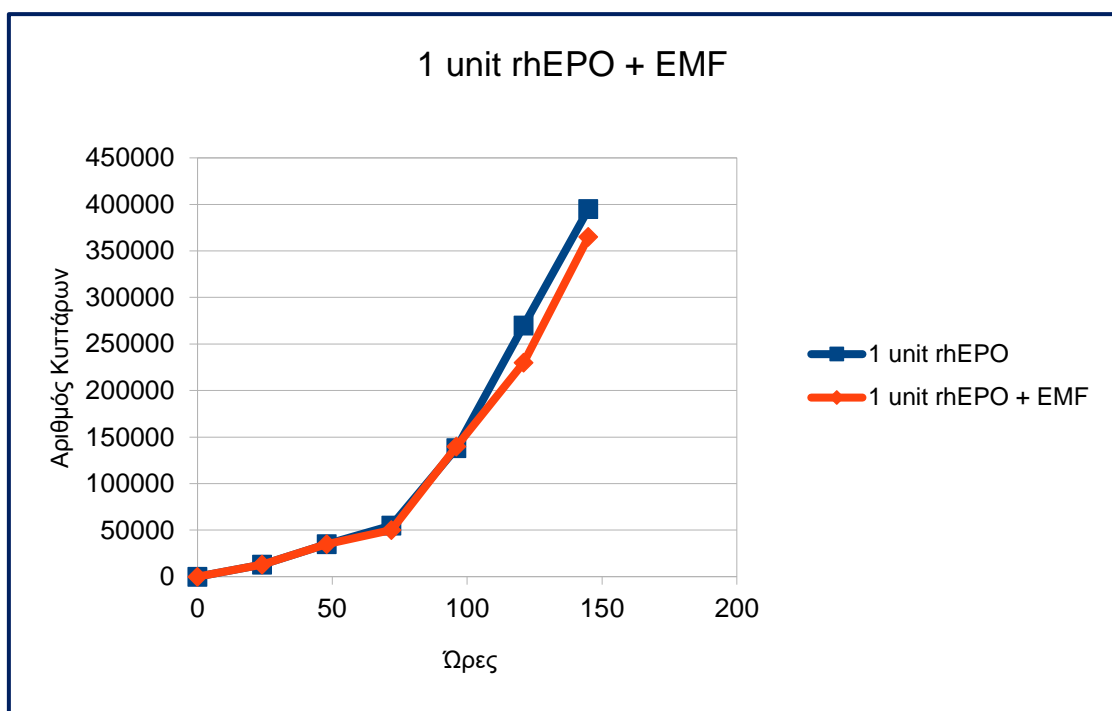


12,5 unit							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
12,5 unit	0	6000	18000	25000	30000	80000	160000
Control	0	6000	12000	40000	100500	250000	395000



Στις 12,5 μονάδες EPO η χορήγηση της ερυθροποιητίνης στα κύτταρα K562 μείωσε τον ρυθμό του πολλαπλασιασμού τους και προκάλεσε αύξηση της ποσότητας αιμοσφαιρίνης στο εσωτερικό τους. Ωστόσο οι μορφολογικές μεταβολές δεν ήταν εμφανείς. Δηλαδή δεν είχαμε αποβολή του πυρήνα και τα κύτταρα παρουσίασαν μόνο μια μικρή έκκεντρη μετακίνηση του πυρήνα προς την κυτταροπλασματική μεμβράνη, όπως επίσης, σποραδικά και μια αύξηση του μεγέθους τους.

1 unit rhEPO + EMF							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
1 unit rhEPO	0	13000	35000	55000	138000	270000	395000
1 unit rhEPO + EMF	0	13000	35000	50000	140000	230000	365000

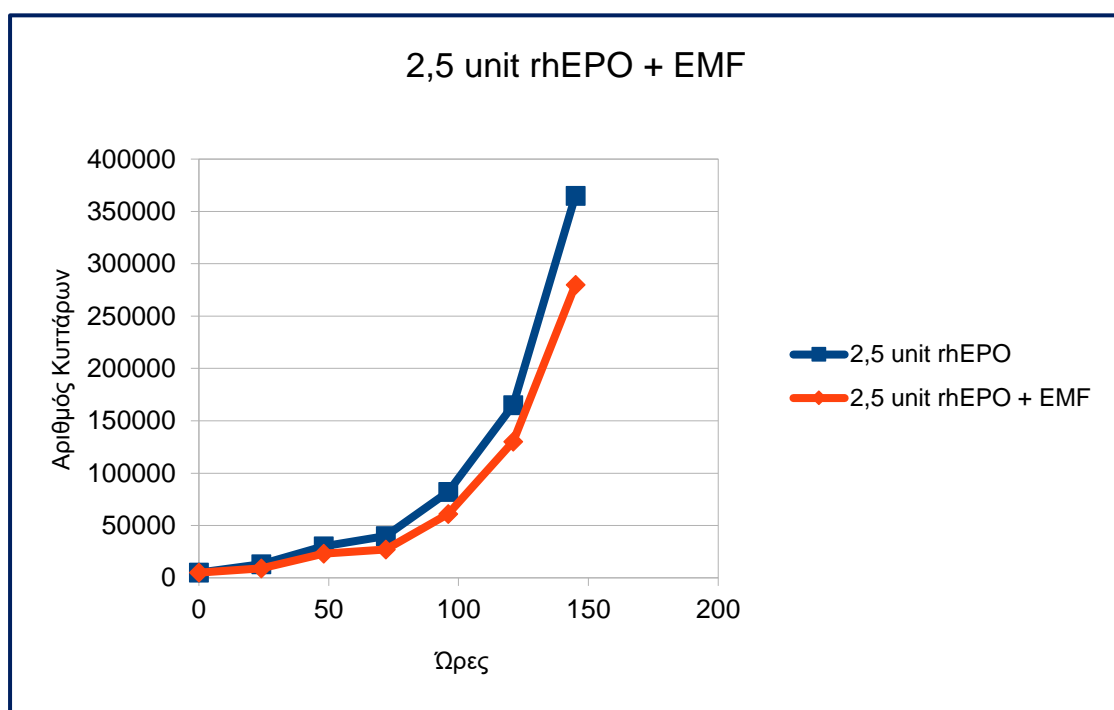


Στην χορήγηση 1 μονάδας EPO με ταυτόχρονη έκθεση των κυττάρων σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία συχνοτήτων συντονισμού προς εκείνες της ερυθροποιητίνης παρατηρούμε μια μικρή μείωση του ρυθμού πολλαπλασιασμού των κυττάρων K562 εν σχέσει με τα κύτταρα ελέγχου, ενώ ο ρυθμός πολλαπλασιασμού των κυττάρων K562 με 1 μονάδα EPO δεν διέφερε από εκείνων των κυττάρων ελέγχου.

Στο κάτω διάγραμμα παρατηρούμε την δράση της ανασυνδυασμένης ανθρώπινης ερυθροποιητίνης σε ποσότητα 2,5 μονάδων στα κύτταρα K562 και την ταυτόχρονη έκθεσή τους σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία διαμορφωμένα σύμφωνα με τις συχνότητες συντονισμού με εκείνες της EPO. Παρατηρούμε ότι στην ομάδα των κυττάρων που υποβλήθηκε στην ταυτόχρονη χορήγηση των 2,5 μονάδων EPO και έκθεση στα ΗΜΠ υπάρχει μια σαφής μείωση του ρυθμού πολλαπλασιασμού των κυττάρων, μεγαλύτερη από εκείνη την οποία

παρατηρούμε όταν χορηγούμε μόνο EPO. Συνεπώς η παρουσία των διαμορφωμένων προς τις συχνότητες συντονισμού της EPO ηλεκτρομαγνητικών πεδίων προκαλεί μείωση του πολλαπλασιαστικού ρυθμού των κακοήθων κυττάρων K562.

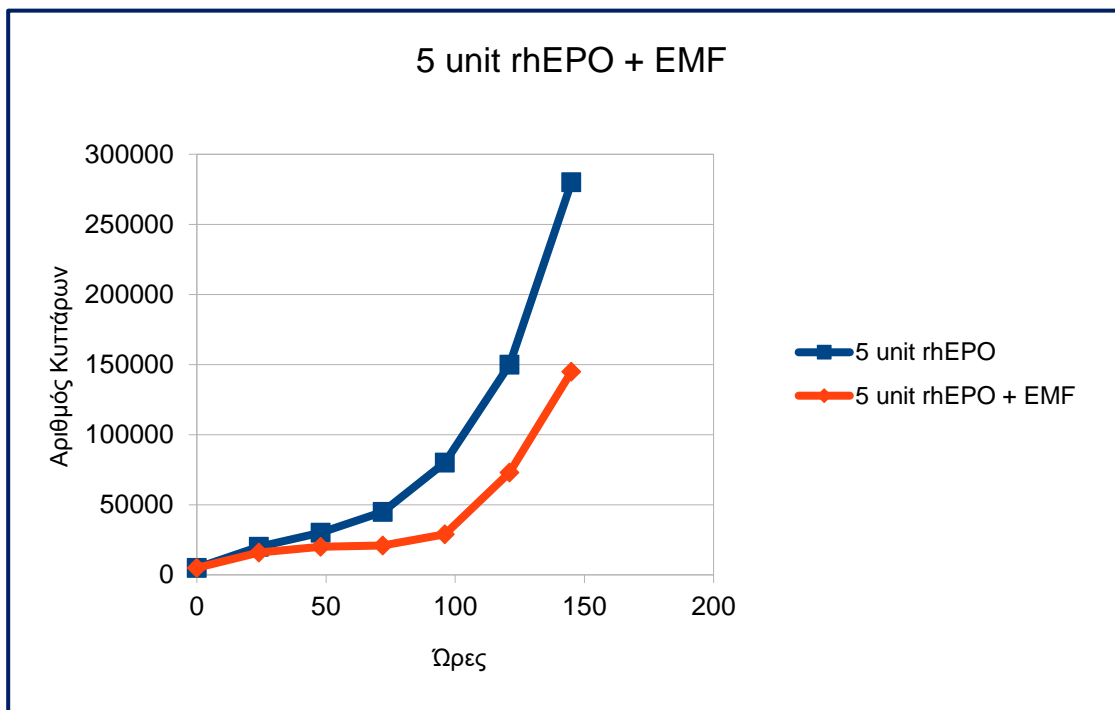
2,5 unit rhEPO + EMF							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
2,5 unit rhEPO	5000	13000	30000	40000	82000	165000	365000
2,5 unit rhEPO + EMF	5000	9000	23000	27000	61000	130000	280000



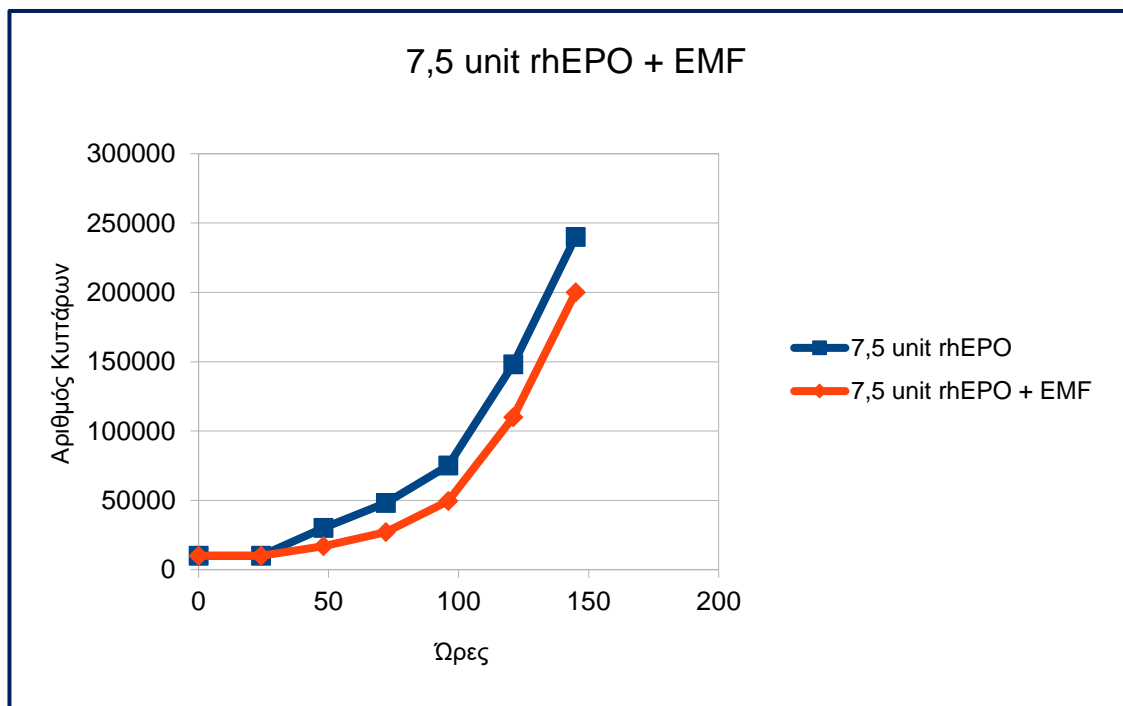
Στο κάτω διάγραμμα παρατηρούμε την δράση της ανασυνδρασμένης ανθρώπινης ερυθροποιητίνης σε ποσότητα 5 μονάδων στα κύτταρα K562 και την ταυτόχρονη έκθεσή τους σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία διαμορφωμένα σύμφωνα με τις συχνότητες συντονισμού με εκείνες της EPO. Από την πορεία των καμπυλών βλέπουμε ότι στην ομάδα των κυττάρων που υποβλήθηκε στην χορήγηση των 5 μονάδων EPO με ταυτόχρονη έκθεση στα ΗΜΠ υπάρχει μια σαφής μείωση του ρυθμού πολλαπλασιασμού των κυττάρων, μεγαλύτερη από εκείνη την οποία παρατηρούμε όταν χορηγούμε μόνο EPO στον ίδιο

αριθμό μονάδων. Συνεπώς η έκθεση των συγκεκριμένων κυττάρων στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία τα διαμορφωμένα προς τις συχνότητες συντονισμού της EPO προκαλεί μείωση του πολλαπλασιαστικού ρυθμού των κακοήθων κυττάρων K562.

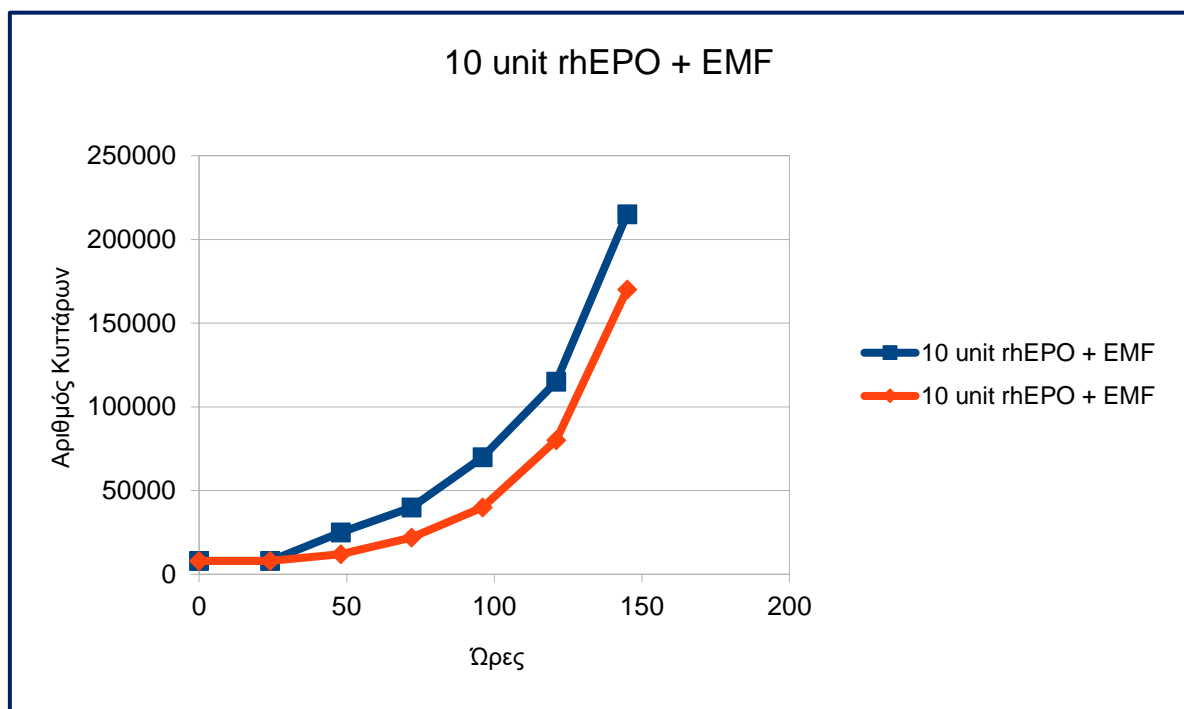
5 unit rhEPO + EMF							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
5 unit rhEPO	5000	20000	30000	45000	80000	150000	280000
5 unit rhEPO + EMF	5000	16000	20000	21000	29000	73000	145000



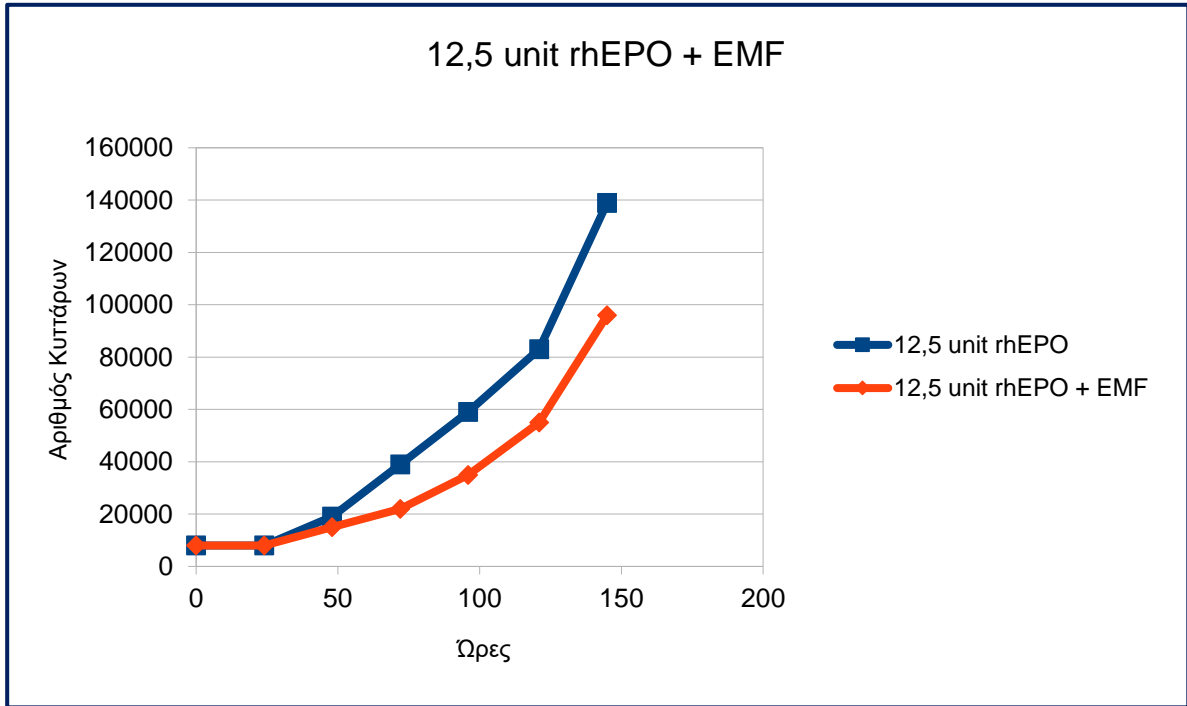
7,5 unit rhEPO + EMF							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
7,5 unit rhEPO	10000	10000	30000	48000	75000	148000	240000
7,5 unit rhEPO + EMF	10000	10000	17000	27000	49500	110000	200000



10 unit rhEPO + EMF							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
10 unit rhEPO	8000	8000	25000	40000	70000	115000	215000
10 unit rhEPO + EMF	8000	8000	12000	22000	40000	80000	170000

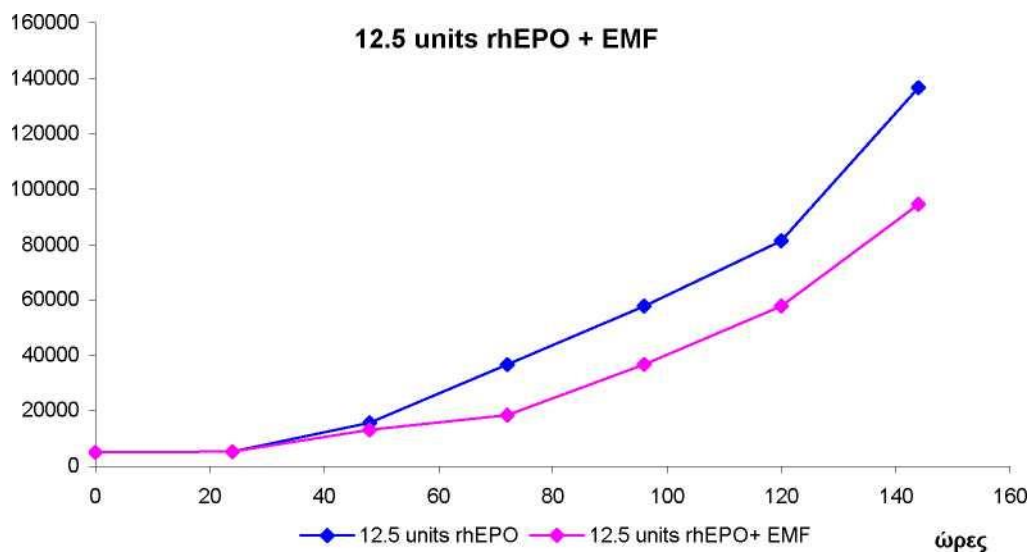
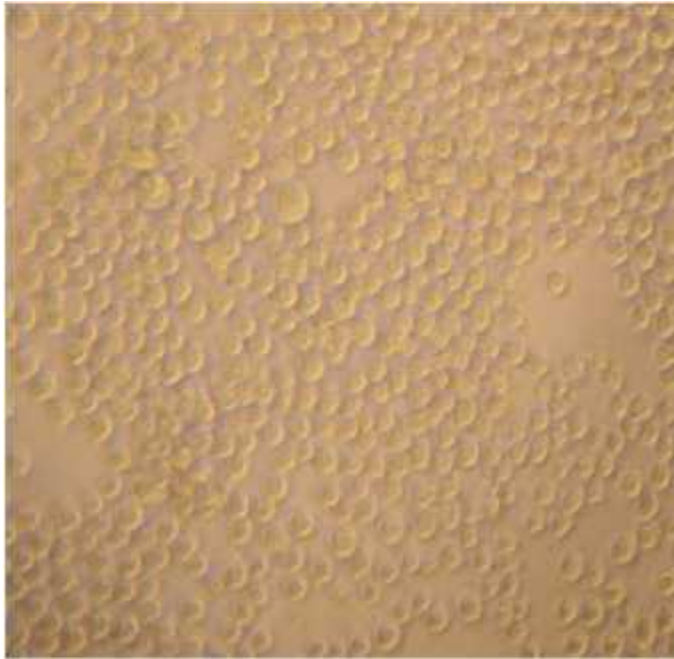


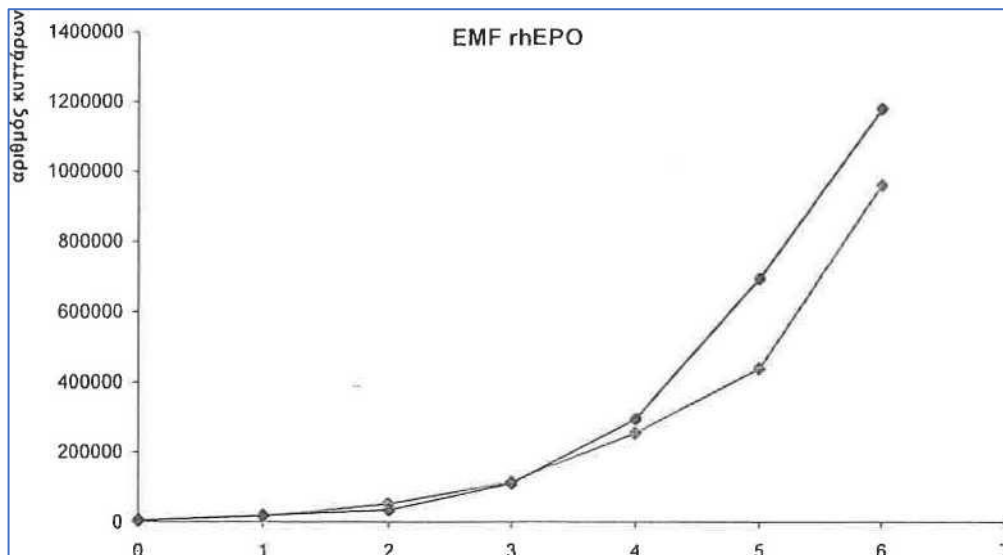
12,5 unit rhEPO + EMF							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
12,5 unit rhEPO	8000	8000	19000	39000	59000	83000	139000
12,5 unit rhEPO + EMF	8000	8000	15000	22000	35000	55000	96000



Μεγέθυνση 45x.

Φωτογραφία στο μικροσκόπιο των κυττάρων K562 κατόπιν χορήγησης 12,5 μονάδων ερυθροποιητίνης και ταυτόχρονης έκθεσής τους στο ΗΜΠ. Ο αριθμός των κυττάρων είναι μικρότερος από εκείνον του ελέγχου. Σε ό,τι αφορά την εικόνα διαφοροποίησης παρατηρούνται ορισμένα κύτταρα να εμφανίζουν μεγαλύτερο σχήμα, ελαφρώς κίτρινη κυτταροπλασματική χροιά και πυρήνα τοποθετημένο σε έκκεντρο σημείο πλησίον της κυτταροπλασματικής μεμβράνης.





—◆— EMF rhEPO —■— control

Ο συνδυασμός χορήγησης ερυθροποιητίνης και η ταυτόχρονη έκθεση των κυττάρων στις συχνότητες συντονισμού αυτής επάγει ένα φαινόμενο μείωσης του ρυθμού πολλαπλασιασμού των κακοήθων κυττάρων K562, ως προς την ομάδα κυττάρων ελέγχου που πολλαπλασιάζονται χωρίς την παρέμβαση καμιάς ουσίας ή πεδίου, αλλά ελεύθερα.

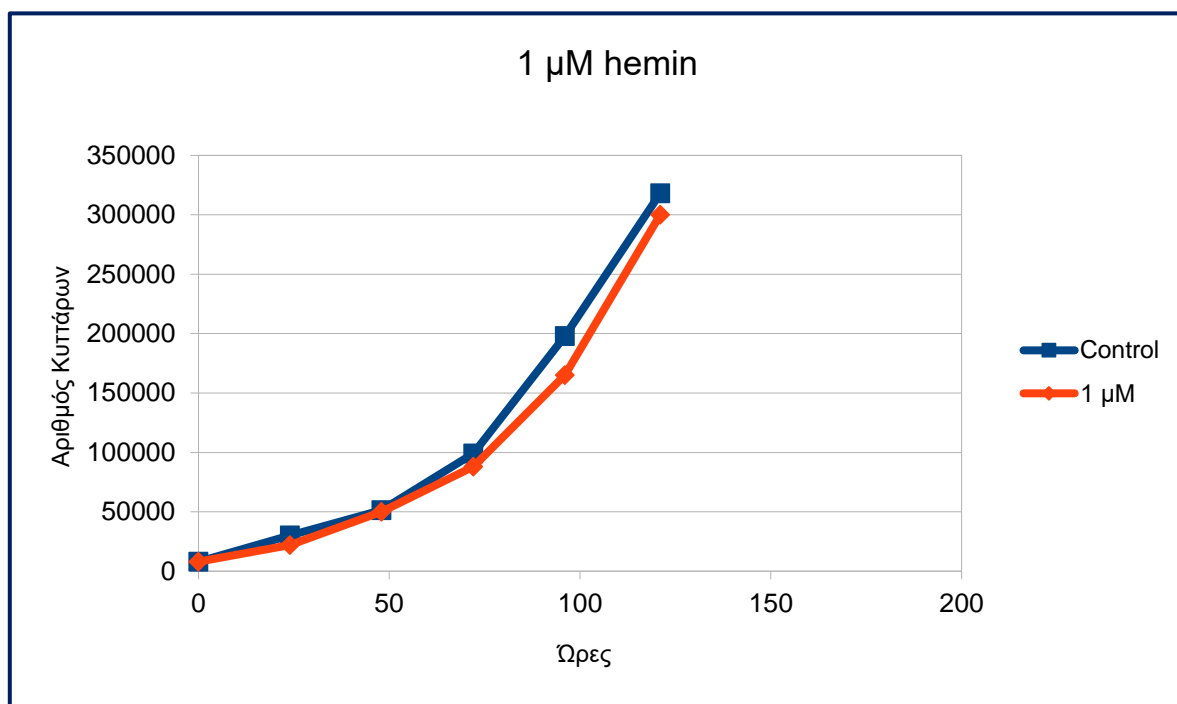
Ωστόσο συγκρίνοντας την δράση της ερυθροποιητίνης από μόνη της φαίνεται ότι αυτή ασκεί πιο ισχυρή ταπείνωση του πολλαπλασιαστικού ρυθμού των κυττάρων K562, από ό,τι σε συνδυασμό με την έκθεσή τους στο διαμορφωμένο πεδίο.

Από την άλλη πλευρά η έκθεση των κυττάρων K562 μόνο στις συχνότητες συντονισμού της ερυθροποιητίνης προκαλεί μια μείωση του ρυθμού πολλαπλασιασμού των εν λόγω κυττάρων, η οποία είναι πρόσκαιρή καθώς οι καμπύλες της αύξησης των κυττάρων ελέγχου και της αύξησης των κυττάρων που εκτίθενται στο διαμορφωμένο πεδίο είναι συγκλίνουσες, όπως φαίνεται στο ανωτέρω διάγραμμα.

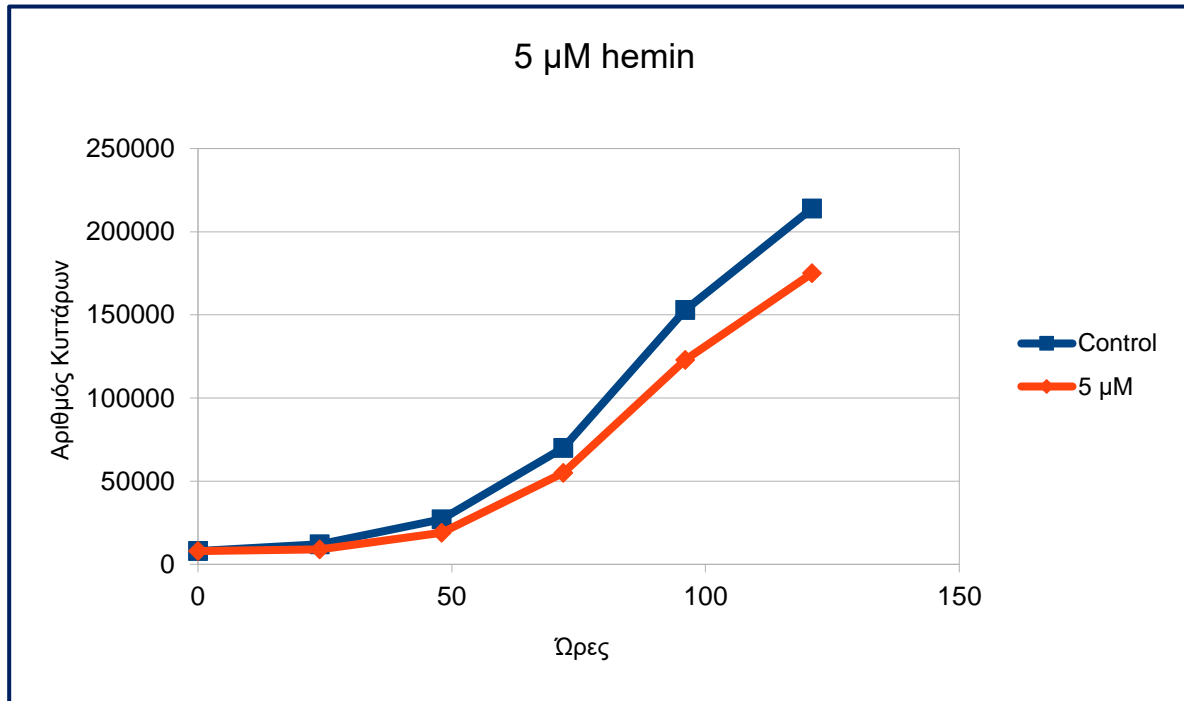
ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΙΜΙΝΗΣ

Η ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΙΜΙΝΗΣ ΓΙΑ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50Μμ ΜΑΣ
ΕΛΩΣΕ ΤΙΣ ΠΑΡΑΚΑΤΩ ΚΑΜΠΥΛΕΣ

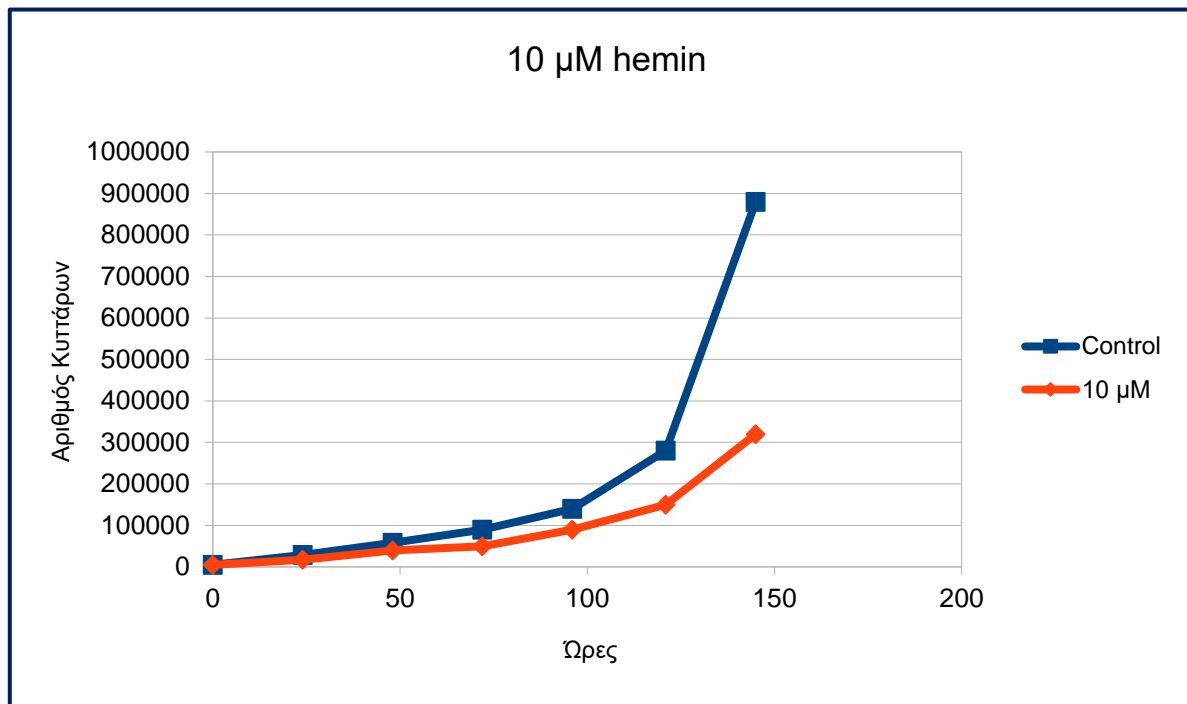
1 μM hemin							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
Control	8000	30000	51500	99000	198000	318000	
1 μM	8000	22000	50000	88000	165000	300000	



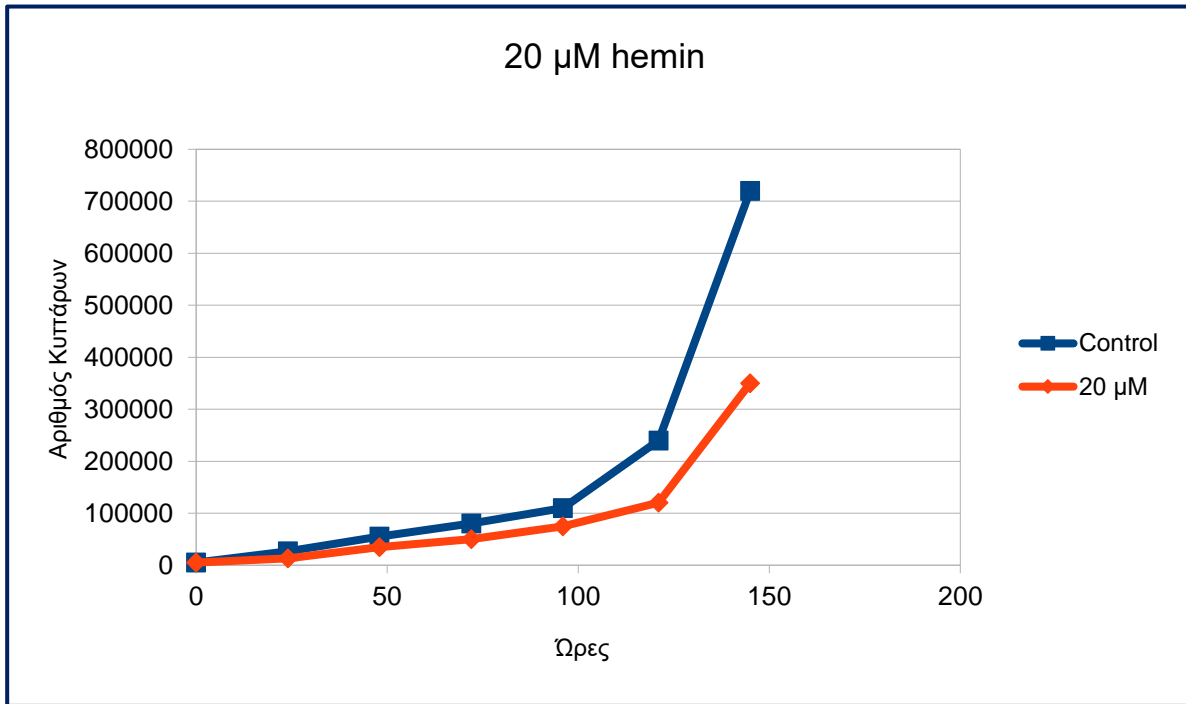
5 μM hemin							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
Control	8000	12000	27000	70000	153000	214000	
5 μM	8000	9000	19000	55000	123000	175000	



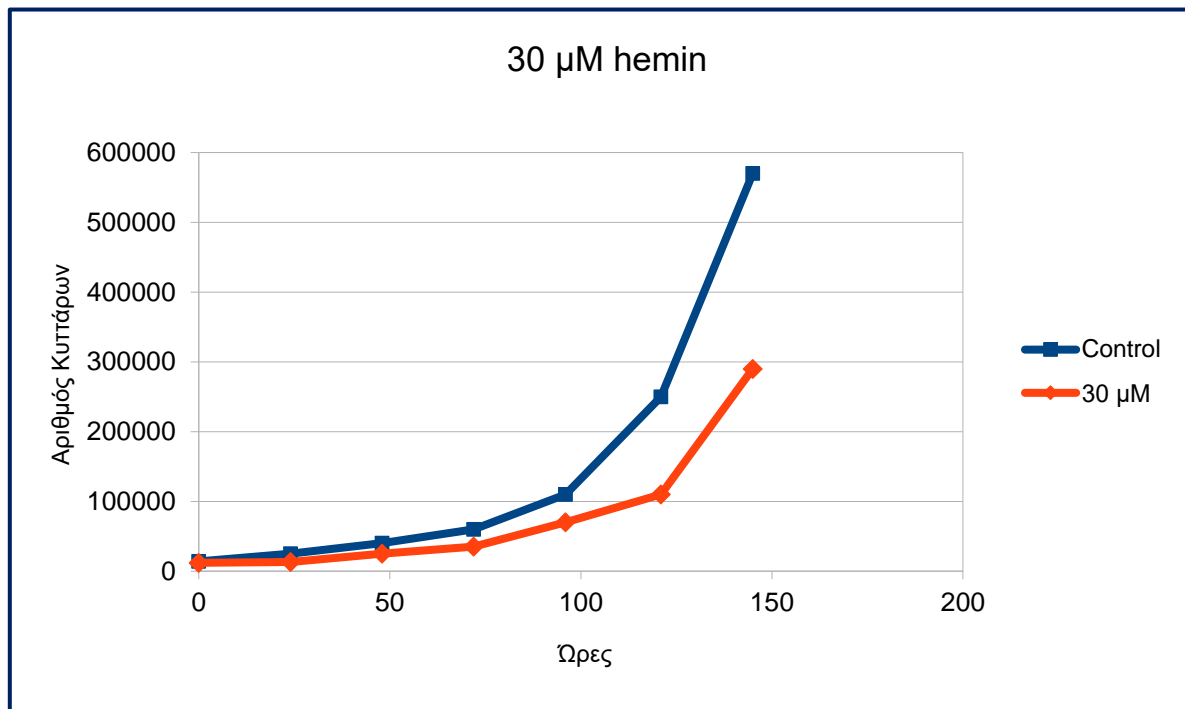
10 μ M hemin							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
Control	5000	29000	58000	90000	140000	280000	880000
10 μ M	5000	17000	40000	50000	90000	150000	320000



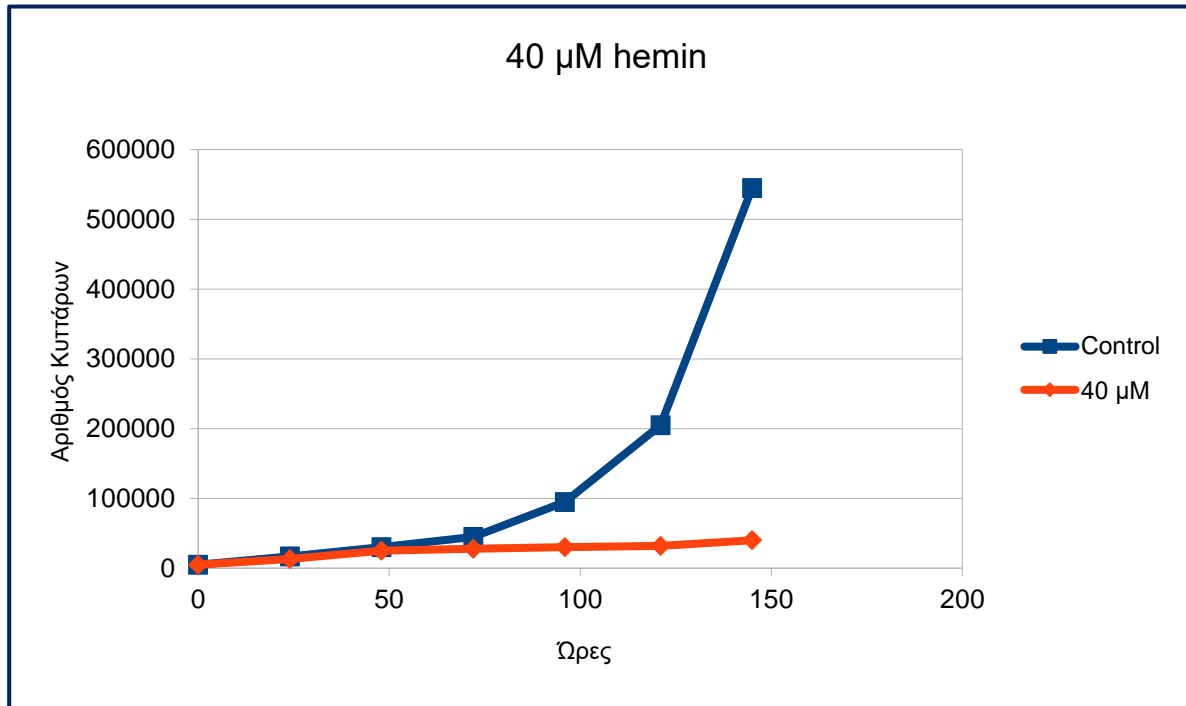
20 μ M hemin							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
Control	5000	27000	55000	80000	110000	240000	720000
20 μ M	5000	13000	35000	50000	75000	120000	350000



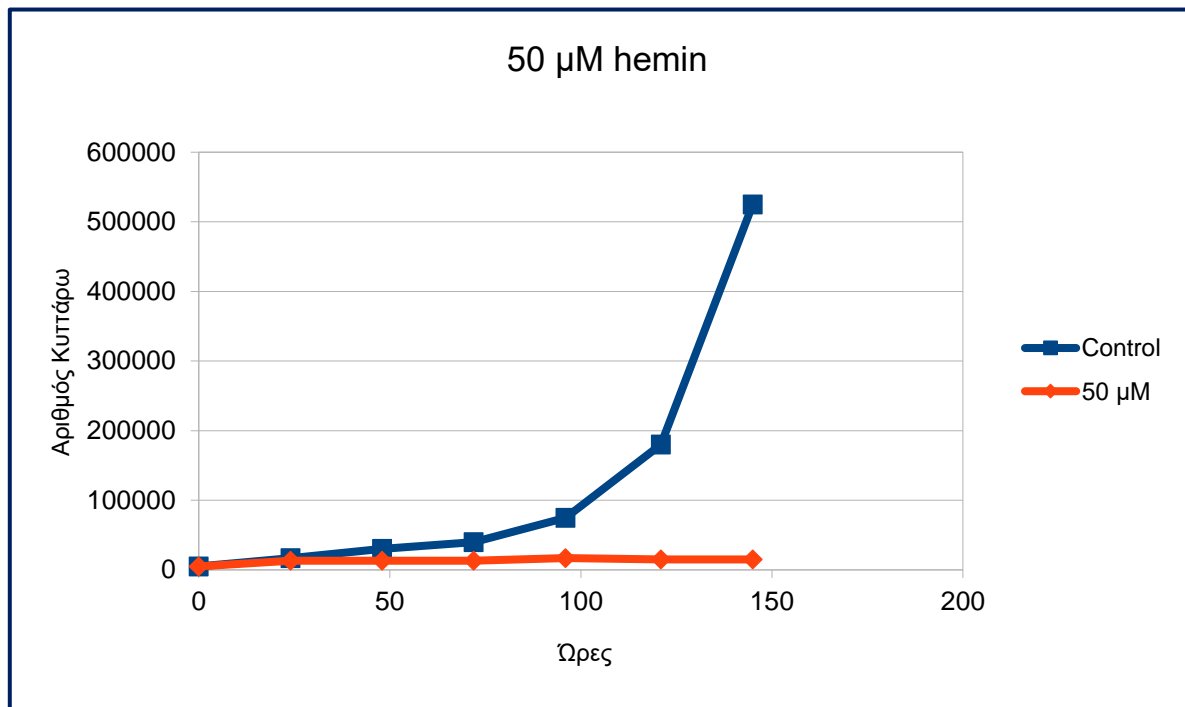
30 μ M hemin							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
Control	14000	25000	40000	60000	110000	250000	570000
30 μ M	12000	13000	25000	35000	70000	110000	290000



40 μ M hemin							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
Control	5000	17000	30000	45000	95000	205000	545000
40 μ M	5000	13000	25000	28000	30000	32000	40000



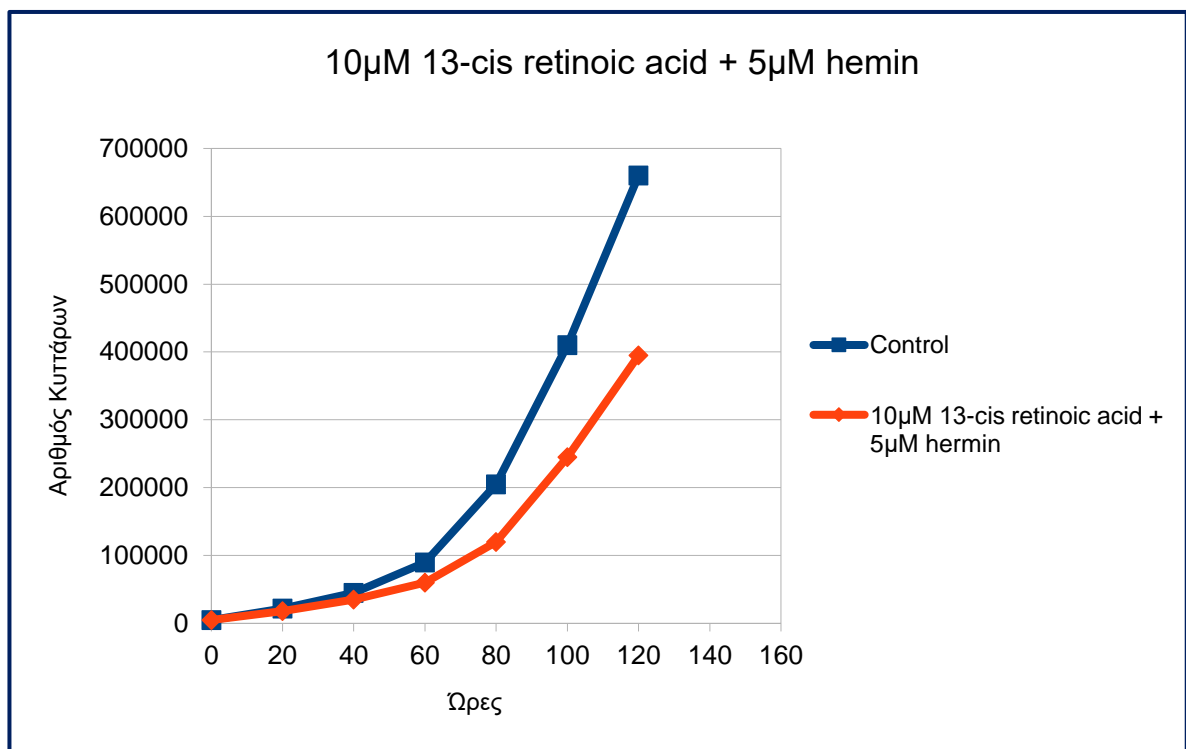
50 μ M hemin							
	0	20	40	60	80	100	120
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145
Control	5000	17000	30000	40000	75000	180000	525000
50 μ M	5000	13000	13001	13002	17000	15000	15001



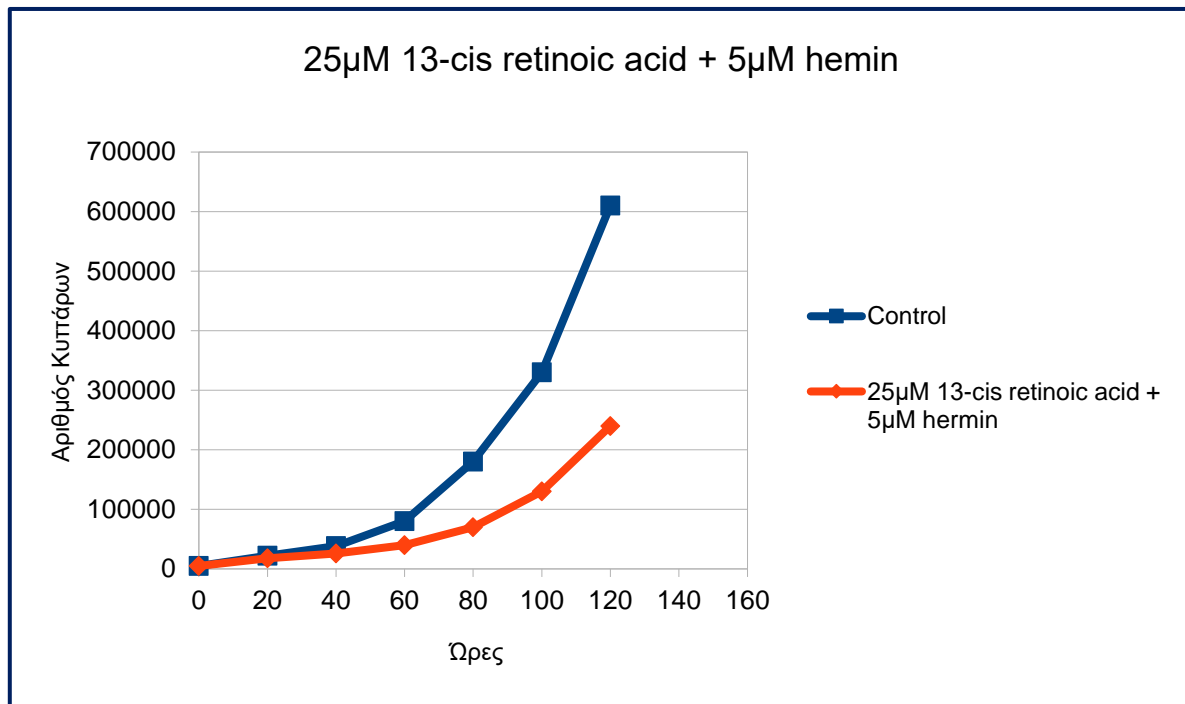
ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΔΡΑΣΗ ΔΥΟ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΗΝ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΣΕΙΡΑ K562

ΟΙ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΤΟΥ 13-cis-retinoic ΕΙΝΑΙ 10, 25, 50, 75μΜ ΜΕ ΤΗΝ ΑΙΜΙΝΗ ΣΤΑΘΕΡΗ ΣΤΑ 5μΜ ΜΑΣ ΕΔΩΣΕ ΤΙΣ ΠΑΡΑΚΑΤΩ ΚΑΜΠΥΛΕΣ

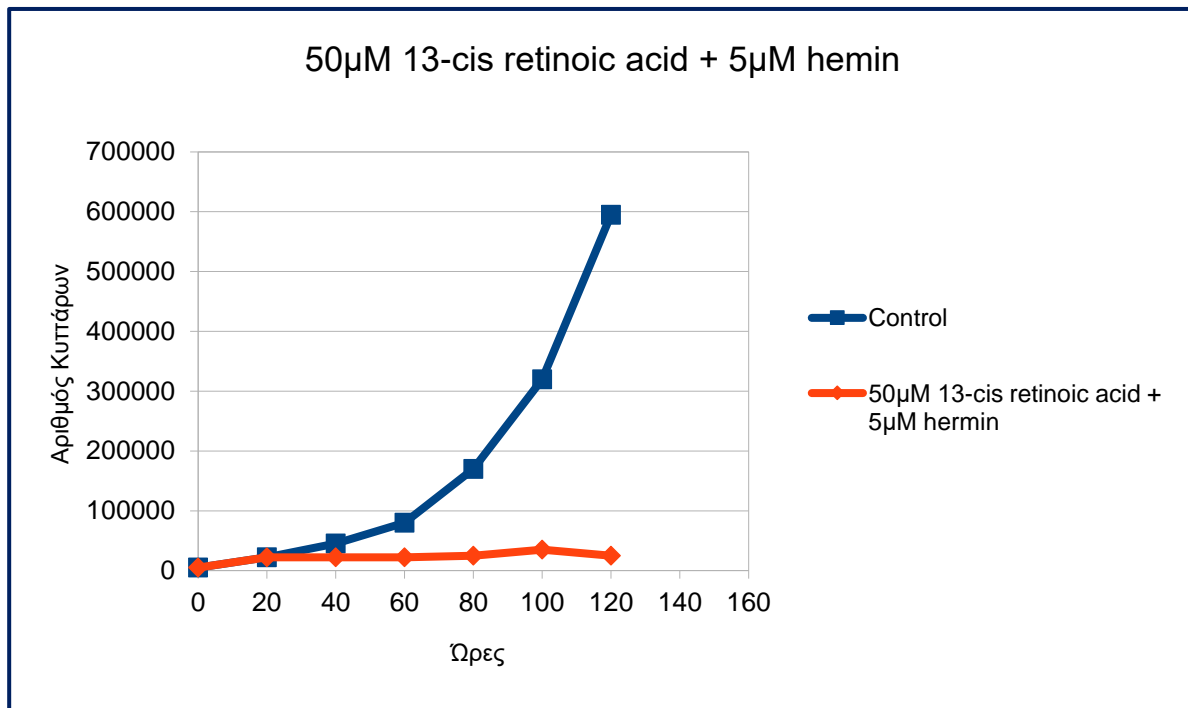
10μΜ 13-cis retinoic acid + 5μΜ hermin									
	0	20	40	60	80	100	120	140	160
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145		
Control	5000	22000	45000	90000	205000	410000	660000		
10μΜ 13-cis retinoic acid + 5μΜ hermin	5000	18000	35000	60000	120000	245000	395000		



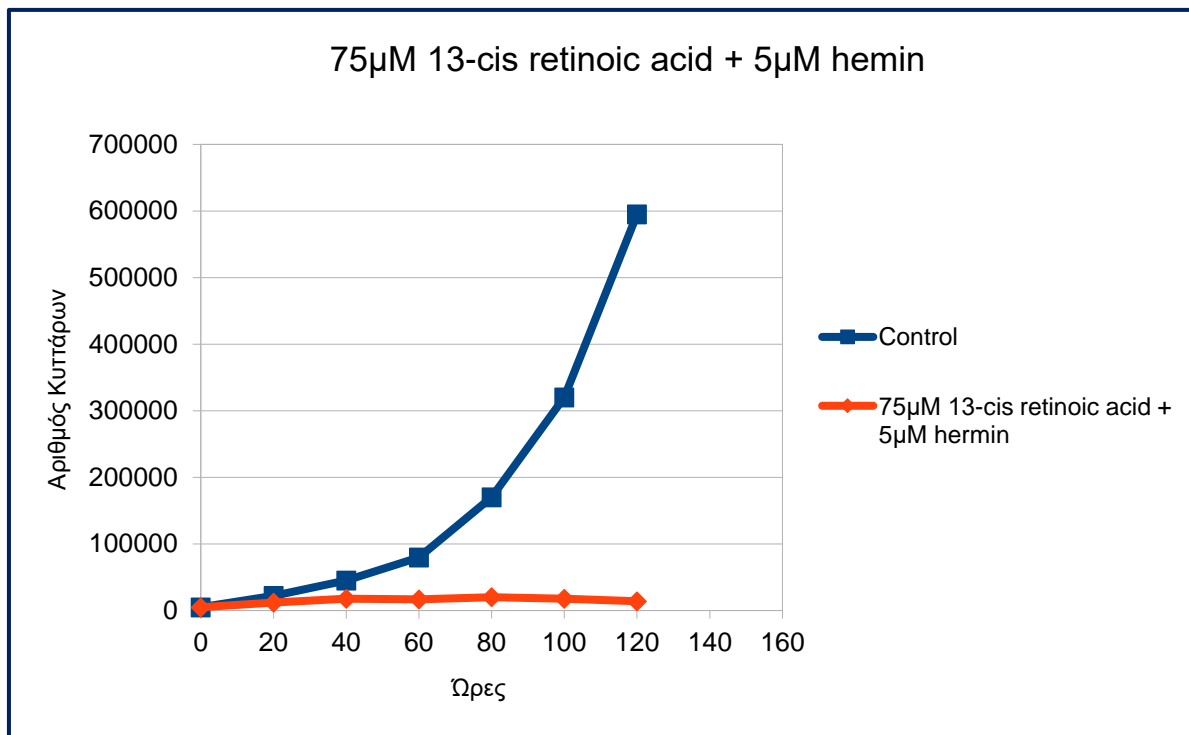
25μM 13-cis retinoic acid + 5μM hermin									
	0	20	40	60	80	100	120	140	160
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145		
Control	5000	22000	38000	80000	180000	330000	610000		
25μM 13-cis retinoic acid + 5μM hermin	5000	18000	26000	40000	70000	130000	240000		



50μM 13-cis retinoic acid + 5μM hermin									
	0	20	40	60	80	100	120	140	160
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145		
Control	5000	22000	45000	80000	170000	320000	595000		
50μM 13-cis retinoic acid + 5μM hermin	5000	22000	22000	22000	25000	35000	25000		



75μM 13-cis retinoic acid + 5μM hermin									
	0	20	40	60	80	100	120	140	160
Αριθμός Κυττάρων	0	24	48	72	96	121	145		
Control	5000	22000	35000	80000	170000	320000	570000		
75μM 13-cis retinoic acid + 5μM hermin	5000	12000	18000	17000	20000	18000	14000		



Συμπεράσματα

Για τα πειράματα με την δράση της αιμίνης

Οι καμπύλες μας δείχνουν ότι για συγκεντρώσεις αιμίνης άνω των 5μM παρατηρείται πολύ μικρή μείωση του ρυθμού ανάπτυξης των δειγμάτων. Για μεγαλύτερες συγκεντρώσεις αιμίνης έως 50μM παρατηρείται σταδιακή μείωση του ρυθμού ανάπτυξης των κυττάρων του κάθε δείγματος.

Αποτέλεσμα όλων των παραπάνω καμπυλών είναι ότι η αιμίνη εκτός από τον ρόλο της να βοηθά καθοριστικά στην σύνθεση των εμβρυϊκών αιμοσφαιρινών, να μπορεί να αντιμετωπίζει επιτυχώς τα καρκινικά κύτταρα πρώτον δημιουργώντας μεταβολές στις κυτταρικές τους δομές, μειώνοντας έτσι τον ρυθμό ανάπτυξής τους και δεύτερον συνθέτοντας μεγάλες ποσότητες αιμοσφαιρίνης. Παρατηρήθηκε επίσης έκκεντρη τοποθέτηση ενός μεγαλύτερου πυρήνα μέσα στα κύτταρα, αλλαγή της χροιάς των κυττάρων και σχηματισμός μεγαλύτερου μεγέθους υγιών κυττάρων.

Για τα πειράματα με την δράση δύο διαφορετικών παραγόντων στην κυτταρική σειρά K562. Για συγκεντρώσεις του 13-cis-retinoic 10, 25, 50, 75μM με την αιμίνη σταθερή στα 5μM

Οι καμπύλες μας δείχνουν ότι για συγκεντρώσεις άνω των 10μM του 13-cis-retinoic παρατηρείται μείωση του ρυθμού ανάπτυξης των δειγμάτων. Για μεγαλύτερες συγκεντρώσεις έως 50μM παρατηρείται σταδιακή μείωση του ρυθμού ανάπτυξης των κυττάρων του κάθε δείγματος, αύξηση του μεγέθους, κιτρινωπό χρώμα στο κυτταρόπλασμα τους και έκκεντρη τοποθέτηση του πυρήνα. Για μεγαλύτερες συγκεντρώσεις των 75μM και άνω, παρατηρείται σταδιακή μείωση του ρυθμού ανάπτυξης των κυττάρων του κάθε δείγματος, αύξηση του μεγέθους, κιτρινωπό χρώμα στο κυτταρόπλασμα τους, έκκεντρη τοποθέτηση του πυρήνα και εξωκύττωση.

Αποτέλεσμα όλων των παραπάνω καμπυλών αυτής της κατηγορίας είναι ότι η προσθήκη αιμίνης σταθερής στα 5μM συμβάλλει στην αύξηση της αίμης στα κύτταρα ενώ η προσθήκη του 13-cis-retinoic συμβάλλει στην διαφοροποίηση των κυττάρων K562, η οποία όσο αυξάνει δηλαδή από 10μM σε 75μM και άνω, τα αποτελέσματα της διαφοροποίησης είναι πιο ορατά. Άρα με τον συνδυασμό της δράσης δύο διαφορετικών παραγόντων στην

κυτταρική σειρά K562 προκαλείται μεγαλύτερη διαφοροποίηση αυτών. Παρατηρείται σταδιακή μείωση του ρυθμού ανάπτυξης των κυττάρων του κάθε δείγματος, αύξηση του μεγέθους τους, αλλαγή χρώματος προς το κιτρινωπό στο κυτταρόπλασμα τους, αλλαγή της θέσης των ενδοκυτταρικών οργανιδίων με βασική αλλαγή την έκκεντρη τοποθέτηση του πυρήνα και εξωκύττωση.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ *IN VIVO*

ΔΕΛΟΜΕΝΑ *IN VIVO* ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ ΠΡΟΚΛΗΣΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ ΣΤΙΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΟΜΑΔΕΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΖΩΩΝ

1^ο) Ομάδα Ελέγχου των Ελέγχων (ΟΕΕ)

Στην ομάδα πειραματοζώων ΟΕΕ, στην οποία δεν γίνεται καμία αιματηρή παρέμβαση έχουμε τα εξής δεδομένα:

α) Ο αιματοκρίτης των πειραματοζώων (10 άτομα) πριν την έναρξη της παρακολούθησης είναι ίσος προς 43 ± 3 . Μετά την πραγματοποίηση του πειράματος ο αιματοκρίτης παραμένει στο επίπεδο των 43 ± 4 . Δεν υπάρχει ουσιώδης μεταβολή του αιματοκρίτη.

Στον πίνακα αρ.1 φαίνονται οι τιμές των αιματολογικών παραμέτρων των πειραματοζώων στην πρώτη μέτρηση και στην τελευταία μέτρηση

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: Δεν παρατηρούνται μεταβολές κατά τον χρόνο παρατήρησης.

ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΡΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ			
ΔΟΚΙΜΗ – ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΜΟΝΑΔΕΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΟΚΙΜΩΝ	ΕΥΡΟΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΙΜΩΝ
ΑΡΙΘΜΟΣ ΖΩΩΝ	10	3	-
ΑΙΜΑΤΟΚΡΙΤΗΣ	%	$45\pm 3,5$	39,6-52,5
ΕΡΥΘΡΑ ΑΙΜ	10^6	$8,4\pm 0,61$	7,27-9,65
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ	gr/Dl	$15,8\pm 1$	13,7-17,6
ΛΕΥΚΑ ΑΙΜ	10^3	$4,83\pm 1,1$	1,96-8,25
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ	$10^3/\mu\text{L}$	919 ± 128	638-1177
ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΜΕΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ			
ΔΟΚΙΜΗ – ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΜΟΝΑΔΕΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΟΚΙΜΩΝ	ΕΥΡΟΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΙΜΩΝ
ΑΡΙΘΜΟΣ ΖΩΩΝ	10	3	-
ΑΙΜΑΤΟΚΡΙΤΗΣ	%	$45\pm 2,5$	39,6-52,5
ΕΡΥΘΡΑ ΑΙΜ	10^6	$8,9\pm 0,63$	7,27-9,65
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ	gr/Dl	$15,9\pm 1$	13,7-17,6
ΛΕΥΚΑ ΑΙΜ	10^3	$4,95\pm 1$	1,96-8,25
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ	$10^3/\mu\text{L}$	915 ± 118	638-1177

2^{ον}) Ομάδα πρόκλησης αναιμίας χωρίς θεραπεία (ΟΠΑΧΘ)

Στην ομάδα πρόκλησης αναιμίας χωρίς θεραπεία (ΟΠΑΧΘ) εφαρμόσαμε το πρωτόκολλο δημιουργίας ταχείας φθοράς των ερυθροκυττάρων στους επίμυες Wistar και είχαμε σαφή επιτυχία. Τα ζώα κατέστησαν αναιμικά με σταθεροποίηση του χαμηλού αιματοκρίτη επί μακρό. Τα δεδομένα φαίνονται στον πίνακα αρ. 2. Η ομάδα αυτή λειτούργησε ως ομάδα ελέγχου.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2: Τα ζώα καθίστανται αναιμικά $p < 0,05$

ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΡΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ			
ΔΟΚΙΜΗ – ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΜΟΝΑΔΕΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΟΚΙΜΩΝ	ΕΥΡΟΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΙΜΩΝ
ΑΡΙΘΜΟΣ ΖΩΩΝ	10	3	-
ΑΙΜΑΤΟΚΡΙΤΗΣ	%	46±3	39,6-52,5
ΕΡΥΘΡΑ ΑΙΜ	10 ⁶	8,9±0,51	7,27-9,65
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ	gr/Dl	15,9±1	13,7-17,6
ΛΕΥΚΑ ΑΙΜ	10 ³	5,1±1,3	1,96-8,25
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ	10 ³ /μL	922±116	638-1177
ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΜΕΤΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ			
ΔΟΚΙΜΗ – ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΜΟΝΑΔΕΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΟΚΙΜΩΝ	ΕΥΡΟΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΙΜΩΝ
ΑΡΙΘΜΟΣ ΖΩΩΝ	10	3	-
ΑΙΜΑΤΟΚΡΙΤΗΣ	%	35±1,4	39,6-52,5
ΕΡΥΘΡΑ ΑΙΜ	10 ⁶	6,9±0,52	7,27-9,65
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ	gr/Dl	10,6±1,3	13,7-17,6
ΛΕΥΚΑ ΑΙΜ	10 ³	4,83±1,1	1,96-8,25
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ	10 ³ /μL	964±111	638-1177

3^{ον}) Ομάδα πρόκλησης αναιμίας και έκθεση σε τυχαίες συχνότητες ηλεκτρομαγνητικών πεδίων (ΟΠΑΤΣ)

Στην ομάδα αυτή τα ζώα στα οποία προκλήθηκε αναιμία με το πειραματικό μοντέλο που περιγράψαμε εκτέθηκαν σε τυχαία ηλεκτρομαγνητικά πεδία επί τον συγκεκριμένο χρόνο που προέβλεπε το πρωτόκολλο και κατόπιν έγινε έλεγχος των αιματολογικών παραμέτρων. Τα ζώα αυτά δεν παρουσίασαν αύξηση του αιματοκρίτη και των άλλων έμμορφων στοιχείων του αίματός τους. Τα δεδομένα αυτά φαίνονται στον πίνακα αρ.3

ΠΙΝΑΚΑΣ 3: Πρόκληση αναιμίας και μη διορθωτική δράση αυτής μετά την έκθεση σε τυχαίες συχνότητες ηλεκτρομαγνητικών πεδίων. $P < 0,05$.

ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΡΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ			
ΔΟΚΙΜΗ – ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΜΟΝΑΔΕΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΟΚΙΜΩΝ	ΕΥΡΟΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΙΜΩΝ
ΑΡΙΘΜΟΣ ΖΩΩΝ	10	3	-
ΑΙΜΑΤΟΚΡΙΤΗΣ	%	46,2±3	39,6-52,5
ΕΡΥΘΡΑ ΑΙΜ	10 ⁶	9,1±0,41	7,27-9,65
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ	gr/Dl	16,2±1,1	13,7-17,6
ΛΕΥΚΑ ΑΙΜ	10 ³	5,3±1,5	1,96-8,25
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ	10 ³ /μL	932±116	638-1177
ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΜΕΤΑ ΠΡΟΚΛΗΣΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ			
ΔΟΚΙΜΗ – ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΜΟΝΑΔΕΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΟΚΙΜΩΝ	ΕΥΡΟΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΙΜΩΝ
ΑΡΙΘΜΟΣ ΖΩΩΝ	10	3	-
ΑΙΜΑΤΟΚΡΙΤΗΣ	%	34±1,2	39,6-52,5
ΕΡΥΘΡΑ ΑΙΜ	10 ⁶	6,1±0,34	7,27-9,65
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ	gr/Dl	10±0,38	13,7-17,6
ΛΕΥΚΑ ΑΙΜ	10 ³	4,42±0,5	1,96-8,25
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ	10 ³ /μL	951±96	638-1177
ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΜΕΤΑ ΕΚΘΕΣΗΣ ΣΕ ΤΥΧΑΙΕΣ ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ			
ΔΟΚΙΜΗ – ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΜΟΝΑΔΕΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΟΚΙΜΩΝ	ΕΥΡΟΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΙΜΩΝ
ΑΡΙΘΜΟΣ ΖΩΩΝ	10	3	-
ΑΙΜΑΤΟΚΡΙΤΗΣ	%	35±1,3	39,6-52,5
ΕΡΥΘΡΑ ΑΙΜ	10 ⁶	6,8±0,38	7,27-9,65
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ	gr/Dl	11±0,57	13,7-17,6
ΛΕΥΚΑ ΑΙΜ	10 ³	4,91±0,8	1,96-8,25
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ	10 ³ /μL	950±99	638-1177

4^{ον}) ΗΜΠΕΡ: Ομάδα πρόκλησης αναιμίας που εκτέθηκε θεραπευτικά σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία διαμορφωμένων σύμφωνα με τις συχνότητες συντονισμού της ερυθροποιητίνης

Στα πειραματόζωα αυτά προκλήθηκε αναιμία, σύμφωνα με τα πρωτόκολλα που επιλέχθηκαν. Τα ζώα κατόπιν εκτέθηκαν επί τον συγκεκριμένο χρόνο στα ΗΜΠ που είχαν διαμορφωθεί σύμφωνα με τα NMR της ερυθροποιητίνης. Τα ζώα αυτά στον επανέλεγχο παρουσίασαν αύξηση του αιματοκρίτη, των ερυθρών αιμοσφαιρίων και άλλων παραμέτρων αυτών. Τα λευκά αιμοσφαίρια και τα αιμοπετάλια σημείωσαν επίσης μικρή αύξηση μη στατιστικά σημαντική. Τα δεδομένα αυτών των μετρήσεων φαίνονται στον πίνακα αρ.4.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4: Πρόκληση φαρμακευτικής αναιμίας και μερική διόρθωση της από έκθεση των πειραματοζώων σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία συχνοτήτων διαμορφωμένων σύμφωνα με τις συχνότητες του NMR της ορμόνης ερυθροποιητίνης. P<0,05.

ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΡΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ			
ΔΟΚΙΜΗ – ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΜΟΝΑΔΕΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΟΚΙΜΩΝ	ΕΥΡΟΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΙΜΩΝ
ΑΡΙΘΜΟΣ ΖΩΩΝ	10	3	-
ΑΙΜΑΤΟΚΡΙΤΗΣ	%	45,7±1,9	39,6-52,5
ΕΡΥΘΡΑ ΑΙΜ	10 ⁶	9,2±0,53	7,27-9,65
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ	gr/Dl	15,8±1	13,7-17,6
ΛΕΥΚΑ ΑΙΜ	10 ³	5,5±1,3	1,96-8,25
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ	10 ³ /μL	914±96	638-1177
ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΜΕΤΑ ΠΡΟΚΛΗΣΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ			
ΔΟΚΙΜΗ – ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΜΟΝΑΔΕΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΟΚΙΜΩΝ	ΕΥΡΟΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΙΜΩΝ
ΑΡΙΘΜΟΣ ΖΩΩΝ	10	3	-
ΑΙΜΑΤΟΚΡΙΤΗΣ	%	33±1,5	39,6-52,5
ΕΡΥΘΡΑ ΑΙΜ	10 ⁶	5,8±0,18	7,27-9,65
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ	gr/Dl	9,9±0,53	13,7-17,6
ΛΕΥΚΑ ΑΙΜ	10 ³	4,17±0,9	1,96-8,25
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ	10 ³ /μL	959±98	638-1177
ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΜΕΤΑ ΕΚΘΕΣΗΣ ΣΕ ΣΥΧΝΟΤΗΤΕΣ ΔΙΑΜΟΡΦΩΜΕΝΕΣ ΚΑΤΑ ΤΟ NMR ΦΑΣΜΑ ΤΗΣ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ			
ΔΟΚΙΜΗ – ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΜΟΝΑΔΕΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΟΚΙΜΩΝ	ΕΥΡΟΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΙΜΩΝ
ΑΡΙΘΜΟΣ ΖΩΩΝ	10	3	-
ΑΙΜΑΤΟΚΡΙΤΗΣ	%	39,5±1,2	39,6-52,5
ΕΡΥΘΡΑ ΑΙΜ	10 ⁶	6,3±0,11	7,27-9,65
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ	gr/Dl	13±0,17	13,7-17,6
ΛΕΥΚΑ ΑΙΜ	10 ³	6,31±0,2	1,96-8,25
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ	10 ³ /μL	997±34	638-1177

5^{ον}) Ομάδα πρόκλησης αναιμίας λαμβάνουσα κατόπιν θεραπευτικά κατάλληλα συμπληρώματα σιδήρου και φυλλικού οξέος (ΘΕΡ), με 10 ζώα)

Στα πειραματόζωα αυτά προκλήθηκε αναιμία και κατόπιν χορηγήθηκαν θεραπευτικά κατάλληλα συμπληρώματα σιδήρου και φυλλικού οξέος. Η ομάδα αυτή χαρακτηρίστηκε ως ομάδα κλασσικής θεραπείας (ΘΕΡ). Ο αιματοκρίτης των ζώων σημείωσε άνοδο στατιστικά σημαντική μέσα στον καθορισμένο χρόνο του πειράματος. Τα δεδομένα των μετρήσεων φαίνονται στον πίνακα αρ. 5.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5: Πρόκληση φαρμακευτικής αναιμίας και διόρθωσής της με την χορήγηση κατάλληλων ποσοτήτων συμπληρωμάτων σιδήρου και φυλλικού οξέος. P<0,05.

ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΡΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ			
ΔΟΚΙΜΗ – ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΜΟΝΑΔΕΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΟΚΙΜΩΝ	ΕΥΡΟΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΙΜΩΝ
ΑΡΙΘΜΟΣ ΖΩΩΝ	10	3	-
ΑΙΜΑΤΟΚΡΙΤΗΣ	%	45,3±1,4	39,6-52,5
ΕΡΥΘΡΑ ΑΙΜ	10 ⁶	9,6±0,56	7,27-9,65
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ	gr/Dl	15,4±1,7	13,7-17,6
ΛΕΥΚΑ ΑΙΜ	10 ³	5,7±1,4	1,96-8,25
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ	10 ³ /μL	911±116	638-1177
ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΜΕΤΑ ΠΡΟΚΛΗΣΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ			
ΔΟΚΙΜΗ – ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΜΟΝΑΔΕΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΟΚΙΜΩΝ	ΕΥΡΟΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΙΜΩΝ
ΑΡΙΘΜΟΣ ΖΩΩΝ	10	3	-
ΑΙΜΑΤΟΚΡΙΤΗΣ	%	33±0,6	39,6-52,5
ΕΡΥΘΡΑ ΑΙΜ	10 ⁶	5,1±0,44	7,27-9,65
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ	gr/Dl	10,8±0,61	13,7-17,6
ΛΕΥΚΑ ΑΙΜ	10 ³	4,51±1	1,96-8,25
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ	10 ³ /μL	961±121	638-1177
ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΜΕΤΑ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΩΝ ΣΙΔΗΡΟΥ ΚΑΙ ΦΥΛΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ			
ΔΟΚΙΜΗ – ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΜΟΝΑΔΕΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΟΚΙΜΩΝ	ΕΥΡΟΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΙΜΩΝ
ΑΡΙΘΜΟΣ ΖΩΩΝ	10	3	-
ΑΙΜΑΤΟΚΡΙΤΗΣ	%	41,56±1,5	39,6-52,5
ΕΡΥΘΡΑ ΑΙΜ	10 ⁶	8,5±0,64	7,27-9,65
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ	gr/Dl	13,9±0,17	13,7-17,6
ΛΕΥΚΑ ΑΙΜ	10 ³	67,51±0,2	1,96-8,25
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ	10 ³ /μL	995±124	638-1177

6^{ον}) Ομάδα πρόκλησης αναιμίας και θεραπεία αυτής με ΗΜΠ συχνοτήτων συντονισμού της ερυθροποιητίνης και χορήγησης σιδήρου και φυλλικού οξέος, καθώς και βιταμίνης C (ΗΜΠΕΡ + ΘΕΡ)

Τα ζώα αυτά μετά την εγκατάσταση της αναιμίας τους υποβλήθηκαν σε μικτή θεραπεία η ΗΜΠ συχνοτήτων συντονισμού της ερυθροποιητίνης και λήψης σιδήρου με φυλλικό και ασκορβικό οξύ. Τα ζώα παρουσίασαν στον προκαθορισμένο χρόνο αύξηση του αιματοκρίτη, της αιμοσφαιρίνης, του αριθμού των ερυθροκυττάρων τους και των λοιπών δεικτών που σχετίζονται με την αύξηση της παραγωγής αιμοσφαιρίνης και την ενεργοποίηση της ερυθροποίησης στον μυελό των οστών. Επίσης παρατηρήθηκε μη στατιστικά σημαντική αύξηση των λευκοκυττάρων και των αιμοπεταλίων, όπως επίσης αύξηση και των δικτυοκυττάρων στο περιφερικό αίμα. Τα δεδομένα αυτά φαίνονται στον πίνακα αρ. 6.

ΠΙΝΑΚΑΣ 6: Πρόκληση φαρμακευτικής αναιμίας και διόρθωσης αυτής με έκθεση σε ΗΜΠ διαμορφωμένα σύμφωνα με τις συχνότητες της ερυθροποιητίνης, καθώς και παράλληλης χορήγησης συμπληρωμάτων σιδήρου, φυλλικού οξέος και ασκορβικού οξέος (βιταμίνη C). $p < 0.05$.

ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΡΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ			
ΔΟΚΙΜΗ – ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΜΟΝΑΔΕΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΟΚΙΜΩΝ	ΕΥΡΟΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΙΜΩΝ
ΑΡΙΘΜΟΣ ΖΩΩΝ	10	3	-
ΑΙΜΑΤΟΚΡΙΤΗΣ	%	46,8±4	39,6-52,5
ΕΡΥΘΡΑ ΑΙΜ	10 ⁶	9,22±0,53	7,27-9,65
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ	gr/Dl	16,8±1,9	13,7-17,6
ΛΕΥΚΑ ΑΙΜ	10 ³	5,38±1,3	1,96-8,25
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ	10 ³ /μL	909±108	638-1177
ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΜΕΤΑ ΠΡΟΚΛΗΣΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ			
ΔΟΚΙΜΗ – ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΜΟΝΑΔΕΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΟΚΙΜΩΝ	ΕΥΡΟΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΙΜΩΝ
ΑΡΙΘΜΟΣ ΖΩΩΝ	10	3	-
ΑΙΜΑΤΟΚΡΙΤΗΣ	%	33±1,5	39,6-52,5
ΕΡΥΘΡΑ ΑΙΜ	10 ⁶	6,9±0,18	7,27-9,65
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ	gr/Dl	10±0,21	13,7-17,6
ΛΕΥΚΑ ΑΙΜ	10 ³	4,55±0,8	1,96-8,25
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ	10 ³ /μL	971±123	638-1177
ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΜΕΤΑ ΕΚΘΕΣΗΣ ΣΕ ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΑ ΠΕΔΙΑ ΔΙΑΜΟΡΦΩΜΕΝΑ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟ ΦΑΣΜΑ ΤΗΣ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ ΚΑΘΩΣ ΚΑΙ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΙΚΗΣ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΣΙΔΗΡΟΥ, ΦΥΛΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΚΑΙ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ C			
ΔΟΚΙΜΗ – ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΜΟΝΑΔΕΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΟΚΙΜΩΝ	ΕΥΡΟΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΙΜΩΝ
ΑΡΙΘΜΟΣ ΖΩΩΝ	10	3	-
ΑΙΜΑΤΟΚΡΙΤΗΣ	%	43±1,9	39,6-52,5
ΕΡΥΘΡΑ ΑΙΜ	10 ⁶	8,5±0,12	7,27-9,65
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ	gr/Dl	14,9±1,7	13,7-17,6
ΛΕΥΚΑ ΑΙΜ	10 ³	4,91±0,8	1,96-8,25
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ	10 ³ /μL	997±135	638-1177

7^{ον}) Ομάδα πρόκλησης αναιμίας και θεραπείας με ερυθροποιητίνη εξωγενώς (ΕΡΥΘ) και συμπληρωμάτων σιδήρου, φυλλικού και ασκορβικού οξέος

Τα ζώα αυτά μετά την εγκατάσταση της αναιμίας τους υποβλήθηκαν σε χορήγηση ερυθροποιητίνης και λήψης σιδήρου με φυλλικό και ασκορβικό οξύ. Τα ζώα παρουσίασαν στον προκαθορισμένο χρόνο αύξηση του αιματοκρίτη και των άλλων στοιχείων των συνδεόμενων με την ερυθροκυτταρική σειρά. Όλες αυτές οι αυξήσεις ήταν στατιστικά σημαντικές και συνοψίζονται στον πίνακα αρ. 7

ΠΙΝΑΚΑΣ 7: Πρόκληση φαρμακευτικής αναιμίας σε επίμυες Wistar και διόρθωσης αυτής με την χορήγηση ερυθροποιητίνης και συμπληρωμάτων σιδήρου, φυλλικού.

ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΡΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ			
ΔΟΚΙΜΗ – ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΜΟΝΑΔΕΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΟΚΙΜΩΝ	ΕΥΡΟΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΙΜΩΝ
ΑΡΙΘΜΟΣ ΖΩΩΝ	10	3	-
ΑΙΜΑΤΟΚΡΙΤΗΣ	%	45,6±4	39,6-52,5
ΕΡΥΘΡΑ ΑΙΜ	10 ⁶	8,97±0,61	7,27-9,65
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ	gr/Dl	15,2±1,4	13,7-17,6
ΛΕΥΚΑ ΑΙΜ	10 ³	5,12±1,1	1,96-8,25
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ	10 ³ /μL	921±121	638-1177
ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΜΕΤΑ ΠΡΟΚΛΗΣΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ			
ΔΟΚΙΜΗ – ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΜΟΝΑΔΕΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΟΚΙΜΩΝ	ΕΥΡΟΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΙΜΩΝ
ΑΡΙΘΜΟΣ ΖΩΩΝ	10	3	-
ΑΙΜΑΤΟΚΡΙΤΗΣ	%	34±1,7	39,6-52,5
ΕΡΥΘΡΑ ΑΙΜ	10 ⁶	6,2±1	7,27-9,65
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ	gr/Dl	10±0,12	13,7-17,6
ΛΕΥΚΑ ΑΙΜ	10 ³	5,34±0,6	1,96-8,25
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ	10 ³ /μL	956±121	638-1177
ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΜΕΤΑ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΕΡΥΘΡΟΠΟΙΗΤΙΝΗΣ ΚΑΙ ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΩΝ ΣΙΔΗΡΟΥ, ΦΥΛΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΚΑΙ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ C			
ΔΟΚΙΜΗ – ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΜΟΝΑΔΕΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΟΚΙΜΩΝ	ΕΥΡΟΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΤΙΜΩΝ
ΑΡΙΘΜΟΣ ΖΩΩΝ	10	3	-
ΑΙΜΑΤΟΚΡΙΤΗΣ	%	43±1,9	39,6-52,5
ΕΡΥΘΡΑ ΑΙΜ	10 ⁶	8,5±0,12	7,27-9,65
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ	gr/Dl	14,9±1,7	13,7-17,6
ΛΕΥΚΑ ΑΙΜ	10 ³	4,91±0,8	1,96-8,25
ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑ	10 ³ /μL	997±135	638-1177

ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Στην παρούσα κατάσταση των ιατρικών πραγμάτων των σχετικών με την θεραπεία των κακοήθων νεοπλασματικών νόσων, μέσα στις οποίες συμπεριλαμβάνονται τα καρκινώματα, τα σαρκώματα και οι λευχαιμίες, υπάρχουν θεραπευτικοί προσανατολισμοί που έχουν καθιερωθεί από την πολυετή τους εφαρμογή ως αποτελεσματικότεροι. Μέσα σε αυτούς μια κυρίαρχη θέση κατέχει η λεγόμενη χημειοθεραπεία (Einhorn et al. 2003; Savarese and Cognetti 2003). Η χημειοθεραπεία εμφανίζει πολλές εφαρμογές, αλλά και πολλές και δύσκολα αντιμετωπίσιμες παρενέργειες, οι οποίες θίγουν όλα τα συστήματα του προσβεβλημένου από κακόηθες νεόπλασμα οργανισμού (Corrie PG, Pippa G. 2008. Eastman A, 1990.).

Συχνά η χημειοθεραπεία δεν έχει τα αναμενόμενα αποτελέσματα, κυρίως εξ αιτίας της εγκατεστημένης ήδη αντοχής των κακοήθων κυττάρων σε αυτήν, ή της ανθεκτικότητας που εγκαθίσταται ταχέως μετά από μερικούς χημικοθεραπευτικούς κύκλους (Alfarouk KO et al 2015). Για τον λόγο αυτό ο ογκολόγος πηγαίνει πολύ προσεκτικά στην εφαρμογή της ώστε να μην φτάσει η νόσος του ασθενούς σύντομα σε μια κατάσταση πολλαπλής ανθεκτικότητας των κακοήθων κυττάρων απέναντι σε πολλούς χημειοθεραπευτικούς παράγοντες (Airley Rachel (2009). *Cancer chemotherapy*. Wiley-Blackwell. ISBN 978-0-470-09254-5). Παρά την πολλαπλή και συχνά σωστή επιστημονική κριτική που υφίσταται η χημειοθεραπεία εν τούτοις εξακολουθεί να αποτελεί ίσως το κύριο μέσο αντιμετώπισης της κακοήθους νεοπλασματικής νόσου, εφ' όσον ακόμη οι προτεινόμενες νέες αγωγές δεν έχουν τελεσφορήσει και ευρίσκονται σε πειραματικά στάδια (Epstein RJ (August 2005). Malhotra V, Perry MC (2003). Rajman L, et al (2018). Kaestner SA, Sewell GJ (February 2007).). Συνεπώς η χημειοθεραπεία εξακολουθεί να χρησιμοποιείται ως ένας σημαντικός θεραπευτικός πυλώνας, του οποίου το αποτέλεσμα συχνά ενισχύεται και από άλλες θεραπευτικές μεθόδους, όπως την ακτινοθεραπεία, την ανοσολογική θεραπεία, την χειρουργική αντιμετώπιση, και κάποιες περιφερικές μορφές θεραπευτικής προσέγγισης (Einhorn et al. 2003, Savarese and Cognetti 2003). Εδώ και αρκετά χρόνια γίνεται προσπάθεια μιας βελτίωσης της ανάπτυξης νέων φαρμάκων ικανών να δημιουργήσουν διαφοροποίηση των κακοήθων νεοπλασματικών όγκων, ώστε η θεραπευτική αντιμετώπιση της χημειοθεραπείας να γίνει πιο ουσιαστική και ριζική (Min Yan and Quentin Liu 2016. Laura A. Hansen et al 2000. Wen Ping Xu, 2013).

Η θεραπευτική αυτή πρόταση σιγά - σιγά αποκτά μια βαρύνουσα σημασία για την αντιμετώπιση των κακοήθων νεοπλασμάτων και εξελίσσεται σε προσπάθεια διαφοροποίησης των κυττάρων τους με την χρήση ουσιών οι οποίες μπορούν να την εισάγουν τόσο *in vitro*, όσο και *in vivo* (Min Yan and Quentin Liu 2016. Laura A. Hansen et al 2000). Η προσέγγιση αυτή χρησιμοποιήθηκε επίσης σε μια σειρά πειραμάτων της ανά χείρας διδακτορικής διατριβής.

Μια κατηγορία ουσιών οι οποίες μπορούν να εισάγουν διαφοροποίηση στα φυσιολογικά αρχέγονα κύτταρα, όπως επίσης και στα κακοήθη νεοπλασματικά είναι τα ρετινοειδή, μέσα στα οποία εντάσσεται η ρετινόλη (βιταμίνη Α), το 13 - *trans* - ρετινοϊκό οξύ, το 13 - *cis* - ρετινοϊκό οξύ, καθώς και τα ποικίλα τους παράγωγα (Laura A. Hansen et al 2000. Gudas Lorraine J., and John A. Wagner, 2011. Ricard Sol and Guim Agud'e-Gorgori. Wenbo Zhu and Guangmei Yan, 2011. Huang, M. et al, 1998. Xiong Jin, et al 2017.)

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή έγινε μια ερευνητική προσπάθεια επί των εξής αξόνων:

1^{ον}) Κατ' αρχάς επιδιώξαμε να μελετήσουμε την δράση δύο ουσιών στην διαφοροποίηση λευχαιμικών κυττάρων της σειράς K562 και συγκεκριμένα του 13 - *cis* - ρετινοϊκού οξέος και της ορμόνης ερυθροποιητίνης (σε ανασυνδυασμένη μορφή) χρησιμοποιώντας διάφορες συγκεντρώσεις της πρώτης και της δεύτερης σε δύο διαφορετικές σειρές πειραμάτων.

2^{ον}) Χρησιμοποιήσαμε μια μέθοδο λήψης συχνοτήτων συντονισμού του μορίου του 13 - *cis* - ρετινοϊκού οξέος και του μορίου της ερυθροποιητίνης και εν συνεχεία με βάση τις εν λόγω συχνότητες διαμορφώσαμε ηλεκτρομαγνητικά πεδία τα οποία εκπέψαμε, με στόχους τα καλλιεργούμενα κύτταρα K562, προκειμένου να δούμε αν τα συγκεκριμένα ηλεκτρομαγνητικά πεδία μιμούνται τις δράσεις των ουσιών αυτών.

3^{ον}) Πραγματοποιήσαμε πειράματα στα οποία χρησιμοποιήσαμε ταυτοχρόνως την χορήγηση στα κύτταρα K562 κάθε μιας ξεχωριστά των δύο ουσιών που προαναφέραμε και την έκθεση των εν λόγω κυττάρων στις συχνότητες συντονισμού της αντίστοιχης ουσίας, για να διαπιστώσουμε αν υπάρχει κάποια προσθετική, συνεργική ή και ανταγωνιστική δράση.

4^{ον}) Χρησιμοποιήσαμε δύο κακοήθεις νεοπλασματικές σειρές κυττάρων καρκίνου της μήτρας και συγκεκριμένα την σειρά HeLa και την σειρά HeLa si RNA HSP-70 η οποία

δεν εκφράζει την πρωτεΐνη 70 του θερμικού σοκ προκειμένου να μελετήσουμε τις δράσεις μιας σειράς ηλεκτρομαγνητικών πεδίων συχνοτήτων συντονισμού της πρωτεΐνης 70 του θερμικού σοκ στην βιωσιμότητα των δύο αυτών κυτταρικών σειρών κατόπιν θερμικού σοκ.

Από τα γενόμενα πειράματα είδαμε μια σειρά από επαναλήψιμα φαινόμενα τα οποία συνοψίζονται ως εξής:

1^{ov}) Το 13 - cis - ρετινοϊκό οξύ εισάγει ισχυρές διαφοροποιητικές δράσεις στην λευχαιμική σειρά K562, με τρόπο δόσοεξαρτώμενο και μη αντιστρεπτό.

2^{ov}) Η χορήγηση 13 - cis - ρετινοϊκού οξέος και η ταυτόχρονη έκθεση των κυττάρων K562 στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία συντονισμού της εν λόγω ουσίας επίσης εισάγουν διαφοροποιητικές δράσεις, συνοδευόμενες από μείωση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού στην συγκεκριμένη κακοήγη κυτταρική σειρά.

3^{ov}) Η έκθεση των κυττάρων K562 στις συχνότητες συντονισμού του 13 - cis - ρετινοϊκού οξέος επιφέρει σαφή μείωση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, αλλά δεν φαίνεται να εισάγει σαφείς ενδείξεις κυτταρικής διαφοροποίησης.

4^{ov}) Η χορήγηση διαδοχικά αυξανόμενων ποσοτήτων ερυθροποιητίνης στις καλλιέργειες των κυττάρων K562 επιφέρει δόσοεξαρτώμενη μείωση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, όπως επίσης φαίνεται να εισάγει κάποιου βαθμού διαφοροποίηση καθώς στο κυτταρόπλασμα των εν λόγω κυττάρων ανιχνεύονται ποσότητες αιμοσφαιρίνης.

5^{ov}) Η ταυτόχρονη χορήγηση ερυθροποιητίνης και έκθεση των κυττάρων K562 δείχνει μια μείωση του πολλαπλασιασμού των κυττάρων, ως προς τους ελέγχους και εισαγωγή διαφοροποίησης σε λίγα κύτταρα στο εσωτερικό των τρυβλίων.

Σε ό,τι αφορά την περίπτωση των πειραμάτων με τις κυτταρικές σειρές HeLa αγρίου τύπου και την σειρά HeLa si RNA HSP-70 διαπιστώσαμε τα εξής:

1^{ov}) Τα κύτταρα HeLa αγρίου τύπου που έχουν την ικανότητα να επάγουν την πρωτεΐνη HSP-70 ανθίστανται αποτελεσματικά στην έκθεσή τους σε ήπιο θερμικό σοκ.

2^{ov}) Τα κύτταρα της σειράς HeLa si RNA HSP-70 παρουσιάζουν ολικό θάνατο μετά από την έκθεσή τους στο ίδιας θερμοκρασίας και χρονικής διάρκειας θερμικό σοκ.

3^{ον}) Τα κύτταρα της σειράς HeLa όταν εκτίθενται σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία τυχαίων συχνοτήτων παρουσιάζουν κατόπιν μια μείωση του πολλαπλασιαστικού τους ρυθμού, ο οποίος τείνει να εισέλθει σε εκθετική φάση ανάπτυξης με στατιστικώς σημαντική καθυστέρηση εν σχέσει με τους ελέγχους κυττάρων HeLa τα οποία αναπτύσσονται χωρίς έκθεση σε οιοδήποτε ΗΜΠ. Η ικανότητα των εκτεθέντων σε ΗΜΠ κυττάρων να περνούν με επιτυχία την δοκιμασία της θερμικής καταπόνησης δεν μεταβάλλεται επίσης από την έκθεση στα ΗΜΠ.

4^{ον}) Ο ρυθμός πολλαπλασιασμού των κυττάρων HeLa si RNA HSP-70 είναι μικρότερος από τον ρυθμό πολλαπλασιασμού των HeLa κυττάρων αγρίου τύπου, καθόσον η μη εκφραζόμενη πρωτεΐνη HSP-70 δεν ασκεί τις συνολικά προστατευτικές δράσεις της στα στερούμενα αυτήν κύτταρα HSP-70

5^{ον}) Όταν τα κύτταρα HeLa si RNA HSP-70 - τα μη εκφράζοντα την πρωτεΐνη του θερμικού σοκ HSP-70 - εκτεθούν επί διαφορετικούς χρόνους σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία διαμορφωμένα σύμφωνα με τις συχνότητες συντονισμού της πρωτεΐνης HSP-70 τότε όταν υποστούν θερμικό σοκ ήπιας έντασης (43 °C, διάρκεια 30 min) παρατηρούμε ότι ανέχονται καλά την θερμική καταπόνηση, δεν αποθνήσκουν μαζικά και πολλαπλασιάζονται με αρχικώς βραδύτερο ρυθμό, εν σχέσει προς τους ελέγχους. Ο ρυθμός πολλαπλασιασμού των εν λόγω κυττάρων κατόπιν επιταχύνεται για να εισέλθει σε σύντομο χρονικό διάστημα σε εκθετική φάση. Το φαινόμενο αυτό δείχνει να έχει δοσοεξαρτώμενη συσχέτιση ως προς την χρονική διάρκεια της έκθεσης στα πεδία συχνοτήτων συντονισμού της HSP-70, καθώς ο διπλασιασμός του χρόνου έκθεσης (2x30 min) των κυττάρων HeLa si RNA HSP-70 δίνει την μεγαλύτερη βιωσιμότητα, μεγαλύτερο ρυθμό πολλαπλασιασμού και ταχύτερη χρονικά είσοδο στην φάση εκθετικής ανάπτυξης. Μπορεί όμως η παρατηρηθείσα καλύτερη αντοχή στο θερμικό σοκ να προκαλείται με μια άριστη χρονική έκθεση (2x30 min), καθόσον ο τριπλασιασμός του χρόνου έκθεσης (3x30 min) δείχνει στατιστικά σημαντική μικρότερη αντοχή (p,0,05) και ικανότητα ανάπτυξης αποικιών, εν σχέσει προς τα κύτταρα της έκθεσης επί χρόνο 2x30 min. Τα πειράματα αυτά επαναλήφθηκαν επί πολλές φορές (>6 επαναλήψεων) σε μεγάλο αριθμό τρυβλίων, ώστε στατιστικά να έχουν στερεά βάση.

6^{ον}) Τα φαινόμενα αυτά δεν βασίζονται σε άρση του αποκλεισμού έκφρασης με si RNA του γονιδίου που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη HSP-70, εκ μέρους της δράσης των ΗΜΠ των συχνοτήτων συντονισμού της εν λόγω πρωτεΐνης, καθόσον τα κύτταρα HeLa

si RNA HSP-70 που εκτέθηκαν στα εν λόγω πεδία εξακολουθούν να μην εκφράζουν την συγκεκριμένη προστατευτική πρωτεΐνη, πράγμα το οποίο αποδείχτηκε μέσω αποτυπώματος κατά Western.

7^{ov}) Η ικανότητα διατήρησης της ιδιότητας των κυττάρων HeLa si RNA HSP-70 που εκτέθηκαν στα ΗΜΠ πεδία συχνοτήτων συντονισμού της HSP-70 δεν μεταδίδεται συνεπώς γενετικά, καθόσον η πρωτεΐνη συνεχίζει να μην εκφράζεται, αλλά άλλος μηχανισμός αποτυπώνει τα κύτταρα την δράση της. Η δράση αυτή δεν είναι μόνιμη στον χρόνο, αλλά βαίνει μειούμενη σε διαδοχικές ανακαλλιέργειες των εν λόγω κυττάρων και στην έβδομη γενεά εξαλείφεται απολύτως, οπότε τα κύτταρα HeLa si RNA HSP-70 απολύουν την ανθεκτικότητα στην θερμική καταπόνηση επιστρέφοντας στην αρχική τους ευπάθεια.

Επίσης στην εργασία μας έγινε προσπάθεια χρήσης ηλεκτρομαγνητικών πεδίων στην αύξηση του αιματοκρίτη, της αιμοσφαιρίνης και του αριθμού των ερυθροκυττάρων επιμύων Wistar που είχαν καταστεί αναιμικοί μέσω της χορήγησης φαρμακευτικών ουσιών που προκαλούν αναιμία. Τα δεδομένα δείχνουν ότι τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία που έχουν διαμορφωθεί σύμφωνα με τις συχνότητες συντονισμού της ερυθροποιητίνης αυξάνουν σημαντικά τον αιματοκρίτη, την αιμοσφαιρίνη και τον αριθμό των ερυθροκυττάρων των αναιμικών πειραματοζώων, ενώ τα πεδία που εμφανίζουν τυχαίες συχνότητες δεν έχουν καμιά δράση στην διόρθωση της αναιμίας. Τέλος η μέγιστη δράση για την θεραπεία της φαρμακευτικής αναιμίας επιτυγχάνεται με την χρήση τόσο ηλεκτρομαγνητικών πεδίων συντονισμού της EPO, όσο και με την παράλληλη χορήγηση συμπληρωμάτων σιδήρου, φυλλικού και ασκορβικού οξέος, καθώς και EPO.

Οι παρατηρήσεις αυτές δίνουν μια διαφορετική διάσταση στην αλληλεπίδραση των ΗΜΠ με την ζώσα ύλη. Η διάσταση αυτή έχει αρχίσει να γίνεται σταδιακά γνωστή από πειράματα που έγιναν στο Γαλλικό Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών (INSERM) στο Παρίσι την δεκαετία του 1980 εκ μέρους του Jacques Benveniste και της επιστημονικής του ομάδας (Benveniste, J, et al. *FASEB Journal*. **13** (4): A163. Dayenas E, et al 1988. J. Maddox, et al 1988. J. Benveniste (28 July 1988. Beauvais, Francis, 2008. Benveniste, J, et al 1997. Thomas, Y et al 2000). Ο διαξιφισμός που έλαβε χώρα μεταξύ του Benveniste και των επικριτών του διαμόρφωσε ένα κλίμα που έλαβε διαστάσεις εκ μέρους διαφόρων επικριτών το οποίο δεν είχε πλέον σχέση με επιστήμη, αλλά περισσότερο με επιθετική

εμπάθεια και μάλιστα σε επίπεδο λεκτικής κακοποίησης και φθόνου απέναντι στην άποψη ενός επιστήμονα που είχε πολύ υψηλό κύρος στην διεθνή επιστημονική κοινότητα και μεγάλη αναγνώριση. Η επιθετική αυτή εμπάθεια δεν μπορούσε να δικαιολογηθεί από λάθη μεθοδολογίας σοβαρά ή ακόμη από τα νέα πειραματικά δεδομένων καθόσον οι διαφορές αυτών ήσαν οριακές σε στατιστική σημαντικότητα, εν σχέσει με τα δεδομένα της ομάδας Benveniste. Φαινόταν δε ότι η όλη σύγκρουση είχε ως κύριο σκοπό να οδηγήσει στην μη νομιμοποίηση της ομοιοπαθητικής σκέψης και πράξης, η οποία θα μπορούσε να προέλθει από την πειραματική εργασία του Benveniste, που ωστόσο δεν είχε διεξαχθεί με αυτόν το σκοπό. Π.χ πολύ χαρακτηριστικό του κλίματος το οποίο είχε επικρατήσει εκ μέρους των ελεγκτών του περιοδικού Nature ήταν το να χρησιμοποιηθεί μέσα στην ομάδα που ήλεγχε τα πειράματα στο εργαστήριο του Benveniste ακόμη και ένας ταχυδακτυλουργός, πράγμα που έδειξε πολύ μεγάλη απαξίωση και γελοιοποίηση όχι του συγγραφέα αλλά του ίδιου του περιοδικού, που διεξήλθε αυτών των μη επιστημονικών μέσων [Benveniste (28 July 1988). "Dr Jacques Benveniste replies"].

Ο Έλληνας ομοιοπαθητικός Γεώργιος Βυθούλκας, ως ένας από τους μεγαλύτερους σύγχρονους εισηγητές της ομοιοπαθητικής, διαχώρισε την στάση του από τις ιδέες του Benveniste υποστηρίζοντας ότι η Ομοιοπαθητική δεν ερμηνεύεται από τα πειράματα του εν λόγω επιστήμονα (George Vithoulkas. 2017)

Παρά το γεγονός ότι η εργασία του Benveniste, που δημοσιεύτηκε στο Nature, υπέστη μια δριμύτατη κριτική, καθόσον φαινόταν να δίνει μια πειραματική απόδειξη ότι το ύδωρ παρουσιάζει μια φυσικοχημεία η οποία μπορεί να κρατά μέσα στην δομή των υδατικών σωμάτων ένα αποτύπωμα ιδιοτήτων χημικών ουσιών, ακόμη και απουσία αυτών, εν τούτοις και άλλοι επιστήμονες στάθηκαν φιλικά απέναντι σε αυτήν την άποψη και συνέχισαν να την μελετούν (Belon P, et al, 1999. Rey L. 2003. P. Belon, et al, 2004. Romana Ruzic, et al 2008. Laritza F de Lima, et al 2017. Laritza Ferreira de Lima, 2013. Endler PC, et al., 1995.). Μέσα στο σύνολο των απόψεων οι:

Ο πλέον επιφανής εξ αυτών είναι ο Γάλλος ερευνητής Luc Montagnier ο οποίος ανακάλυψε τον ιό HIV που προκαλεί το σύνδρομο της επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας (AIDS) το 1983 και τιμήθηκε με το βραβείο Νόμπελ το 2008 για την εν λόγω ανακάλυψη.

Ο Montagnier υιοθέτησε και εμβάθυνε τις μελέτες του Benveniste αποδεικνύοντας ότι σε πάρα πολύ αραιά διαλύματα περιέχοντα ελάχιστα μόρια δομών ιών, βακτηρίων και γενικά νανοσωματιδίων, τα εξαιρετικά ασθενή ηλεκτρομαγνητικά πεδία τα οποία προέρχονται από τα εν λόγω μόρια και νανοσωματίδια, στα οποία συμπεριλαμβάνονται υπολείμματα πρωτεϊνών και DNA, είναι δυνατόν να ενεργοποιήσουν την DNA πολυμεράση και να την αναγκάσουν να δημιουργήσει DNA (L Montagnier, et al 2011. L Montagnier, et al 2007. L Montagnier, 2009. Montagnier, L, 2009. Patent [International Patent] 2012).

Ο Montagnier και οι συνεργάτες του υποστηρίζουν ότι τα ασθενή αυτά ηλεκτρομαγνητικά πεδία έχουν την ιδιότητα να οργανώνουν το ύδωρ σε υμένα και εν γένει τρισδιάστατες δομές, οι οποίες κατόπιν είναι σε θέση να ενεργοποιήσουν το ένζυμο αυτό και να πυροδοτήσουν μια αλυσιδωτή αντίδραση της DNA πολυμεράσης (Montagnier, et al 2011. L Montagnier, et al 2007. L Montagnier, 2009. Montagnier, L, 2009). Ωστόσο ο Luc Montagnier και οι συνεργάτες του υποστηρίζουν ότι τα φαινόμενα αυτά που δημιουργούνται υπό εργαστηριακές ελεγχόμενες συνθήκες πρέπει να συμβαίνουν και σε όλα τα ζωντανά κύτταρα κάθε έμβιου όντος (Montagnier, et al 2011. L Montagnier, et al 2007. L Montagnier, 2009. Montagnier, L, 2009).

Απόψεις αυτής της κατεύθυνσης εξέφρασε επίσης τις δεκαετίες του 70 και του 80 ο φυσικοχημικός Γερμανός Manfred Eigen (βραβείο Νόμπελ Χημείας 1967), ο οποίος είχε προτείνει την υπόθεση του υπερκύκλου για την αυτόματη γέννηση της ζωής μέσα από τις φυσικοχημικές ιδιότητες των υδατικών διαλυμάτων οργανικών μορίων, αλλά και την απόδειξη ότι η φυσική επιλογή, όπως και η ομοιοστασία ξεκινούσε ήδη από την αυθόρμητη δημιουργία σταθερών μορφών RNA που μπορούσαν να αυτοαναπαραχθούν (Eigen & Schuster, 1977. Eigen & Schuster, 1978).

Υπάρχει γενικά ένας πολύ μεγάλος αριθμός εργασιών διαρκώς αυξανόμενος, ο οποίος δείχνει ότι τα ΗΜΠ είναι σε θέση να αλληλεπιδράσουν με τα ζωντανά συστήματα με τρόπους τόσο θετικούς, όσο και αρνητικούς και ότι η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, ακόμη και των πολύ χαμηλών συχνοτήτων είναι σε θέση να δημιουργήσει πολλά φαινόμενα σε κάθε ζωντανό σύστημα, ξεκινώντας από τα βιομόρια και τα κύτταρα και φθάνοντας μέχρι τα μεγάλα οικοσυστήματα (Aaron RK, Ciombor DM, 1993. Aitken RJ, 2005. Ames BN, 1989. Athanasiou A, et al, 2007. Avdikos A, et al, 2007. Bassett CA, 1982. Blank M, Soo L, 2003. Blank M, Goodman R, 2008. Brown WH, 2009. Buttiglione M, et al 2007. Chow K, Tung WL, 2000. Cookson MR, et al 1998. Delimaris J, et al 2006.

Diem E, et al. 2005. Drake S, et al, 1999. Einhorn N, et al., 2003. Wang, R., et al, 2015. Erogul O, et al, 2006. Fesenko EE, et al, 1999. Forgacs Z, et al, 2006. Friedman J, et al, 2007. Frova A and Marenzana M, 2006. Gandhi G, Anita, 2005. Gatta L, et al, 2003. Gobba F, et al, 2009. Grace KL, et al, 1998. Graham RB, 1998. Greenland S, et al, 2000. Han L, et al., 1998. Hardell L, et al, 1999. Hardell L, Carlberg M, Mild KH, 2005. Hart RW, Setlow RB, 1974. Helleday T, et al., 2007. Hansen Laura A. et al, 2000. Hook GJ, et al, 2000. Iconomidou VA, et al, 2004. Islamov BI, et al, 2002. Ivancsits S, et al, 2002. Ivancsits S, et al, 2005. Jajte J, et al, 2001. Johansson O, 2009. Karabakhtsian R, et al, 1994. Karabetsos E, 2000. Keeler J, 2005. Kheifets LI, et al 1995. Lai H, Singh NP, 1995. Lai H, et al, 1997. Lai H, Singh NP, 2004. Lai H, Singh NP, 2005. Lantow M, et al, 2006. Leszczynski D, et al 2002. Li H, et al, 2008. Li L, et al, 2001. Liburdy RP, 1992. Lieber MR, 1998. Liu Y, 2008. London SJ, et al, 1999. Lonn S, et al, 2004. Malyapa RS, et al, 1997. Malyapa RS, et al, 1998. Markova E, et al, 2005. McNamee JP, et al, 2003. Minami K, et al, 2009. Nikolova T, et al, 2005. Oktem F, et al, 2005. Oral B, et al, 2006. Oral B, et al, 2006. Oral B, et al, 2005. Ozguner M, et al 2005. Ozguner F, et al, 2006. Paul M and Monk S, 2004. Phillips JL, et al, 1998. Phillips JL, et al, 2009. Prigent P, et al, 1993. Prigent P, et al, 1992. Repacholi MH, et al, 1999. Rey L. 2003. Robison JG, et al, 2003. Roti JL, et al, 2001. Sakuma N, et al, 2006. Sarkar S, et al, 1994. Schindowski K, et al, 2000. Schmitz C, et al, 2004. Simko M, et al, 2001. Simko M, 2007. Stronati L, et al, 2004. Stronati L, et al, 2004. Sun LX, et al, 2006. Tao Q, et al, 1999. Thomas Y, et al, 1999. Tice RR, et al, 2002. Tofani S, et al, 2001. Tofani S, et al, 2002. Tuschl H et al, 2006. Verschaeve L, et al, 2006. Vijayalaxmi BZ, et al, 2001. Walker JL et al 1994. Walleczek J, 1992. Rong Wang, et al, 2019. Wang, R., et al, 2015. Ward JF, 1990. Wei Y, 2008. Weinberg S, 1995. Winker R, et al, 2005. Wolf FI, et al, 2005. Yariktas M, et al, 2005. Yolène Thomas, 2007. Yokus B, et al, 2005. Zeni O, et al, 2005. Zhang DY, et al, 2006. Zmyslony M, et al, 2000.

Τα δεδομένα που προκύπτουν από τα πειράματά μας και κυρίως αυτά τα οποία σχετίζονται με την μετάδοση των πληροφορικών – λειτουργικών ιδιοτήτων της πρωτεΐνης 70 του θερμικού σοκ, φαίνεται ότι ακολουθούν ένα φυσικοχημικό πρότυπο το οποίο μπορεί να υπεισέρχεται στο γενικό πρότυπο που υποδεικνύει ο Luc Montagnier οι συνεργάτες του, όπως ήδη προαναφέρθηκε ((L Montagnier, et al 2011. L Montagnier, et al 2007. L Montagnier, 2009. Montagnier, L, 2009. Montagnier, et al 2011. L Montagnier, et al 2007. L Montagnier, 2009).

Είναι βασική αρχή της πληροφορικής βασιζόμενη στους νόμους της φυσικοχημείας – και ειδικότερα στις συνέπειες του δεύτερου νόμου της θερμοδυναμικής – ότι η μεταφορά πληροφορίας πρέπει αναγκαστικά να γίνεται από έναν φορέα συχνά ανυσματικό (Vector)(Hooman Javaheri et al 2012. Rezaeia Navid, et al, 2013. Burnei G., et al 2012. Marko Markov. 2006. Arthur A. Pilla, and Marko S. Markov, 1994. Arthur A. Pilla.1974. Alberto Foletti, 2017). Ο φορέας αυτός φαίνεται να αντιπροσωπεύεται με γενικό τρόπο από τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία, σε ό,τι αφορά την μη νευρωνική διάδοση βιολογικής πληροφορίας. Ωστόσο αν μελετήσουμε αναλυτικότερα τα φαινόμενα της διέγερσης των κυτταρικών μεμβρανών στα ζώα, συμπεριλαμβανομένου και του Ανθρώπου φαίνεται ότι η μετακίνηση φορτίων που οδηγεί σε αλλαγή της μεμβρανικής πολικότητας και συνακόλουθη διέγερση των κυττάρων είναι τελικά ένα φαινόμενο δράσης του ηλεκτρομαγνητικού πεδίου (Hooman Javaheri et al 2012. Rezaeia Navid, et al, 2013. Burnei G., et al 2012. Marko Markov. 2006. Arthur A. Pilla, and Marko S. Markov, 1994. Arthur A. Pilla.1974. Alberto Foletti, 2017). Το ίδιο φαίνεται να ισχύει επίσης και για τις ηλεκτροτονικού τύπου μεταβολές, οι οποίες προετοιμάζουν τα κύτταρα για πυροδότηση δυναμικών δράσης με σκοπό την διέγερσή τους και την ενεργοποίηση των λειτουργιών τους (Brenner D., et al, 1977.)

Φαίνεται ότι μέσα σε κάθε έμβιο όν υπάρχει δομημένος ένας ολοκληρωμένος μηχανισμός ο οποίος δημιουργεί την σημαντική λειτουργία της ηλεκτρομαγνητικής ομοιοστασίας (Antonella De Ninno & Massimo Pregnotato, 2016.).

Ένα πολύ σημαντικό σύστημα στο οποίο τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία ασκούν σπουδαίο ρόλο είναι το Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ), το οποίο με την σειρά του μπορεί να επηρεάσει άμεσα όλη τη λειτουργία του οργανισμού (Ju Hwan Kim al, 2019). Σημαντικό δεδομένο που έχει προκύψει από μια επιμελή έρευνα πάνω στην φύση του νευρολογικού φαινομένου της μνήμης είναι ότι γενικά η συνείδηση του εαυτού και του κόσμου σχετίζεται άμεσα με την μνήμη ενώ φαίνεται ότι η τελευταία μπορεί να επηρεαστεί σημαντικά από την έκθεση του υποκειμένου σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία (Johnjoe McFadden, 2002. M. A. M. Banaclocha, 2002). Επίσης είναι αξιόλογο να σημειωθεί ότι η τα φαινόμενα αυθόρμητης ηλεκτρομαγνητικής επαγωγής ενεργοποιούν διαδικασίες δημιουργίας νευρωνικών κυκλωμάτων μέσω μιας διαδικασίας αυτοοργάνωσης, η οποία είναι λιτή βιολογικά και προκαλεί μια αύξηση των ικανοτήτων της συνολικής δομής να αποταμιεύει και να διαχειρίζεται νευρωνικές πληροφορίες (Rong Wang et al. 2019) Είναι

πολύ σημαντικό να αναφερθεί ότι τα τεχνητά ηλεκτρομαγνητικά πεδία εμφανίζουν αξιόλογες διαφορές ως προς εκείνα τα οποία παράγονται από τους βιολογικούς οργανισμούς, κατά την διάρκεια των κύκλων διέγερσης κι αποδιέγερσης των κυττάρων (Dimitris J. Panagopoulos, et al, 2015).

Στους ηλεκτρονικούς υπολογιστές η μνήμη και ο προγραμματισμός δεν έχουν ιδιαίτερη σχέση με την βιολογική μνήμη (Dimitris J. Panagopoulos, et al, 2015). Είναι προφανές ότι στους ηλεκτρονικούς υπολογιστές ο φορέας δημιουργεί μέσω ηλεκτρομαγνητικών πεδίων μικροδιαφορές στα μαγνητικούς δίσκους εγγραφής και γενικότερα στα μέσα εγγραφής των υπολογιστικών πληροφοριών.

Είναι πολύ πιθανόν ότι αυτό μπορεί να συμβαίνει και στις περιπτώσεις των πειραμάτων μας, αλλά χρησιμοποιώντας ως μέσο «τύπωσης» της βιοχημικής πληροφορίας το ύδωρ, με τις πολυποίκιλες φυσικοχημικές του ιδιότητες. Κοινός τόπος κάθε επιστημονικής βιολογικής θεώρησης είναι ότι το νερό είναι απολύτως απαραίτητο για την δημιουργία και την συνέχιση της ύπαρξης κάθε γνωστής μορφής ζωής, οπότε η φυσικοχημεία του και οι αλληλεπιδράσεις με τα ηλεκτρομαγνητικά πεδία πάσης φύσεως πρέπει να διερευνηθούν σε μεγάλο βάθος, καθόσον πέρα από την χημική, ραδιενεργό και θερμική ρύπανση έχει προστεθεί και ένας άλλος τεράστιος παράγοντας ρύπανσης η οποία αντιπροσωπεύεται από την ανεξέλικτη χρήση αναρίθμητων πηγών ηλεκτρομαγνητικών συχνοτήτων, οι οποίες δεν είχαν ποτέ μια τέτοια έκταση σε όλο το παρελθόν της βιολογικής εξέλιξης, παρά μόνον επί των ημερών μας, ενώ αναμένεται ότι η ρύπανση αυτή θα αυξάνεται όλο και περισσότερο. Εδώ είναι φρόνιμο να λάβουμε μέτρα ορθολογικής χρήσης και προστασίας του Ανθρώπου καθώς και του φυσικού περιβάλλοντος της Ζωής.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η πρωτεΐνη οξειάς φάσεως HSP-70 ανήκει σε μία ομάδα πρωτεϊνών με πολλαπλούς ρόλους, ένας από τους οποίους είναι η προστασία του κυττάρου από θερμικά και οξειδωτικά στρες. Είναι εξαιρετικά συντηρημένη και εμφανίζεται σε όλα τα κυτταρικά συστήματα.

Σκοπός του πειράματος και θέμα της παρούσης Διδακτορικής Διατριβής είναι η μελέτη της επίδρασης ηλεκτρομαγνητικών πεδίων συχνοτήτων συντονισμού της εν λόγω πρωτεΐνης επάνω σε ανθρώπινα κύτταρα. Χρησιμοποιήθηκαν δύο κυτταρικές σειρές:

1. Καρκινικά κύτταρα του τραχήλου της μήτρας (HeLa cells), μία καλά χαρακτηρισμένη και πολύ χρησιμοποιημένη κυτταρική σειρά.
2. Γενετικά τροποποιημένα κύτταρα HeLa στα οποία έχει αποσιωπηθεί το γονίδιο της πρωτεΐνης οξειάς φάσεως HSP-70. Τα κύτταρα αυτά αδυνατούν να επιβιώσουν κάτω από ήπια θερμικά και οξειδωτικά στρες.

Οι συχνότητες συντονισμού της HSP-70 ελήφθησαν από απομονωμένη καθαρή πρωτεΐνη με χρήση της πειραματικής συσκευής Multi-Channel Dynamic Exciter. Η ίδια διάταξη χρησιμοποιήθηκε επίσης για την αποθήκευση και εκπομπή των Ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων.

Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε σε γενικές γραμμές είχε ως εξής: Καλλιέργειες των προαναφερθέντων κυτταρικών σειρών σε τρυβλία εκτίθεντο εντός κλωβού Faraday στα καταγεγραμμένα ηλεκτρομαγνητικά κύματα για προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα. Μετά από κάθε έκθεση ακολουθούσε επώαση των κυττάρων για 24 ώρες. Μετά το πέρας των επιθυμητών σε κάθε περίπτωση εκθέσεων πραγματοποιούνταν ένα ήπιο θερμικό σοκ, 43°C για μία ώρα, με χρήση υδατόλουτρου. Εν συνεχεία οι καλλιέργειες επιστρέφονταν στην επώαση για 24 ώρες.

Για τη μελέτη της επίδρασης των ηλεκτρομαγνητικών πεδίων στις στρεσαρισμένες καλλιέργειες ελήφθησαν μετρήσεις ανάπτυξης των επεξεργασμένων κυττάρων για διάστημα 6 ημερών καθώς και στατιστικές μετρήσεις ικανότητας σχηματισμού αποικίας. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκαν αποτυπώματα κατά Western ούτως ώστε να επιβεβαιωθεί η παραγωγή ή μη της πρωτεΐνης οξειάς φάσεως HSP-70 στα γενετικά τροποποιημένα κύτταρα που ανέκτησαν την ικανότητα επιβίωσης.

Επίσης στην μελέτη μας έγινε διερεύνηση της διαφοροποιητικής δράσης διαφόρων παραγόντων επί της κυτταρικής σειράς K562. Συγκεκριμένα μελετήθηκαν το 13-cis retinoic acid ως εκπρόσωπος των ρετινοειδών η ανθρώπινη ανασυνδυασμένη ερυθροποιητίνη. Παράλληλα ελήφθησαν τα ηλεκτρομαγνητικά φάσματα συντονισμού (στο φάσμα χαμηλών συχνοτήτων) των δύο πρώτων και εξετάστηκε η δυνατότητα αύξησης της δράσης τους υπό ταυτόχρονη έκθεση των κυττάρων K562 στα φάσματα αυτά (φαινόμενο Bohm - Aharonov). Επιπλέον ελέγχθηκε η δυνατότητα διαφοροποίησης των εν λόγω κυττάρων με χρήση μόνο των ηλεκτρομαγνητικών πεδίων φασμάτων συντονισμού, χρησιμοποιώντας ως αρνητικό έλεγχο ένα τυχαίο φάσμα συχνοτήτων. Η έκθεση των K562 στα φάσματα συντονισμού του ρετινοϊκού και της ερυθροποιητίνης έδωσε αποτελέσματα παρόμοια με αυτά των παραπάνω ουσιών.

Τα αποτελέσματα παρίστανται δια της μορφής καμπυλών ρυθμού ανάπτυξης των κυττάρων, όπου καταγράφεται σημαντική μείωση του ρυθμού ανάπτυξης σε όλες τις περιπτώσεις.

Επιπλέον παρατηρήθηκε αλλαγή του χρωματισμού των κυττάρων και ειδικότερα στην περίπτωση χορήγησης αιμίνης, όπου το κυτταρικό ίζημα μετά από φυγοκέντρηση λαμβάνει ερυθρά χρώση υποδεικνύοντας την ύπαρξη αιμοσφαιρίνης. Επίσης, οι ποσότητες της παραγόμενης αιμοσφαιρίνης μετρούνται με έμμεσο φωτομετρικό προσδιορισμό και εξειδικευμένη χρώση.

Η μελέτη πραγματοποιείται με χρωματομετρική μέθοδο (colorimetric assay) η οποία βασίζεται στο ότι η λειτουργία ψευδοϋπεροξειδάσης της αιμοσφαιρίνης οξειδώνει το 2,7-διαμινοφθορένιο προς κυανό του φθορενίου, το οποίο εύκολα φωτομετρείται καθώς απορροφά σε σχετικά ευρύ φάσμα αλλά με κορύφωση στα 610 nm. Οι ληφθείσες απορροφήσεις θα συσχετισθούν με συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης στα δείγματα χρησιμοποιώντας πρότυπη καμπύλη απορρόφησης κατασκευασμένη με χρήση διαλυμάτων καθαρής ανθρώπινης αιμοσφαιρίνης.

Τα *in vivo* πειράματα στα οποία έξι ομάδες επιμύων Wistar κατέστησαν αναιμικές με φαρμακολογικό – τοξικολογικό τρόπο έδειξαν επίσης ότι οι αναιμικοί επίμυες που εκτίθενται σε ηλεκτρομαγνητικά πεδία διαμορφωμένα σύμφωνα με τα φάσματα συντονισμού της ερυθροποιητίνης διορθώνουν την αναιμία, ως προς τα ζώα έλεγχο. Οι δράσεις των πεδίων είναι ισχυρότερες όταν στα ζώα χορηγούνται συμπληρώματα σιδήρου, φυλλικού οξέος και ασκορβικού οξέος. Εκτός από τις έξι αυτές ομάδες υπήρξε και μια

έβδομη ομάδα ελέγχου των ελέγχων η οποία αφέθηκε ελεύθερη από παρεμβάσεις. Τέλος οι δράσεις των ηλεκτρομαγνητικών πεδίων φαίνεται να συνεργούν με την δράση χορηγούμενης ερυθροποιητίνης ενδοπεριτοναϊκά καθώς και χορήγηση σιδήρου, φυλλικού οξέος και ασκορβικού οξέος. Συνεπώς στην παρούσα διατριβή διαπιστώνουμε πολλαπλές δράσεις των ηλεκτρομαγνητικών πεδίων σε επίπεδο *in vitro* και *in vivo*. Τα δεδομένα αυτά είναι αξιόλογα και χρήζουν μεγαλύτερης και λεπτομερέστερης διερεύνησης σε μοριακό επίπεδο προκειμένου να διαπιστωθεί αν υπάρχει έκφραση γονιδίων ή άλλα φαινόμενα σχετιζόμενα με την πρωτεϊνική σύνθεση.

SUMMARY

The acute phase protein HSP-70 belongs to a group of proteins with multifunctional roles, one of which is to protect the cell from thermal and oxidative stress. It is a highly conservative structure and it occurs in all cellular systems.

The present Dissertation is aiming at studying the effect of electromagnetic resonance frequency fields of this protein on human cells. Two cell lines were used:

1. Cervical cancer cells (HeLa cells), a well-characterized and widely used cell line.
2. Genetically modified HeLa cells, in which the HSP-70 acute phase protein gene has been silenced. These types of cells are unable to survive under mild thermal and oxidative stress.

The resonant frequencies of HSP-70 were obtained from isolated pure protein using the experimental device Multi Chanel Dynamic Exciter. The same device was also used in order to store and emit the electromagnetic waves.

The methodology followed is described briefly at the followings: plates with cell cultures of the aforementioned cell lines were exposed, in a Faraday cage, under the emission of specific, recorded electromagnetic waves at predetermined intervals. Each exposure was followed by the incubation of the cells for 24 hours. After the completion of the desired exposures in each case, a mild thermal shock, 43 °C for one hour, was performed, by means of a water bath. The cultures were then returned to incubation for 24 hours.

To study the effect of electromagnetic fields on the stressed cultures, cell growth measurements were taken and monitored for 6 days, as well as statistical measurements of colony formation capacity were also estimated. In addition, Western blots were performed to confirm whether or not the acute phase HSP-70 protein was produced in the genetically modified cells that had regained viability.

In our study, the differentiating activity of various factors on the K562 cell line was also investigated. More specifically, the 13-cis retinoic acid as a representative of retinoids, the human recombinant erythropoietin and the amine were studied. Moreover, the electromagnetic resonance spectra (in the low frequency spectrum) of 13-cis retinoic acid and erythropoietin were obtained and the possibility of increasing their activity under

simultaneous exposure of K562 cells in these spectra (Bohm-Aharonov effect) was examined. In addition, the possibility for differentiation of these cells was tested using only the electromagnetic fields of the resonant spectra, using as a negative control (blank) a random frequency spectrum. The exposure of K562 cell line to the retinoic and erythropoietin resonant spectra yielded results similar to those of the above substances.

The results are presented by the cell growth rate curves, where a significant decrease in growth rate is recorded in all cases. In addition, a change in the color of the cells was observed, especially in the case of hemin administration, where the cell sediment after centrifugation receives a red staining, indicating the presence of hemoglobin. The amounts of hemoglobin produced are also measured by indirect photometric determination and specialized staining. The study is performed by the colorimetric assay, which is because the function of hemoglobin pseudoperoxidase oxidizes 2,7-diaminofluorescent to fluorescent cyanide, which is easily measured and recorded as it absorbs in a relatively wide range but peaks at 610 nm. The absorbents obtained will be correlated with hemoglobin's concentration in the samples using a standard absorption curve constructed using pure human hemoglobin solutions.

The *in vivo* experiments, in which six groups (and one control of controls group) of Wistar rats became anemic after the administration of pharmacological and toxicological protocol, also showed that anemic rats exposed to electromagnetic fields formed according to the erythropoietin resonance spectra corrected their anemia in comparison to the control animals. Electromagnetic fields' effects are stronger when there is a simultaneously administration of iron, folic acid and ascorbic acid supplements. Finally, the actions of the electromagnetic fields seem to act synergistically to the erythropoietin's action when it is administered intraperitoneally, as well as to the administration of iron, folic acid and ascorbic acid. Therefore, in the present dissertation, we find multiple effects of electromagnetic fields in vitro and in vivo levels. These data are valuable and require greater and more detailed investigation at the molecular level in order to determine if there is gene expression or other phenomena related to protein synthesis.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΒΙΒΛΙΑ

- 1 John V. Pickstone. *Ways of Knowing: A New History of Science, Technology and Medicine* Paperback – 4 April 2001. Amazon Books
- 2 Thomas S. Kuhn. *The structure of Scientific Revolutions*. 2012, University of Chicago ©, First Edition 1969, ISBN 10: 0 0226- 458148.
- 3 Daniel A. Beard, *Biosimulation. Simulation of Living Systems*, Cambridge University Press.
- 4 Hugh Young, *University Physics, Extended version with Modern Physics*. ©, 1994. Ed Addison-Wesley. ISBN 960-02-1088-8.

Αναφορές δημοσιεύσεων

5. Aaron RK, Ciombor DM, 1993. Therapeutic effects of electromagnetic fields in stimulation of connective tissue repair. *J Cell Biochem* 52: 42–46.
6. Airley Rachel (2009). *Cancer chemotherapy*. Wiley-Blackwell. ISBN 978-0-470-09254-5.
7. Aitken RJ, Bennetts LE, Sawyer D et al., 2005. Impact of radio frequency electromagnetic radiation on DNA integrity in the male germline. *Int J Androl* 28: 171-179.
8. Alfarouk KO, Stock CM, Taylor S, Walsh M, Muddathir AK, Verduzco D, et al. (15 July 2015). "Resistance to cancer chemotherapy: failure in drug response from ADME to P-gp". *Cancer Cell International*. **15** (1):71. doi:10.1186/s12935-015-0221-1. PMC 4502609. PMID 26180516.
9. Alnavaz Rehemtulla, Lauren D. Stegman, Shaun J. Cardoso, Sheila Gupta, Daniel E. Hall, Christopher H. Contag and Brian D. Ross. Rapid and quantitative assessment of cancer treatment response using In Vivo Bioluminescence imaging. *Neoplasia* Vol.2, No 6, 2000, 491-495.
10. Ames BN, 1989. Endogenous DNA damage as related to cancer and aging. *Mutat Res* 214: 41–46.

11. Anchordoqui L.; T. Paul; S. Reucroft; J. Swain (2003). "Ultrahigh Energy Cosmic Rays: The state of the art before the Auger Observatory". *International Journal of Modern Physics A*. **18** (13): 2229–2366. doi:10.1142/S0217751X03013879
12. Athanasiou A, Karkambounas S, Batistatou A et al., 2007. The Effect of Pulsed Electromagnetic Fields on Secondary Skin Wound Healing: An Experimental Study. *Bioelectromagnetics* 28: 362-368.
13. Avdikos A, Karkabounas S, Metsios A et al., 2007. Anticancer effects on leiomyosarcoma-bearing Wistar rats after electromagnetic radiation of resonant radiofrequencies. *Hell J Nucl Med* 10: 95.
14. Ayhan Akbal, Hasan H. Balik. Investigation of antibacterial effects of electromagnetic waves emitted by mobile phones. *Pol.J. Environ.Stud.* vol 22, No 6, (2013) 1589-1584.
15. M. A. M. Banaclocha. Are neuronal activity-associated magnetic fields the physical base for memory? *Medical Hypotheses* (2002) 59(5), 555–559.
16. Baoge Qu, Yiguo Jia¹, Yuanxun Liu, Hui Wang, Guangying Ren, Hong Wang¹The detection and role of heat shock protein 70 in various Non disease conditions and disease conditions: a literature review. *Cell Stress and Chaperones* (2015) 20:885–892.DOI 10.1007/s12192-015-0618.
17. Belon P, Cumps J, Ennis M, Mannaioni PF, Sainte-Laudy J, Roberfroid, M et al. Inhibition of human basophil degranulation by successive histamine dilutions: results of a European multi-centre trial. *Inflamm Res* 1999; 48(Suppl 1): S17–8.
18. Belon, P., J. Cumps, M. Ennis, P.F. Mannaioni, M. Roberfroid⁵, J. Sainte-Laudy, F.A.C. Wiegant. Histamine dilutions modulate basophil activation. *Inflamm. res.* 53 (2004) 181–188. 1023-3830/04/050181-08. DOI 10.1007/s00011-003-1242-0
19. J. Benveniste (28 July 1988). "Dr Jacques Benveniste replies" (PDF). *Nature*. **334** (6180):291. Bibcode:1988Natur.334.291B.
20. Benveniste, J; Jurgens, P; Hsueh, W; Aissa, J (January 1997). "Transatlantic Transfer of Digitized Antigen Signal by Telephone Link". *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. **99** (1): S101–S200. doi:10.1016/S0091-6749(97)81064-0.
21. Benveniste, J; Aissa, J; Guillemet, D. "The molecular signal is not functional in the absence of "informed" water". *FASEB Journal*. **13** (4): A163.
22. Bassett CA, 1982. Pulsing electromagnetic fields: a new method to modify cell behavior in calcified and non-calcified tissues. *Calcif Tissue Int* 34:1-8.

23. Daniel A. Beard, *Biosimulation. Simulation of Living Systems*, Cambridge University Press).
24. Berger J (1985). Screening of toxic hemolytic anaemia in laboratory rats: a model of phenylhydrazine-induced haemolysis. *Haematologica* 18: 193-200.
25. Blank M, Soo L, 2003. Electromagnetic acceleration of the Belousov-Zhabotinski reaction. *Bioelectrochemistry* 61: 93–97.
26. Blank M, Goodman R, 2008. A mechanism for stimulation of biosynthesis by electromagnetic fields: charge transfer in DNA and base pair separation. *J Cell Physiol* 214: 20–26.
27. Beauvais, Francis (2008). "Memory of water and blinding". *Homeopathy*. **97** (1):4142. doi:10.1016/j.homp.2007.10.001. PMID 18194766.
28. Brenner D., Kaufman L., Williamson S. J. Squid for monitoring IEEE Application of a magnetic response of the human brain. *Trans Mag* 1977; 13: 365–369.
29. Boscol P, Di Sciascio MB, D'Ostilio S et al., 2001. Effects of electromagnetic fields produced by radiotelevision broadcasting stations on the immune system of women. *Sci Total Environ* 273: 1–10.
30. Brown WH, Foote CS, Iverson BL et al., 2009. Infrared Spectroscopy. In Brown WH, Foote CS, Iverson BL et al., (eds): *Organic*.
31. Burnei G., Hodorogea D., Georgescu I., Gavriliu Ș., Drăghici I., Dan D., Vlad C, Drăghici L. The electromagnetic bio-field: clinical experiments and interferences. *Journal of Medicine and Life* Vol. 5, Issue 2, April-June 2012, pp.139-144.
32. Buttiglione M, Roca L, Montemurno E et al., 2007. Radiofrequency radiation (900 MHz) induces Egr-1 gene expression and affects cell-cycle control in human neuroblastoma cells. *J Cell Physiol* 213: 759-767.
33. Kaestner SA, Sewell GJ (February 2007). "Chemotherapy dosing part I: scientific basis for current practice and use of body surface area"(PDF). *Clinical Oncology*. **19** (1): 23–37. doi:10.1016/j.clon.2006.10.010. hdl:10026.1/3714. PMID 17305252.
34. Chow K, Tung WL, 2000. Magnetic field exposure enhances DNA repair through the induction of DnaK/J synthesis. *FEBS Lett* 478: 133–136.
35. Clerk Maxwell James Clerk Maxwell, "Dynamical Theory of the Electromagnetic Field. A Dynamical Theory of the Electromagnetic Field", *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 155, 459–512 (1865).

36. Cookson MR, Slamon ND, Pentreath VW, 1998. Glutathione modifies the toxicity of triethyltin and trimethyltin in C6 glioma cells. *Arch Toxicol* 72: 197-202.
37. Corrie PG, Pippa G.(2008)."Cytotoxic chemotherapy: clinical aspects". *Medicine*. **36** (1):24–doi:10.1016/j.mpmed.2007.10.012.
38. Dayenas E, Beauvais F, Amara J, Oberbaum M, Robinzon B, Miadonna A, Tedeschit A, Pomeranz B, Fortner P, Belon P, Sainte-Laudy J, Poitevin B, Benveniste J (30 June 1988). "Human basophil degranulation triggered by very dilute antiserum against IgE". *Nature*. **333** (6176):816-818. Bibcode:1988Natur.333.816D. doi:10.1038/333816a0. PMID 2455231.
39. Delimaris J, Tsilimigaki S, Messini-Nicolaki N et al., 2006. Effects of pulsed electric fields on DNA of human lymphocytes. *Cell Biol Toxicol* 22: 409–415.
40. Diem E, Schwarz C, Adlkofer F et al., 2005. Non-thermal DNA breakage by mobile-phone radiation (1800-MHz) in human fibroblasts and in transformed GFSH-R17 rat granulosa cells in vitro. *Mutat Res* 583:178–183.
41. Drake S, Swerdlow NM, Levere TH, 1999. Essays on Galileo and the history and philosophy of science. University of Toronto Press. pp. 41–42. ISBN 9780802075857.
42. Eastman A, 1990. Alkylating and platinum-based agents. *Curr Opin Oncol* 2: 1109-1114.
43. Eigen & Schuster (1977) *The Hypercycle. A Principle of Natural Self-Organization. Part A: Emergence of the Hypercycle.* *Naturwissenschaften* Vol. 64, pp. 541–565.
44. Eigen & Schuster (1978) *The Hypercycle. A Principle of Natural Self-Organisation. Part B: The Abstract Hypercycle* Archived 3 March 2016 at the Wayback Machine. *Naturwissenschaften* Vol. 65, pp. 7–41
45. Einhorn N, Tropé C, Ridderheim M et al., 2003. A systematic overview of radiation therapy effects in cervical cancer (cervix uteri). *Acta Oncol* 42: 546-556.
46. Endler PC, Pongratz W, Smith CW et al., 1995. Non-molecular information transfer from thyroxine to frogs with regard to homeopathic toxicology. *Vet Hum Toxicol* 37: 259-260.
47. Epstein RJ (August 2005). "Maintenance therapy to suppress micrometastasis: the new challenge for adjuvant cancer treatment". *Clinical Cancer Research*. **11** (15): 5337–41. doi:10.1158/1078-0432.CCR-05-0437. PMID 16061845.
48. Erogul O, Oztas E, Yildirim I et al., 2006. Effects of electromagnetic radiation from a cellular phone on human sperm motility: an in vitro study. *Arch Med Res* 37: 840–843.

49. Johnjoe McFadden Synchronous Firing and Its Influence on the Brain's Electromagnetic Field Evidence for an Electromagnetic Field Theory of Consciousness. *Journal of Consciousness Studies*, 9, No. 4, 2002, pp. 23–50.
50. Fesenko EE, Makar VR, Novoselova EG et al., 1999. Microwaves and cellular immunity. I. Effect of whole body microwave irradiation on tumor necrosis factor production in mouse cells. *Bioelectrochem Bioenerg* 49: 29–35.
51. Focke F, Schuermann D, Kuster N et al., 2010. DNA fragmentation in human fibroblasts under extremely low frequency electromagnetic field exposure. *Mutat Res* 683: 74-83.
52. Foletti Alberto , Mario Ledda, Maria Grazia Lolli, Settimio Grimaldi & Antonella Lisi. Electromagnetic information transfer through aqueous system. 294. 294. 294. *Electromagnetic Biology and Medicine*. Volume 36, 2017 – Issue 3, pages 289-294. <https://doi.org/10.1080/15368378.2017.1347882>.
53. Forgacs Z, Somosy Z, Kubinyi G et al., 2006. Effect of whole-body 1800MHz GSM-like microwave exposure on testicular steroidogenesis and histology in mice. *Reprod Toxicol* 22: 111–117.
54. Friedman J, Kraus S, Hauptman Y et al., 2007. Mechanism of short-term ERK activation by electromagnetic fields at mobile phone frequencies. *Biochem J* 405: 559– 568.
55. Frova A and Marenzana M, 2006. Thus, spoke Galileo: the great scientist's ideas and their relevance to the present day. Oxford University Press. pp. 133–137. ISBN 9780198566250.
56. Gandhi G, Anita, 2005. Genetic damage in mobile phone users: some preliminary findings. *Indian J Hum Genet* 11: 99–104.
57. Gatta L, Pinto R, Ubaldi V et al., 2003. Effects of in vivo exposure to GSM-modulated 900MHz radiation on mouse peripheral lymphocytes. *Radiat Res* 160: 600–605.
58. Gobba F, Bargellini A, Bravo G et al., 2009. Natural killer cell activity decreases in workers occupationally exposed to extremely low frequency magnetic fields exceeding 1 microT. *Int J Immunopathol Pharmacol* 22: 1059-1066.
59. Goldman D.E. (1943). Potential, Impedance, and rectification in membranes. *J Gen Physiol* (1943) 27 (1): 37–60. <https://doi.org/10.1085/jgp.27.1.37>.

60. Grace KL, Revell WJ, Brookes M, 1998. The effects of pulsed electromagnetism on fresh fracture healing: osteochondral repair in the rat femoral groove. *Orthopedics* 21: 297-302.
61. Graham RB, 1998. The medical results of human exposure to radio frequency radiation. Occupational and Environmental Health Laboratory Books (USAF) AFB TX 78235-5000.
62. Greenland S, Sheppard AR, Kaune WT et al., 2000. A pooled analysis of magnetic fields, wire codes, and childhood leukemia. Childhood Leukemia-EMF Study Group. *Epidemiology* 11: 624-634.
63. Gudas Lorraine J., and John A. Wagner. Retinoids regulate stem cell differentiation. *J Cell Physiol.* 2011 February; 226(2): 322–330. doi:10.1002/jcp.22417.
64. Han L, Lin H, Head M et al., 1998. Application of magnetic fields-induced heat shock protein 70 for presurgical cytoprotection. *J Cell Biochem* 78: 371–379.
65. Hardell L, Näsman Å, Pålsson A et al., 1999. Use of cellular telephones and the risk for brain tumours: a case–control study. *Int J Oncol* 15: 113–116.
66. Hardell L, Carlberg M, Mild KH, 2005. Case-control study on cellular and cordless telephones and the risk for acoustic neuroma or meningioma in patients diagnosed 2000–2003. *Neuroepidemiology* 25: 120–128.
67. Hart RW, Setlow RB, 1974. Correlation between deoxyribonucleic acid excision repair and life span in a number of mammalian species. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 71: 2169– 2173.
68. Helleday T, Loc J, van Gent DC et al., 2007. DNA double strand break repair: from mechanistic understanding to cancer treatment. *DNA Repair* 6: 923–935.
69. Hansen Laura A. , Caroline C. Sigman, Fausto Andreola, Sharon A. Ross, Gary J. Kelloff, Luigi M. De Luca Retinoids in chemoprevention and differentiation therapy. *Carcinogenesis*, Volume 21, Issue 7, July 2000, Pages 1271–1279, <https://doi.org/10.1093/carcin/21.7.1271>.
70. Hook GJ, Zhang P, Lagroye I et al., 2004. Measurement of DNA damage and apoptosis in molt-4 cells after in vitro exposure to radiofrequency radiation. *Radiat Res* 161: 193–200.
71. Huang, M., Ye, Y. & Chen, S. (1988). Use of all-trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia, *Blood* 72(2): 567-572.

72. Iconomidou VA, Chryssikos GD, Gionis Vety al., 2001. "Soft"-cuticle protein secondary structure as revealed by FT-Raman, ATR FT-IR and CD spectroscopy. *Insect Biochem Molec Biol* 31: 877-855.
73. Ikehara T., H. Yamaguchi, H. Miyamoto. Effects of electromagnetic fields on membrane ion transport of cultured cells. *The Journal of Medical Investigation*.
74. Islamov BI, Balabanova RM, Funticov VA et al., 2002. Effect of bioresonance therapy on antioxidant system in lymphocytes in patients with rheumatoid arthritis. *Bull Exp Biol Med* 134: 248–250.
75. Ivancsits S, Diem E, Pilger A et al., 2002. Induction of DNA strand breaks by intermittent exposure to extremely-low frequency electromagnetic fields in human diploid fibroblasts. *Mutat Res* 519: 1–13.
76. Ivancsits S, Pilger A, Diem E et al., 2005. Cell type specific genotoxic effects of intermittent extremely low-frequency electromagnetic fields. *Mutat Res* 583: 184–188.
77. Jajte J, Zmyslony M, Palus J et al., 2001. Protective effect of melatonin against in vitro iron ions and 7mT50Hz magnetic field-induced DNA damage in rat lymphocytes. *Mutat Res* 483: 57–64.
78. Jackle H; Rotte C; Gruss P (2017). "Manfred Eigen: the realization of his vision of Biophysical Chemistry". *European Biophysics Journal: Ebj.* **47**(4): 319–323. doi:10.1007/s00249-017-1266-y. PMC 5982432. PMID 29230510.
79. Javaheri, Hooman., Bernardo Barbiellini and Guevara Noubir. Javaheri *et al.* Energy transfer performance of mechanical nanoresonators coupled with electromagnetic fields. *Nanoscale Research Letters* 2012, **7**:572.
80. Johansson O, 2009. Disturbance of the immune system by electromagnetic fields-A potentially underlying cause for cellular damage and tissue repair reduction which could lead to disease and impairment. *Pathophysiology* 16: 157-177.
81. Karabakhtsian R, Broude N, Shalts N et al., 1994. Calcium is necessary in the cell response to EM fields. *FEBS Lett* 349: 1-6.
82. Karabetsos E, 2000. Measurements' report of electromagnetic radiation levels emitted from the device Multi Channel Dynamic Exciter 100 v. 1 Report of EEAE: MIA EEII 2, Karabetsos E, ed, Bulletin no 2, National Center of Physics Research "Dimokritos" publ, Athens, Greece
83. Keeler J, 2005. NMR and energy levels. In Keeler J (ed): *Understanding NMR spectroscopy*. West Sussex: John Willey and Sons Ltd, pp 1-19.

84. Kheifets LI, Afifi AA, Buffler PA et al., 1995. Occupational electric and magnetic field exposure and brain cancer: a meta-analysis. *J Occup Environ Med* 37: 1327-41.
85. Lai H, Singh NP, 1995. Acute low-intensity microwave exposure increases DNA single-strand breaks in rat brain cells. *Bioelectromagnetics* 16: 207-210.
86. Lai H, Singh NP, 1997. Melatonin and a spin-trap compound block radiofrequency electromagnetic radiation-induced DNA strand breaks in rat brain cells. *Bioelectromagnetics* 18: 446-454.
87. Lai H, Singh NP, 2004. Magnetic-field-induced DNA strand breaks in brain cells of the rat. *Environ Health Perspect* 112: 687-694.
88. Lai H, Singh NP, 2005. Effects of microwaves and a temporally incoherent magnetic field on single and double DNA strand breaks in rat brain cells. *Electromag Biol Med* 24: 23-29.
89. Lantow M, Viergutz T, Weiss DG et al., 2006. Comparative study of cell cycle kinetics and induction of apoptosis or necrosis after exposure of human mono mac 6 cells to radiofrequency radiation. *Radiat Res* 166: 539-543.
90. Tao Lei, Feijiang Li, Zhuowen Liang, Chi Tang, Kangning Xie, Pan Wang, Xu Dong, Shuai Shan, Juan Liu, Qiaoling Xu, Erping Luo & Guanghao Shen. Effects of four kinds of electromagnetic fields (EMF) with different frequency spectrum bands on ovariectomized osteoporosis in mice. *Scientific Reports* | 7: 553 | DOI:10.1038/s41598-017-00668-w.
91. Leszczynski D, Joenväärä S, Reivinen J et al., 2002. Non-thermal activation of the hsp27/p38MAPK stress pathway by mobile phone radiation in human endothelial cells: molecular mechanism for cancer- and blood-brain barrier-related effects. *Differentiation* 70: 120-129.
92. Li H, Mitchell JR, Hasty P, 2008. DNA double-strand breaks: a potential causative factor for mammalian aging. *Mech Aging Dev* 129: 416-424.
93. Li L, Bisht KS, La Groye I et al., 2001. Measurement of DNA damage in mammalian cells exposed in vitro to radiofrequency fields at sars of 3-5 W/kg. *Radiat Res* 156: 328-332.
94. Liburdy RP, 1992. Calcium signaling in lymphocytes and ELF fields. Evidence for an electric field metric and a site of interaction involving the calcium ion channel. *FEBS Lett* 301: 53-59.

95. Lieber MR, 1998. Pathological and physiological double-strand breaks: roles in cancer, aging, and the immune system. *Am J Pathol* 153: 1323–1332.
96. de Lima Laritza Ferreira , Rebeca Magalhães, Pedrosa Rocha, Valdevane Rocha, Araújo Isadora Machado, Teixeira Lima, Cláudio Afonso Pinho Lopes Sônia Nair Bão Claudio Cabral Campello, Ana Paula, Ribeiro Rodrigues, José Ricardo de Figueiredo. Dynamized follicle-stimulating hormone affects the development of ovine preantral follicles cultured *in vitro*. *Homeopathy*. Volume 102, Issue 1, January 2013, Pages 41-48.
97. Lima Laritza F. , R.M.P.Rocha, A.M.C.V.Alves, A.A.Carvalho, R.N.Chaves, C.A.P.Lopes, S.N.Báo, C.C.Campello, A.P.R.Rodrigues, J.R.Figueiredo. Comparison between the additive effects of diluted (rFSH) and diluted/dynamized (FSH 6 Ch) recombinant follicle-stimulating hormone on the *in vitro* culture of ovine preantral follicles enclosed in ovarian tissue. *Complementary Therapies in Medicine*. Volume 25, April 2016, Pages 39-44.
98. Laritza F de Lima, Marcello Rubessa, Rebeca MP Rocha., Rebecca Winters, Derek J Milner, Claudio C Campello, José R Figueiredo and Matthew B Wheeler, High diluted and dynamized follicle stimulating hormone modulates steroid production in isolated porcine preantral follicles cultured in vitro. *Homeopathy* (2017) 106, 87- 92.
99. Liu Y, Hong R, Yu YM et al., 2003. Effects of extremely low frequency electromagnetic fields on apoptosis and cell cycle of mouse brain and liver cells *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi* 21: 339-341
100. London SJ, Thomas DC, Bowman JD et al., 1991. Exposure to residential electric and magnetic fields and risk of childhood leukemia. *Am J Epidemiol* 134: 923-937.
101. Lonn S, Ahlbom A, Hall P et al., 2004. Mobile phone use and the risk of acoustic neuroma. *Epidemiology* 15: 653–65.
102. J. Maddox; J. Randi; W. W. Stewart (28 July 1988). "'High-dilution" experiments a delusion". *Nature*. **334** (6180): 287–290. Bibcode:1988Natur.334.287M. doi:10.1038/334287a0.
103. Malhotra V, Perry MC (2003). "Classical chemotherapy: mechanisms, toxicities and the therapeutic window". *Cancer Biology & Therapy*. **2** (4 Suppl 1): S2-4. doi:10.4161/cbt.199. PMID 14508075
104. Malyapa RS, Ahern EW, Straube WL et al., 1997. Measurement of DNA damage after exposure to electromagnetic radiation in the cellular phone communication frequency band (835.62 and 847.74 MHz). *Radiat Res* 148: 618–627.

105. Malyapa RS, Bi C, Ahern EW et al., 1998. Detection of DNA damage by the alkaline comet assay after exposure to low-dose gamma radiation. *Radiat Res* 149: 396–400.
106. Maxwell, J.C., *A Treatise on Electricity and Magnetism Volume 1 – 1873 – Posner Memorial Collection – Carnegie Mellon University.*
107. Maxwell, J.C., *A Treatise on Electricity and Magnetism Volume 2 – 1873 – Posner Memorial Collection – Carnegie Mellon University).*
108. Markova E, Hillert L, Malmgren L et al., 2005. Microwaves from GSM mobile telephones affect 53BP1 and gamma-H2AX foci in human lymphocytes from hypersensitive and healthy persons. *Environ Health Perspect* 113: 1172–1177.
109. Marko Markov. Thermal vs. non thermal mechanisms of interactions between electromagnetic fields and biological systems. *Bioelectromagnetics Current Concepts, The Mechanisms of the Biological Effect of Extremely High-Power Pulses.* Pages 1 -5. NATO Science for Peace and Security Series. Springer 2006. <https://doi.org/10.1007/1-4020-4278-7>.
110. Martin F. Chaplin. *The Memory of Water: an overview Homeopathy.* Volume 96, Issue 3, July 2007, Pages 143-15.
111. Mayer M. P. and B. Bukau. Hsp70 chaperones: Cellular functions and molecular mechanism. *CMLS, Cell. Mol. Life Sci.* 62 (2005) 670–684 1420-682X/05/060670-15 DOI
112. McNamee JP, Bellier PV, Gajda GB et al., 2003. No evidence for genotoxic effects from 24 h exposure of human leukocytes to 1.9 GHz radiofrequency fields. *Radiat Res* 159: 693–697.
113. Miller David J., and Patrice E. Fort. Heat Shock Proteins Regulatory Role in Neurodevelopment. *Front. Neurosci.* 12 November 2018 <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00821>
114. Min Yan and Quentin Liu. Differentiation therapy: a promising strategy for cancer treatment. *Chin J Cancer.* 2016; 35: 3. 2016 Jan 6. doi: 10.1186/s40880-015-0059-x
115. Minami K, Hasegawa M, Ito H et al., 2009. Morphine, oxycodone, and fentanyl exhibit different analgesic profiles in mouse pain models. *J Pharmacol Sci* 111: 60-72
116. Mohammad Taheri, Mohammad Moradi, SMJ Mortazavi Shahla Mansouri, Gholamreza Hatam, and Fatemeh Nouri. Evaluation of the 900 MHz Radiofrequency Radiation Effects on the Antimicrobial Susceptibility and Growth Rate of *Klebsiella pneumoniae*. *Shiraz E-Med J.* 2017 March; 18(3):e 44946

117. Montagnier Luc, Emilio Del Giudice, Jamal Aïssa, Claude Lavallee, Steven Mutschwiller, Antonio Capolupo, Transduction of DNA information through water and electromagnetic waves. *Electromagnetic Biology and Medicine* Volume 34, 2015. <https://doi.org/10.3109/15368378.2015.1036072>
118. L Montagnier, Aïssa, E Del Giudice, C Lavallee, Tedeschi, and G Vitello. DNA waves and water. *Journal of Physics: Conference Series* 306 (2011) 012007. doi:10.1088/1742-6596/306/1/012007.
119. L Montagnier, Aïssa, J *et al*, "Electromagnetic Signals Are Produced by Aqueous Nanostructures Derived from Bacterial DNA Sequences". *Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences*, 6 January 2009, Volume 1, Number 2, 81–90, doi:10.1007/s12539-009-0036-7 Retrieved 27 January 2011.
120. Montagnier, L, Aïssa, J *et al*, "Electromagnetic detection of HIV DNA in the blood of AIDS patients treated by antiretroviral therapy". *Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences*, 3 July 2009, Volume 1, Number 4, 245–253, doi:10.1007/s12539-009-0059-0 Retrieved 27 January 2011
121. Moskowitz, Clara (25 June 2009). "Source of cosmic rays pinned down". *Space.com*. Tech Media Network. Retrieved 20 March 2013.
122. Mousavian-Roshanzamir Sofieh, Ali Makhdoumi-Kakhki. The Inhibitory Effects of Static Magnetic Field on *Escherichia coli* from two Different Sources at Short Exposure Time. *Reports of Biochemistry & Molecular Biology*. Vol.5, No.2, Apr. 2017
123. Nenad Filipovic, Tijana Djukic, Milos Radovic, Danijela Cvetkovic, Milena Curcic, Snezana Markovic, Aleksandar Peulic and Branislav Jeremic Electromagnetic field investigation on different cancer cell lines. *Cancer Cell International*. 2014, 18:84.
124. De Ninno Antonella & Massimo Pregnotato. Electromagnetic homeostasis and the role of low-amplitude electromagnetic fields on life organization. Vol36, Issue 2, p 115-122, Jul 2016.
125. Nikolova T, Czyz J, Rolletschek A *et al.*, 2005. Electromagnetic fields affect transcript levels of apoptosis-related genes in embryonic stem cell-derived neural progenitor cells. *FASEB J* 19: 1686–1688.
126. Novickij Vitalij, Ramune Staneviciene, Igle Vepštaitė -Monstavice, Ruta Gruškiene, Tatjana Krivorotova, Jolanta Sereikaite, Jurij Novickij and Elena Serviene. *Frontiers in Microbiology*. Overcoming Antimicrobial Resistance in bacteria using bioactive magnetic nanoparticles and pulsed electromagnetic fields. Published in 3 February 2018. Doi 103389/fmicb.2017.02678/

127. Oktem F, Ozguner F, Mollaoglu H et al., 2005. Oxidative damage in the kidney induced by 900-MHz-emitted mobile phone: protection by melatonin. *Arch Med Res* 36: 350–355.
128. Oral B, Guney M, Ozguner F et al., 2006. Endometrial apoptosis induced by a 900-MHz mobile phone: preventive effects of vitamins E and C. *Adv Ther* 23: 957–973.
129. Ozguner M, Koyu A, Cesur G et al., 2005. Biological and morphological effects on the reproductive organ of rats after exposure to electromagnetic field. *Saudi Med J* 26: 405–410.
130. Ozguner F, Bardak Y, Comlekci S, 2006. Protective effects of melatonin and caffeic acid phenethyl ester against retinal oxidative stress in long term use of mobile phone: a comparative study. *Mol Cell Biochem* 282: 83–88.
131. Dimitris J. Panagopoulos, Olle Johansson & George L. Carlo. Polarization: A Key Difference between Man-made and Natural Electromagnetic Fields, in regard to Biological Activity. *Scientific Reports*. October 2015| 5:14914
DOI: 10.1038/srep14914
132. Paul M and Monk S, 2004. *Physical Chemistry*. John Wiley and Sons. p. 435. ISBN 9780471491804.
133. Patent: 10) International Publication Number (43) International Publication Date 18 October 2012 (18.10.2012) WO 2012/142568 A9.) World Intellectual Property Organization International Bureau. Remote transmission of electromagnetic signals inducing nanostructures amplifiable into a specific DNA sequence.
134. Arthur A. Pilla, and Marko S. Markov. *Bioeffects of Weak Electromagnetic Fields*. *Reviews on Environmental Health* Volume 10: Issue 3-4.
DOI: <https://doi.org/10.1515/REVEH.1994.10.3-4.155>. Published online: 01 Jul 1994.
135. Pilla| Arthur A. Electrochemical information transfer at living cell membranes. October 1974. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1974.tb26785.x>.
136. Pilla |Arthur A. Electrochemical information transfer at living cell membranes. October 1974. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1974.tb26785.x>
137. Phillips JL, Ivaschuk O, Ishida-Jones T et al., 1998. DNA damage in Molt-4 T-lymphoblastoid cells exposed to cellular telephone radiofrequency fields *in vitro*. *Bioelectrochem Bioenerg* 45: 103–110.

138. Phillips JL, Singh NP, Lai H, 2009. Electromagnetic fields and DNA damage. *Pathophysiology* 16: 79-88.
139. Prigent P, Blanpied C, Aten J et al., 1993. A safe and rapid method for analyzing apoptosis-induced fragmentation of DNA extracted from tissues or cultured cells. *J Immunol Methods* 160: 139–140.
140. Rabi II, Zacharias JR, Millman S et al., 1992. Milestones in magnetic resonance: a new method of measuring nuclear magnetic moment. 1938. *J Magn Reson Imagin.* 2: 131-133.
141. Rajman L, Chwalek K, Sinclair DA (2018). "Therapeutic Potential of NAD-Boosting Molecules: The In Vivo Evidence". *Cell Metabolism.* **27** (3): 529–547. doi:10.1016/j.cmet.2018.02.011. PMC 6342515. PMID 29514064
142. Rezaeia Navid, Deyasini Majumdar, Bruce Cockburn, Christian Schlegel. Electromagnetic Energy and Data Transfer in Biological Tissues using Loop Antennas. *Procedia Computer Science* 19 (2013) 908 – 913.
143. Reames, Donald V. "The Two Sources of Solar Energetic Particles". *Space Science Reviews.* **175** (1–4): 53–92. doi:10.1007/s11214-013-9958-9. ISSN 0038-6308, Reames D.V.(2017)
144. Reames D.V., *Solar Energetic Particles*, Springer, Berlin, (2017a) ISBN 978-3-319-50870-2, doi: 10.1007/978-3-319-50871-9.
145. Repacholi MH, Greenebaum B, 1999. Interaction of static and extremely low frequency electric and magnetic fields with living systems: health effects and research needs. *Bioelectromagnetics* 20: 133-60.
146. Richard H.W. Funk, Thomas Monsees, Nurdan Ozkucur. Electromagnetic effects – From cell biology to medicine. *Progress in Histochemistry and Cytochemistry* 43 (2009) 177–264.
147. Ritossa F. A new puffing pattern induced by heat shock and DNP in *Drosophila*. *Experientia.* 1962; 18:571–573. doi: 10.1007/BF02172188).
148. Ferruccio Ritossa Discovery of the heat shock response. *Cell Stress Chaperones.* 1996 Jun; 1(2): 97–98. doi: 10.1379/1466-1268(1996)001<0097:doths>2.3.co;2.
149. Rey L. Thermoluminescence of ultra-high dilutions of lithium chloride and sodium chloride. in *Physica A* 2003; 323: 67–74.
150. Robison JG, Pendleton AR, Monson KO et al., 2002. Decreased DNA repair rates and protection from heat induced apoptosis mediated by electromagnetic field exposure. *Bioelectromagnetics* 23: 106–112.

151. Roti JL, Malyapa RS, Bisht KS et al., 2001. Straube, Neoplastic transformation in C3H10T (1/2) cells after exposure to 835.62MHz FDMA and 847.74MHz CDMA radiations. *Radiat Res* 155: 239–247.
152. Ruzic Romana, Igor Jerman, Metod Skarja, Rober T. Leskovar, Lea Mogilnicki. Electromagnetic transference of molecular information in garden cress germination. *Int J High Dilution Res* 2008; 7(24): 122-131
153. Sakuma N, Komatsubara Y, Takeda H et al., 2006. DNA strand breaks are not induced in human cells exposed to 2.1425 GHz band CW and W-CDMA modulated radiofrequency fields allocated to mobile radio base stations. *Bioelectromagnetics* 27: 51–57.
154. Sarkar S, Ali S, Behari J, 1994. Effect of low power microwave on the mouse genome: a direct DNA analysis. *Mutat Res* 320: 141–147.
155. Savarese A, Cognetti F, 2003. New drugs in the treatment of recurrent or metastatic cervical cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 48: 323-327
156. Schindowski K, Leutner S, Muller WE et al., 2000. Age related changes of apoptotic cell death in human lymphocytes. *Neurobiol Aging* 21: 661–670.
157. Schmitz C, Keller E, Freuding T et al., 2004. 50-Hz magnetic field exposure influences DNA repair and mitochondrial DNA synthesis of distinct cell types in brain and kidney of adult mice. *Acta Neuropathol (Berl)* 107: 257–264.
158. B. Segatore, D. Setacci, F. Bennato, R. Cardigno, G. Amicosante, and R. Iorio. *International Journal of Microbiology*. Volume 2012, Article ID 587293, 7 pages. doi:10.1155/2012/587293.
159. Simko M, Richard D, Kriehuber R et al., 2001. Micronucleus induction in Syrian hamster embryo cells following exposure to 50 Hz magnetic fields, benzo[a]pyrene TPA in vitro. *Mutat Res* 495: 43–50.
160. Simko M, 2007. Cell type specific redox status is responsible for diverse electromagnetic field effects. *Curr Med Chem* 14: 1141–1152.
161. Singer SJ, Nicolson GL. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*. 1972 Feb 18;175(4023):720-31).
162. Stronati L, Testa A, Villani P et al., 2004. Absence of genotoxicity in human blood cells exposed to 50 Hz magnetic fields as assessed by comet assay, chromosome aberration, micronucleus, and sister chromatid exchange analyses. *Bioelectromagnetics* 25: 41–48.

163. Stronati L, Testa A, Moquet J et al., 2006. 935MHz cellular phone radiation. An in vitro study of genotoxicity in human lymphocytes. *Int J Radiat Biol* 82: 339–346.
164. Sol Ricard and Guim Agud'e-Gorgori. The ecology of cancer differentiation therapy. I - non-spatial models. bioRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/853002>;
165. Sun LX, Yao K, He JL et al., 2006. Effect of acute exposure to microwave from mobile phone on DNA damage and repair of cultured human lens epithelial cells in vitro. *Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi* 24: 465–467.
166. Tao Q, Henderson A, 1999. EMF induces differentiation in HL-60 cells. *J Cell Biochem* 73: 212–217.
167. Taheri M., S. M. J. Mortazavi, M. Moradi, S. Mansouri, G. R. Hatam, and F. Nouri. Evaluation of the Effect of Radiofrequency Radiation Emitted From Wi-Fi Router and Mobile Phone Simulator on the Antibacterial Susceptibility of Pathogenic Bacteria *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*. Dose-Response: January-March 2017:1-8. <https://doi.org/10.1177/1559325816688527>.
168. Thomas Y, Sciff M, Belkadi L et al., 2000. Activation of human neutrophils by electronically transmitted phorbol-myristate acetate. *Med Hypotheses* 54: 33-39.
169. Tice RR, Hook GG, Donner M et al., 2002. Genotoxicity of radiofrequency signals.
170. Raymond R Tice, Graham G Hook, Maria Donner et al. Investigation of DNA damage and micronuclei induction in cultured human blood cells. *Bioelectromagnetics* 23: 113–126.
171. Tofani S, Barone D, Cintorino M et al., 2001. Static and ELF magnetic fields induce tumor growth inhibition and apoptosis. *Bioelectromagnetics* 22: 419–428.
172. Tofani S, Cintorino M, Barone D et al., 2002. Increased mouse survival, tumor growth inhibition and decreased immunoreactive P53 after exposure to magnetic fields. *Bioelectromagnetics* 23: 230–238.
173. Tuschl H, Novak W, Molla-Djafari H, 2006. In vitro effects of GSM modulated radiofrequency fields on human immune cells. *Bioelectromagnetics* 27: 188-196.
174. Verschaeve L, Heikkinen P, Verheyen G et al., 2006. Investigation of co-genotoxic effects of radiofrequency electromagnetic fields in vivo. *Radiat Res* 165: 598–607.
175. Vijayalaxmi BZ, Leal M, Szilagyi TJ et al., 2000. Primary DNA damage in human blood lymphocytes exposed in vitro to 2450MHz radiofrequency radiation. *Radiat Res* 153: 479–486.

176. George Vithoulkas. The Controversy Over the “Memory of Water”. *Med Sci Hypotheses*, 2017; 4: 1-6.
177. Walker JL, Evans JM, Resing P et al., 1994. Enhancement of functional recovery following a crush lesion to the rat sciatic nerve by exposure to pulsed electromagnetic fields. *Exp Neurol* 125: 302–305.
178. Walleczek J, 1992. Electromagnetic field effects on cells of the immune system: the role of calcium signaling. *FASEB J* 6: 3177-3185.
179. Rong Wang, Yongchen Fan & Ying Wu. Spontaneous electromagnetic induction promotes the formation of economical neuronal network structure via self-organization process. *Scientific Reports* volume 9, Article Number: 9698 (2019).
180. Wang, R., Tsuda, I. & Zhang, Z. A new work mechanism on neuronal activity. *Int. J. Neural Syst.* **25**, 1450037 (2015).
181. Ward JF, 1990. The yield of DNA double strand breaks produced intracellularly by ionizing radiation: a review. *Int J Radiat Biol* 57: 1141–1150.
182. Wei Y, Xiaolin H, Tao S, 2008. Effects of extremely low-frequency-pulsed electromagnetic field on different-derived osteoblast-like cells. *Electromagn Biol Med* 27: 298-311.
183. Weinberg S, 1995. *The Quantum Theory of Fields*. Cambridge University Press. pp. 15–17. ISBN 0-521-55001-7.
184. Wen Ping Xu, Xin Zhang, Wei Fen Xie. Differentiation therapy for solid tumors. 25 December 2013. <https://doi.org/10.1111/1751-2980.12122>
185. Winker R, Ivancsits S, Pilger A et al., 2005. Chromosomal damage in human diploid fibroblasts by intermittent exposure to extremely low-frequency electromagnetic fields. *Mutat Res* 585: 43–49.
186. Wolf FI, Torsello A, Tedesco B et al., 2005. 50-Hz extremely low frequency electromagnetic fields enhance cell proliferation and DNA damage: possible involvement of a redox mechanism. *Biochim Biophys Acta* 1743: 120–129.
187. Wulf, Theodor (1910). "Observations on the radiation of high penetration power on the Eiffel tower". *Physikalische Zeitschrift.* **11**: 811.
188. Yarıktas M, Doner F, Ozguner F et al., 2005. Nitric oxide level in the nasal and sinus mucosa after exposure to electromagnetic field. *Otolaryngol. Head Neck Surg* 132: 713–716.

189. Yin Xiong, Xun Jin, Hyunggee Kim. Cancer stem cells and differentiation therapy Tumor Biology October 2017: 1–11. <https://doi.org/10.1177/1010428317729933>.
190. Yolène Thomas. The history of the Memory of Water Homeopathy. Volume 96, Issue 3, July 2007, Pages 151-157.
191. Yadollahpour Ali, Mostafa Jalilifar and Samaneh Rashidi. Antimicrobial Effects of Electromagnetic Fields: A Review of Current Techniques and Mechanisms of Action. JOURNAL OF PURE AND APPLIED MICROBIOLOGY, October 2014. Vol. 8(5), p. 4031-4043.
192. Yokus B, Cakir DU, Akdag MZ et al., 2005. Oxidative DNA damage in rats exposed to extremely low frequency electromagnetic fields. Free Radic Res 39: 317– 323.
193. Yu Xiong, Xue-mei Jiang, Shan-Shan Mao, Xiang-Nan Yu and Xiao-Xi Huang. Heat shock protein 70 downregulation inhibits proliferation, migration and tumorigenicity in hepatocellular carcinoma cells. Oncology Letters 14: 2703-2708, 2017.
194. Ju Hwan Kim, Jin-Koo Lee, Hyung-Gun Kim, Kyu-Bong Kim and Hak Rim Kim, Possible Effects of Radiofrequency Electromagnetic Field Exposure on Central Nerve System. Biomol Ther 27(3), 265-275 (2019).
195. Zeni O, Romano M, Perrotta A et al., 2005. Evaluation of genotoxic effects in human peripheral blood leukocytes following an acute in vitro exposure to 900MHz radiofrequency fields. Bioelectromagnetics 26: 258–265.
196. Zhang DY, Xu ZP, Chiang H et al., 2006. Effects of GSM 1800MHz radiofrequency electromagnetic fields on DNA damage in Chinese hamster lung cells. Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi 40: 149–152.
197. Zhu Wenbo and Guangmei Yan. The Molecular Mechanism for Differentiation Therapy of Malignant Glioma *Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, People's Republic of China*. 2011 Nwww. intechopen.com
198. Zmyslony M, Palus J, Jajte J et al., 2000. DNA damage in rat lymphocytes treated in vitro with iron cations and exposed to 7 mT magnetic fields (static or 50 Hz). Mutat Res 453: 89–96.

