ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
UNIVERSITY OF THESSALY

Πρόγραμμα Διδακτορικών Υποτροφιών
Ηράκλειτος ΙΙ - Ερευνητικό Έργο

Ph. D Scholarship Programme
Heraclitus II - Scientific Research

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
UNIVERSITY OF THESSALY

Πρόγραμμα Διδακτορικών Υποτροφιών
Ηράκλειτος ΙΙ - Ερευνητικό Έργο

Ph. D Scholarship Programme
Heraclitus II - Scientific Research

Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος ΙΙ . Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου.

This research has been co-financed by the European Union (European Social Fund – ESF) and Greek national funds through the Operational Program «Education and Lifelong Learning» of the National Strategic Reference Framework (NSRF) - Research Funding Program: Heracleitus II. Investing in knowledge society through the European Social Fund.

Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο
ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
επένδυση στην κοινωνία της γνώσης
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ
ΕΣΠΑ 2007-2013
πρόγραμμα για την ανάπτυξη
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ
Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

European Union
European Social Fund
OPERATIONAL PROGRAMME
EDUCATION AND LIFELONG LEARNING
investing in knowledge society
MINISTRY OF EDUCATION & RELIGIOUS AFFAIRS
MANAGING AUTHORITY
NSRF 2007-2013
programme for development
EUROPEAN SOCIAL FUND
Co- financed by Greece and the European Union

Ποταμοῖς τοῖς αὐτοῖς ἐμβαίνομέν τε καὶ οὐκ ἐμβαίνομεν, εἶμέν τε καὶ οὐκ εἶμεν.

Ηράκλειτος

Επιμέλεια Έκδοσης: Όλγα Χαμούλια - Ακριβή Σαραντοπούλου

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
SCHOOL OF AGRICULTURAL SCIENCES

Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος - Department of Agriculture Crop Production and Rural Environment

Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος - Department of Icthyology and Aquatic Environment

ΠΟΛΥΤΕΧΝΙΚΗ ΣΧΟΛΗ - SCHOOL OF ENGINEERING

Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών - Department of Mechanical Engineering

Τμήμα Αρχιτεκτόνων Μηχανικών - Department of Architecture Engineering

Τμήμα Ηλεκτρολόγων Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών - Department of Electrical and Computer Engineering

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ - SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

Τμήμα Ιατρικής - School of Medicine

Τμήμα Κτηνιατρικής - Faculty of Veterinary Science

Ένα από τα κύρια ζητούμενα της εποχής μας, ειδικά στη δύσκολη κοινωνική και οικονομική συγκυρία για τη χώρα μας και με το φαινόμενο της μετανάστευσης νεαρών επιστημόνων να διογκώνεται, είναι η προώθηση κι ανάπτυξη της επιστημονικής έρευνας και της καινοτομίας, η οποία συνδέεται άμεσα με την κοινωνική και οικονομική πρόοδο και ευημερία, σε περιφερειακό και εθνικό επίπεδο. Στο πλαίσιο αυτό, το Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, ένα από τα πιο δυναμικά και σημαντικά ελληνικά πανεπιστήμια, δίνει προτεραιότητα σε κάθε πρωτοβουλία που αφορά στην παραγωγή, διάδοση και αξιοποίηση της γνώσης, στην ενίσχυση των σχέσεών του με τα πεδία αιχμής στην επιστημονική έρευνα σε διεθνές επίπεδο, καθώς και στην ενίσχυση των δεσμών του με την κοινωνία και την οικονομία. Προγράμματα υποτροφιών όπως το «Ηράκλειτος ΙΙ» δίνουν ευκαιρίες και κίνητρα στους νέους επιστήμονες να παραμείνουν στη χώρα τους για την πραγματοποίηση διδακτορικών σπουδών, συμβάλλοντας στη συνέχιση της έρευνας και στην παραγωγή νέων δεδομένων που θα αξιοποιηθούν στη δημιουργική και παραγωγική δραστηριότητα, που τόσο έχει ανάγκη ο τόπος μας σήμερα.

Θέτοντας τους παραπάνω στόχους ως πρωτεύοντες στο πλαίσιο της ερευνητικής του στρατηγικής, το Π.Θ. συμμετείχε από τον Οκτώβριο του 2010 έως τον Οκτώβριο του 2015, στο πρόγραμμα διδακτορικών υποτροφιών «Ηράκλειτος ΙΙ», δίνοντας την ευκαιρία σε 58 νέους επιστήμονες, σχεδόν από όλα τα ερευνητικά πεδία, να πραγματοποιήσουν πρωτότυπες έρευνες, υψηλού ακαδημαϊκού επιπέδου, με διεθνή αποδοχή και να αναδειχθούν ως δυναμικοί ερευνητές, ικανοί να στελεχώσουν τόσο εγχώριες, όσο και διεθνείς εκπαιδευτικές και επιστημονικές δομές.

Στην έκδοση αυτή, έχουμε τη χαρά και την τιμή να σας παρουσιάσουμε συνοπτικά τα αποτελέσματα της εργασίας των υποτρόφων του «Ηράκλειτος ΙΙ», με σκοπό να αναδείξουμε όχι μόνο τη χρησιμότητα και αναγκαιότητα του εν λόγω προγράμματος για την έρευνα, αλλά και το υψηλό ερευνητικό και ακαδημαϊκό επίπεδο του πανεπιστημίου μας.

Ευχόμαστε πρωτοβουλίες στήριξης της έρευνας σαν το «Ηράκλειτος ΙΙ» να υπάρξουν και στο μέλλον.

Καθηγητής Γεώργιος Πετράκος

Πρύτανης Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

«Ἐὰν μὴ ἔλπηται, ἀνέλπιστον οὐκ ἐξευρήσει, ἀνεξερεύνητον ἐὸν καὶ ἄπορον» κατά τον Ηράκλειτο, δηλαδή «όποιος δεν ελπίζει το ανέλπιστο, δεν θα το ανακαλύψει, καθώς θα μένει ανεξερεύνητο γι΄ αυτόν και απλησίαστο».

Η ρήση αυτή του μεγάλου Εφέσιου φιλοσόφου υπογραμμίζει τη σημασία της κριτικής έρευνας για την κατανόηση του Λόγου που διέπει τις διαρκείς αλλαγές και μεταβολές του κόσμου. Συμπυκνώνει, περαιτέρω, από την εποχή των προσωκρατικών διαφωτιστών έως και τις μέρες μας, την ποιότητα του αναστοχαζόμενου ανθρώπου, του ερευνητή, του επιστήμονα ο οποίος με θάρρος κι ελπίδα αγωνίζεται να χαράξει νέους τρόπους σκέψης, θεώρησης και κατανόησης των πραγμάτων, να ανατρέψει βεβαιότητες και να μας οδηγήσει στο απροσδόκητο, ανοίγοντας ταυτόχρονα νέους ορίζοντες για τον άνθρωπο και για την κοινωνία.

Στο πλαίσιο της φιλοσοφίας αυτής, το πρόγραμμα διδακτορικών υποτροφιών “Ηράκλειτος ΙΙ”, πρόσφερε στήριξη σε νέους επιστήμονες, από το 2011 έως το 2015, προκειμένου να πραγματοποιήσουν και να ολοκληρώσουν το πρωτότυπο ερευνητικό τους έργο, αποτελώντας κατά κάποιο τρόπο το δημιουργικό “πυρ” που είναι η γενεσιουργός και ζωοποιός δύναμη της Ηρακλείτειας φιλοσοφίας.

Στο λεύκωμα αυτό, παρουσιάζεται συνοπτικά το έργο 58 διδακτόρων του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, από κάθε τομέα του επιστητού, που ενίσχυσε κι εμπλούτισε με νέα δεδομένα τα πεδία της επιστήμης και της έρευνας. Αξίζει ν’ αναφέρουμε ότι στο πλαίσιο εκπόνησης αυτών των διατριβών παρήχθησαν δημοσιεύσεις και ανακοινώσεις, που δημοσιεύτηκαν σε έγκριτα επιστημονικά περιοδικά και παρουσιάστηκαν σε συνέδρια ελληνικά και διεθνή, αποδεικνύοντας γι’ ακόμη μια φορά ότι, παρ’ όλες τις δυσκολίες, η ελληνική επιστημονική κοινότητα κι ειδικότερα το νέο ερευνητικό δυναμικό του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, συμμετέχει ενεργά και διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στις επιστημονικές εξελίξεις.

Ευχόμαστε να υπάρξουν και νέα προγράμματα ενίσχυσης υποψήφιων διδακτόρων, που θα δώσουν την ευκαιρία και σ’ άλλους νέους επιστήμονες να υλοποιήσουν το ερευνητικό τους όραμα, προς όφελος της γνώσης, της καινοτομίας και της ανάπτυξης, τόσο στην ελληνική όσο και στην παγκόσμια κοινωνία.

Χρήστος Γκόβαρης
Καθηγητής
Ιδρυματικός Υπεύθυνος Έργου «Ηράκλειτος ΙΙ»

ΣΧΟΛΗ ΑΝΘΡΩΠΙΣΤΙΚΩΝ & ΚΟΙΝΩΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
SCHOOL OF HUMANITIES AND SOCIAL SCIENCES

Παιδαγωγικό Τμήμα Δημοτικής Εκπαίδευσης - Department of Primary Education

Παιδαγωγικό Τμήμα Προσχολικής Εκπαίδευσης - Department of Early Childhood Education

Παιδαγωγικό Τμήμα Ειδικής Αγωγής - Department of Special Education

Τμήμα Ιστορίας Αρχαιολογίας και Κοινωνικής Ανθρωπολογίας
Department of History, Archaeology and Social Anthropology

Τμήμα Οικονομικών Επιστημών
Department of Economics

ΣΧΟΛΗ ΑΝΘΡΩΠΙΣΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΚΟΙΝΩΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
SCHOOL OF HUMANITIES AND SOCIAL SCIENCES

Παιδαγωγικό Τμήμα Δημοτικής Εκπαίδευσης
Department of Primary Education

Χαρίκλεια Κανάρη

Μουσείο και άτομα με ολική ή μερική απώλεια όρασης: ζητήματα πρόσβασης και αξιοποίησης μουσείων στην εκπαίδευση των παιδιών με σοβαρά προβλήματα όρασης

Περίληψη

Η διδακτορική αυτή διατριβή αποτελεί μια διεπιστημονική μελέτη στους τομείς της Μουσειακής Εκπαίδευσης και της Ειδικής Αγωγής και διερευνά τους όρους και τις προϋποθέσεις πρόσβασης των ατόμων με σοβαρά προβλήματα όρασης στα μουσεία και στα πολιτιστικά αγαθά που αυτά διαχειρίζονται.

Οι θεωρητικές αφετηρίες της μελέτης αυτής συνδέονται με την αναγκαιότητα προάσπισης του δικαιώματος όλων των ανθρώπων στον πολιτισμό και στην εκπαίδευση και με την παραδοχή ότι η πρόσβαση στον πολιτισμό αποτελεί σημαντική παράμετρο εκπαίδευσης και κοινωνικής ένταξης. Ξεκινώντας από το χώρο των μουσείων, η συζήτηση που αναπτύσσεται σήμερα διεθνώς για το ρόλο τους ως ιδρυμάτων στην υπηρεσία της κοινωνίας, δεν περιορίζεται μόνο στους παραδοσιακούς ρόλους της συλλογής, διαφύλαξης της πολιτιστικής κληρονομιάς και έκθεσης μουσειακών συλλογών και αντικειμένων. Τα ιδιαίτερα ποιοτικά χαρακτηριστικά του ίδιου του μουσείου ως χώρου, της μάθησης και της εμπειρίας στο μουσείο αναδεικνύουν τον εκπαιδευτικό ρόλο των μουσείων αλλά και τα πολλαπλά μαθησιακά οφέλη για διαφορετικούς ανθρώπους και ομάδες. Παράλληλα, η συζήτηση για τον κοινωνικό ρόλο των μουσείων αναδεικνύει τις δυνατότητες αλλά και την ευθύνη των μουσείων να συμβάλουν στην ενίσχυση της κοινωνικής ένταξης και συνοχής και στην καταπολέμηση της κοινωνικής ανισότητας. Βασική προϋπόθεση για την επίτευξη των παραπάνω είναι η πρόσβαση. Η ίδια η έννοια της πρόσβασης αποτελεί κεντρικό σημείο προβληματισμού και αντικείμενο μελέτης καθώς οι φραγμοί της πρόσβασης – και όχι μόνο για τα άτομα με αναπηρία- είναι πολυδιάστατοι και αλληλοεξαρτώμενοι.

Αναφορικά με τα άτομα με αναπηρία, το ζήτημα της πρόσβασης και της συμμετοχής τους στις δράσεις των μουσείων αποτελεί ένα σημαντικό θέμα συζήτησης μέσα στο χώρο των μουσείων, που αντανακλά όχι μόνο τις αλλαγές εντός του χώρου τους και την ανθρωποκεντρική τους αντίληψη, αλλά και την επίδραση του κοινωνικού μοντέλου αναπηρίας. Σε ό, τι αφορά τα άτομα με αναπηρίες όρασης, η πρόσβαση και η σχέση τους με το μουσείο προσκρούει, μεταξύ άλλων, σε ένα θεμελιώδες χαρακτηριστικό της οργάνωσης των μουσείων: στην απαγόρευση της αφής και στην οπτικοκεντρική τους οργάνωση. Τα μουσεία σήμερα, μέσα από ένα εύρος δράσεων και διευκολύνσεων, επιδιώκουν να άρουν αυτόν τον φραγμό, αλλά τα άτομα με αναπηρίες όρασης εξακολουθούν να αντιμετωπίζουν σημαντικούς φραγμούς στην πρόσβασή τους και στις δυνατότητες επιλογών στα μουσεία.

Η συζήτηση για την πρόσβαση αναδεικνύει, επίσης, το ρόλο της εκπαίδευσης αλλά και τη σχέση μεταξύ εκπαίδευσης και πρόσβασης στον πολιτισμό. Πιο συγκεκριμένα, ο ρόλος της πρόσβασης στον πολιτισμό αναγνωρίζεται ως ιδιαίτερα σημαντικός για την ή στην εκπαίδευση και την κοινωνική ένταξη γενικότερα των ατόμων, συμπεριλαμβανομένων και των ατόμων με αναπηρία και ταυτόχρονα ο ρόλος της εκπαίδευσης είναι καθοριστικής σημασίας παράγοντας για την ουσιαστική πρόσβαση στον πολιτισμό. Αυτή η αμφίδρομη σχέση συνηγορεί στην αναγκαιότητα μιας περισσότερο ολιστικής αντιμετώπισης της πρόσβασης, που αναδεικνύει μεταξύ άλλων και τη σχέση μουσείου και εκπαίδευσης. Ειδικότερα, στην περίπτωση του μαθητικού πληθυσμού, η στενή σχέση μουσείου και σχολείου τεκμηριώνεται στη βάση ενός εύρους μελετών αλλά και πρακτικών που απευθύνονται σε σχολικές ομάδες και αναδεικνύουν τόσο τα χαρακτηριστικά της σχέσης μουσείου και σχολείου όσο και το ρόλο των εκπαιδευτικών για την επαφή των παιδιών με την πολιτιστική κληρονομιά και την καλλιέργεια ανάλογων στάσεων και δεξιοτήτων. Το σχολείο και το μουσείο, αν και διαφορετικοί θεσμοί τυπικής και άτυπης εκπαίδευσης αντίστοιχα, με διαφορετικά χαρακτηριστικά, οργάνωση και δυνατότητες, μοιράζονται κοινούς προβληματισμούς και στόχους, όπως η εκπαίδευση, η πρόσβαση στα πολιτιστικά αγαθά, η ένταξη και η ισότιμη συμμετοχή.

Η ουσιαστική εκπαιδευτική αξιοποίηση των μουσείων για τη διαμόρφωση ευκαιριών μάθησης και εμπειριών σε χώρους όπως τα μουσεία για όλα τα παιδιά, συμπεριλαμβανομένων και των μαθητών με σοβαρά προβλήματα όρασης, στηρίζεται στη γόνιμη συνεργασία μουσείου και σχολείου, στις παροχές και δράσεις των μουσείων αλλά και στις πρακτικές των εκπαιδευτικών. Η προάσπιση του δικαιώματος για ισότιμη πρόσβαση στον πολιτισμό αφορά τόσο τους εκπαιδευτικούς όσο και τους πολιτιστικούς φορείς, όπως στη συγκεκριμένη περίπτωση το σχολείο και το μουσείο. Παράλληλα, το μουσείο μπορεί να αποτελέσει ένα πλούσιο περιβάλλον μάθησης, με σημαντικά οφέλη για όλα τα παιδιά, συμπεριλαμβανομένων και των παιδιών με αναπηρίες και των παιδιών με αναπηρίες όρασης.

Μέσα σε αυτό το θεωρητικό πλαίσιο και λαμβάνοντας υπόψη τη σημασία των εκπαιδευτικών ευκαιριών και επιλογών πρόσβασης και συμμετοχής στο χώρο των μουσείων που μπορούν να αποτελούν σημαντικό παράγοντα διαμόρφωσης της σχέσης των ατόμων με τα μουσεία, την αμφίδρομη σχέση εκπαίδευσης και πολιτισμού αλλά και την αναγκαιότητα μιας ολιστικής προσέγγισης της πρόσβασης στα πολιτιστικά αγαθά των μουσείων, αυτή η διδακτορική διατριβή επικεντρώνεται στο μαθητικό πληθυσμό με αναπηρίες όρασης και στις αφετηρίες της σχέσης των παιδιών και αυριανών ενηλίκων με αναπηρίες όρασης με το μουσείο όπως αυτή μπορεί να διαμορφώνεται ή να επηρεάζεται ήδη από τη σχολική τους ζωή. Η έρευνα στηρίζεται στη συλλογή και στην επεξεργασία ποσοτικών και ποιοτικών δεδομένων από το χώρο του σχολείου και συγκεκριμένα από εκπαιδευτικούς Ειδικής Αγωγής αλλά και από το χώρο των μουσείων και συγκεκριμένα από τα Αρχαιολογικά Μουσεία, που αποτελούν την πιο σημαντική κατηγορία μουσείων της χώρας μας.

Τα αποτελέσματα της έρευνας ανέδειξαν την πολυπλοκότητα της πρόσβασης στο χώρο των μουσείων αλλά και της εκπαιδευτικής πρόσβασης και συμμετοχής των μαθητών με αναπηρίες όρασης σε πτυχές της σχολικής ζωής όπως οι επισκέψεις σε μουσεία. Οι δυνατότητες πρόσβασης και συμμετοχής των μαθητών με αναπηρίες όρασης καθορίζονται από ένα σύνολο παραμέτρων που συνδέονται με ζητήματα πλαισίου, οργάνωσης, υποδομών, γνώσης και αντιλήψεων, τόσο από την πλευρά του μουσείου όσο και από την πλευρά του σχολείου. Επιπλέον, τα αποτελέσματα της έρευνας αναδεικνύουν και την αναγκαιότητα μιας συστηματικής και συστημικής προσέγγισης της έννοιας της πρόσβασης στη βάση των αρχών της κοινωνικής προσέγγισης της αναπηρίας, του καθολικού σχεδιασμού, του καθολικού σχεδιασμού της μάθησης με σεβασμό στη διαφορετικότητα. Η πρόσβαση, η ενίσχυση και η βελτίωση της συμμετοχής των ατόμων με αναπηρίες γενικότερα αλλά και των μαθητών με αναπηρίες όρασης στον πολιτισμό και στην εκπαίδευση είναι ή θα πρέπει να είναι μία συνεχής διαδικασία που προϋποθέτει αλλαγές στη φιλοσοφία και στην οργάνωση διαφορετικών θεσμών και μακροπρόθεσμο σχεδιασμό στο πλαίσιο μιας συστηματικής πολιτικής πολιτισμού και μιας εκπαίδευσης που θα παρέχει ίσες ευκαιρίες συμμετοχής σε όλους.

Λέξεις κλειδιά: Άτομα με ολική ή μερική απώλεια όρασης, Μουσείο, Πρόσβαση, Εκπαίδευση και Πολιτισμός

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Διαμάντω Φιλιππάτου, Επίκουρη Καθηγήτρια, Εκπαιδευτική Ψυχολογία: Μαθησιακές Δυσκολίες, Παιδαγωγικό Τμήμα Δημοτικής Εκπαίδευσης, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Βασίλειος Αργυρόπουλος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Εκπαιδευτική Παρέμβαση σε Άτομα με Αναπηρία Όρασης, Παιδαγωγικό Τμήμα Ειδικής Αγωγής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Δημήτριος Γερμανός, Καθηγητής, Παιδαγωγικά: Χώρος και Αγωγή, Τμήμα Επιστημών Προσχολικής Αγωγής και Εκπαίδευσης, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Charikleia Kanari

Museums and individuals with visual disabilities: Issues of access and education in museums for children with visual disabilities

Abstract

This doctoral thesis is an interdisciplinary study in Museum Education and Special Education which explores the terms and conditions of access for individuals with visual disabilities to museums.

The theoretical origins of this study include issues such as the defense of the right of all people for access to culture and education and the recognition that access to culture is one of the most important parameters of education and social inclusion. Starting from museums, the discussion for the role of museums as institutions in the service of the society is not limited only to traditional roles such as the collection, the preservation of cultural heritage and the display

of museum collections and objects. The specific qualitative characteristics of the museum, learning and experience in museums reveal museums' significant educational role and the multiple potential learning outcomes for different individuals and groups. Furthermore, the discussion and relative studies for the social role of museums reveal their responsibility and their actual and potential contribution to social inclusion and cohesion and the combating of social inequality. The basic condition for the achievement of the above is "access". The very concept of access to museum is a central topic of intensive discussions and studies since barriers to access – and not only for people with disabilities – are multidimensional and interdependent. For people with disabilities, access to museums and participation to museums' activities is a very important topic of discussion within museums, which reflects not only changes in the philosophy of the museums, but also the influence of the social model of disability. Regarding people with visual disabilities, their access and their relationship with the museums is in contrast with one of the most important characteristics of museums: the restriction of touch and their optical-centered structure. In order to remove this barrier, museums seek to develop a variety of activities and facilitations, but people with visual disabilities still face a lot of barriers to their access to museums and their potential choices in museums.

The discussion about access also reveals the role of education and the relationship between education and access to culture. More specifically, the role of access to culture is considered as one of the most important factors in and for people's education and social inclusion, including people with disabilities. Alongside, the role of education is crucial for access and participation to culture. This kind of relationship leads to the necessity for a more holistic approach of access and reveals, among others, the relationship between museum and school. More specifically, in the case of schoolchildren, the relationship between museum and school is based on several studies as well as practices and activities on the part of the museums for schoolchildren and school community which reveal different aspects and characteristics of this relationship as well as the significant role of teachers for the education of children in aspects of cultural heritage and the cultivation of attitudes and skills regarding museums. Schools and museums, even if they are different institutions - of formal and informal education respectively - with different characteristics and structure, they share common objectives such as education, access to cultural goods, inclusion and equal participation to social life. Based on the above, the potential contribution of museums in education for all children, including those with visual disabilities, has to be constructed in a context of collaboration between schools and museums. This context includes the initiatives, the activities and the facilitations on the part of the museums but also teachers' practices which contribute to their students' opportunities for rich learning and social experiences in museums. The defense of all children's right for access and participation to culture concerns not only museums and other cultural organizations, but also schools and teachers. Furthermore, museum may be a rich learning environment with significant and multiple benefits for all children including those with visual disabilities.

In this theoretical framework and considering the role of educational opportunities and choices of access and participation, which are important factors for the shaping of individuals' relationship with the museum, the reciprocal relationship between education and culture and the necessity for an holistic approach of access to cultural goods, the doctoral thesis focuses on schoolchildren –and future adults- with visual disabilities and to factors which affect their access and relationship with the museum during their school life. The research is based on the collection of quantitative and qualitative data from schools and teachers of Special Education and from Archaeological Museums which are the most important category of museums in Greece.

The results of the research revealed the complexity of access to museums but also of educational access and participation of schoolchildren with visual disabilities in aspects of school life such as visits in museums. Access and participation of children with visual disabilities to museums is determined by a variety of parameters regarding the context of museums and schools, their structure, the availability of infrastructures, the attitudes and the level of awareness and knowledge about disability, access and Museum Education. Furthermore, the results of the research revealed the necessity of a systematic and systemic approach of access in base of the principles of the social model of disability, the universal design and the universal design for learning with respect to diversity. Access and improvement of participation of people in general and schoolchildren with visual disabilities to culture and education has to be an ongoing process which presupposes changes to philosophy and function of different institutions and levels, long term planning and a systematic policy of culture and education for equal opportunities to all.

Key words: Individuals with visual disabilities, Museum, Access, Education and Culture

Three - Member Supervisory Committee

Diamanto Filippatou, Assistant Professor, Educational Psychology: Learning Disabilities, Department of Primary Education, University of Thessaly, Greece

Vassilios Argyropoulos, Associate Professor, Educational Perspectives in the Education of Individuals with Visual Disability, Department of Special Education, University of Thessaly, Greece

Dimitrios Germanos, Professor: Space and Pedagogy, Department of Early Childhood Education, Aristotle University of Thessaloniki, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Kanari, H.**, & Argyropoulos, V. (2014). Museum educational programs for children with visual disabilities.*The International Journal of the Inclusive Museum*, *6* (3), 13 – 24.

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων–βιβλία περιλήψεων/ Publications in conference proceedings-books of abstracts

1. **Kanari, H.**, & Vemi, V. (2012). Museum educational programs for children with disabilities. Current practices in Greece. In Chr. Prachalias (Ed.), *8th International Conference of Education* (pp. 984-989). Samos Island, Greece: Greece Research of Training Institute of the East Aegean (INEAG).

2. Αργυρόπουλος, Β., & **Κανάρη, Χ.** (2011). Μουσεία και άτομα με οπτικές αναπηρίες: Μια ιδιότυπη μορφή κοινωνικού αποκλεισμού. Στο Α. Μουταβελής (Επιμ.), *Η ειδική αγωγή αφετηρία εξελίξεων στην επιστήμη και στην πράξη,2ο πανελλήνιο συνέδριο Ειδικής Αγωγής*, *Τόμος ΙΙ* (σσ. 366-374). Αθήνα: Γρηγόρης.

3. Argyropoulos, V. & **Kanari, H.** (2011). Museum and People with Visual Impairments: A Peculiar Type of Social Exclusion. In A. Moutavelis (Ed.) *Special Education as a Beginning of Developments in Science and in Practice, 2nd Panhellenic Conference of Special* Education, *Volume II* (pp. 366-374) Athens, Greece: Grigoris (in Greek).

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες Presentations in scientific conferences and meetings-workshops

1. **Kanari**, H., & Argyropoylos, V. (2013, April).*Museum educational programs for children with visual disabilities*. Paper presented at 6th International Conference on the Inclusive Museum, Copenhagen, Denmark.

2. **Kanari**, H., & Vemi, V. (2012, July). *Museum educational programs for children with disabilities. Current practices in Greece*. Paper presented at 8th International Conference on Education, Samos, Greece.

3. **Kanari**, H., Vemi, V., & Argyropoulos, V. (2012, June).*The guided visit in the museum: Experiences of people with visual impairments*. Paper presented at the In SEA 2012 European Congress, Lemesos, Cyprus.

4. **Κανάρη, Χ.** (2012, Ιούνιος). *Μουσεία και άτομα με ολική ή μερική απώλεια όρασης*. Προφορική ανακοίνωση στην ημερίδα παρουσίασης της ερευνητικής μεθοδολογίας και της προόδου των διδακτορικών διατριβών στη Σχολή Επιστημών του Ανθρώπου-Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.

   Kanari, H. (2012, June). *Museums and People with Visual Impairments.* Oral presentation in Meeting for the Presentation of the Research Methodology and Progress of Doctoral Theses, University of Thessaly, School of Humanities and Social Sciences, Volos, Greece

5. **Κανάρη, Χ.** (2012, Μάϊος). *Εκπαίδευση και πρόσβαση στα αγαθά του πολιτισμού. Επισκέψεις μαθητών ειδικού σχολείου σε μουσεία και καθημερινή σχολική πράξη.* Αναρτημένη ανακοίνωση στο Πανελλήνιο Συνέδριο «Η Ποιότητα στην Εκπαίδευση: Τάσεις και Προοπτικές» (Παιδαγωγικό Τμήμα Δημοτικής Εκπαίδευσης Πανεπιστημίου Αθηνών), Αθήνα.

   Kanari, H. (2012). *Education and access to cultural goods. Visits in museums of children from special schools and school practice*. Poster in Panhellenic Conference The Quality in Education.Trends and Perspectives, Department of Primary Education, National and Kapodistrian University of Athens, Greece.

6. Αργυρόπουλος, Β., & **Κανάρη, Χ.** (2010, Απρίλιος). *Μουσεία και άτομα με οπτικές αναπηρίες: Μια ιδιότυπη μορφή κοινωνικού αποκλεισμού*. Προφορική ανακοίνωση στο 2ο Πανελλήνιο Συνέδριο

«Η Ειδική Αγωγή Αφετηρία Εξελίξεων στην Επιστήμη και στην Πράξη»(Εταιρεία Ειδικής Παιδαγωγικής Ελλάδος), Αθήνα.

Argyropoulos, V. & **Kanari, H.**, (2010, April). *Museum and People with Visual Impairments: A Peculiar Type of Social Exclusion.* Oral presentation in 2nd Panhellenic Conference: Special Education as a Beginning of Developments in Science and in Practice (Hellenic Society of Special Pedagogy), Athens, Greece.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Χαρίκλεια Κανάρη** είναι μουσειοπαιδαγωγός και εκπαιδευτικός Ειδικής Αγωγής. Το 2004, αποφοίτησε με άριστα από το Τμήμα Μουσειοπαιδαγωγικής Εκπαίδευσης του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Το 2009, ολοκλήρωσε τις σπουδές της στο Παιδαγωγικό Τμήμα Ειδικής Αγωγής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας απ' όπου αποφοίτησε επίσης με άριστα. Πραγματοποίησε μεταπτυχιακές σπουδές στον τομέα «Σύγχρονα Περιβάλλοντα Μάθησης και Ανάπτυξη Διδακτικού Υλικού στις Ανθρωπιστικές Επιστήμες», στο Παιδαγωγικό Τμήμα Δημοτικής Εκπαίδευσης του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Έχει συνεργαστεί με διάφορους φορείς εκπαίδευσης και πολιτισμού για τον σχεδιασμό και την αξιολόγηση εκπαιδευτικών προγραμμάτων σε μουσεία, την υλοποίηση εργαστηρίων για την επιμόρφωση εκπαιδευτικών στη Μουσειακή Εκπαίδευση, κ.ά. Έχει διδακτική εμπειρία ως εκπαιδευτικός Ειδικής Αγωγής στην Πρωτοβάθμια Εκπαίδευση και από διαφορετικές εκπαιδευτικές δομές. Έχει επίσης πραγματοποιήσει διαλέξεις και μαθήματα στο πλαίσιο προπτυχιακών και μεταπτυχιακών προγραμμάτων σπουδών και προγραμμάτων δια βίου εκπαίδευσης. Έχει λάβει μέρος ως εισηγήτρια σε ελληνικά και διεθνή συνέδρια και επιστημονικές ημερίδες. Άρθρα της έχουν δημοσιευτεί σε πρακτικά ελληνικών και διεθνών συνεδρίων, σε ελληνικά και διεθνή περιοδικά και σε κεφάλαια βιβλίων. Στα επιστημονικά της ενδιαφέροντα περιλαμβάνονται ζητήματα Μουσειακής Εκπαίδευσης, πρόσβασης και ισότιμης συμμετοχής στην εκπαίδευση και στον πολιτισμό.

Short CV

Charikleia Kanari is a museum educator and a special education teacher. She graduated with honors, in 2004, from the Department of Museum Education and in 2009, from the Department of Special Education of the University of Thessaly. She also holds a M.Ed. in «Modern Learning Environments and Didactic Material Development» from the Department of Primary Education of the same university.

She has collaborated with various organizations for the development of museum educational programme, for teachers' training in Museum Education, etc. She has worked as special education teacher in Primary Education and in various educational settings. She has also taught in undergraduate and postgraduate courses and in lifelong learning programmes She has participated in Greek as well as in international conferences. She has published articles in Greek and international journals, proceedings and books. Her research interests include Museum Education, Special Education and issues of access and inclusion to museums and education.

Μαρίνα Λουάρη

Η Βιβλιοθεραπεία στην εκπαίδευση: Προετοιμασία μαθητών Δημοτικού Σχολείου για την ένταξη παιδιών με αναπηρία

Περίληψη

Η εργασία αυτή εντάσσεται στο χώρο της διερεύνησης των γνώσεων και των στάσεων των τυπικών μαθητών προς τους συμμαθητές τους με αναπηρία, καθώς, όπως έχει διαπιστωθεί, τόσο η άγνοια όσο και οι υπάρχουσες προκαταλήψεις αποτελούν αιτία κοινωνικού αποκλεισμού των μαθητών με ειδικές ανάγκες. Ειδικότερα, σκοπός αυτής της εργασίας είναι: α) Η διερεύνηση της κατανόησης των αντιλήψεων και της στάσης των μαθητών του Δημοτικού σχολείου, ηλικίας 10-12 ετών, προς την αναπηρία β) Η υλοποίηση παρέμβασης στην Δ΄ και Ε΄ τάξη, με εργαλείο παιδικά λογοτεχνικά βιβλία και στόχο την αύξηση της κατανόησης και τη διαμόρφωση θετικών στάσεων και αντιλήψεων προς την αναπηρία.

Η κοινωνική ενσωμάτωση των ατόμων με αναπηρία είναι μια μακροχρόνια διαδικασία, η οποία επιτυγχάνεται με την κοινωνική αλληλεπίδραση από την παιδική ηλικία. Η επιτυχής ένταξή τους εξαρτάται κατά ένα μεγάλο βαθμό από την αποδοχή ή όχι από τους γύρω τους και από τη μεταξύ τους θετική αλληλεπίδραση, ενώ η μη αποδοχή δημιουργεί προβλήματα συμπεριφοράς και συναισθηματικά προβλήματα, η παρουσία των οποίων έχει αρνητικά αποτελέσματα, τόσο στην επίδοση αυτών των παιδιών όσο και στην προσαρμογή τους. Καθώς το σχολείο αποτελεί σημείο συνάντησης και συνύπαρξης όλων των παιδιών, είναι καταλυτικός ο ρόλος που έρχεται να παίξει, αφενός στην επιτυχή ένταξη των μαθητών με αναπηρία, αφετέρου στην ευαισθητοποίηση των παιδιών και στην καλλιέργεια στάσεων αποδοχής προς όλους.

Παρόλο που τα αποτελέσματα διαφόρων ερευνών που αφορούν την ένταξη των μαθητών με αναπηρίες στις γενικές τάξεις είναι διφορούμενα, όπου εφαρμόστηκε συστηματική παρέμβαση ενημέρωσης για την αναπηρία με σκοπό τη διάλυση των μύθων και την κοινωνική αλληλεπίδραση μαθητών με και χωρίς αναπηρίες, αναπτύχθηκαν θετικότερες στάσεις, αφού η στάση των τυπικών μαθητών προς εκείνους με αναπηρία συνιστά σημαντικό παράγοντα όσον αφορά την ένταξη αυτών στη γενική τάξη. Επιπλέον, αν και η επαφή στο σχολείο αποτελεί σημείο εκκίνησης για την ανάπτυξη θετικών στάσεων προς την αναπηρία, είναι σημαντικό να γνωρίζουν οι εκπαιδευτικοί το είδος των στάσεων πριν την είσοδο ενός παιδιού με αναπηρία στη γενική τάξη και να κατανοούν πώς αυτές επηρεάζονται από την παροχή των πληροφοριών, αφού σύμφωνα με τα δεδομένα ερευνών, οι στάσεις των μη αναπήρων παιδιών είναι δυνατόν να αλλάξουν προς μια πιο θετική κατεύθυνση με τη συμβολή πολλαπλών και προσεκτικά σχεδιασμένων στρατηγικών παρέμβασης.

Από τη στιγμή που εφαρμόστηκε η πολιτική της ένταξης, οι στάσεις των τυπικών μαθητών προς εκείνους με αναπηρία κίνησαν το ενδιαφέρον των ερευνητών. Για να γίνουμε πιο σαφείς, κατά τη διάρκεια της τελευταίας δεκαετίας, έχουν γίνει έρευνες που αφορούν τόσο τις αντιλήψεις των παιδιών σχετικά με την έννοια της αναπηρίας όσο και την αποδοχή ενός παιδιού με αναπηρία στο πλαίσιο της γενικής τάξης και, ως επέκταση, το ενδεχόμενο ανάπτυξης φιλικών σχέσεων. Τα περιορισμένα αλλά και διφορούμενα αποτελέσματα των ερευνών που αφορούν τις στάσεις των τυπικών μαθητών προς εκείνους με αναπηρία οδηγούν στην αναζήτηση και εφαρμογή νέων τεχνικών και θεωριών για την ακριβέστερη διερεύνηση του θέματος και τη δημιουργία αποτελεσματικότερων παρεμβάσεων με σκοπό την ομαλότερη ένταξη παιδιού με αναπηρία στη γενική τάξη.

Από την άλλη πλευρά, ενώ συνεχώς γίνεται λόγος για την ένταξη των μαθητών με ήπιες μορφές αναπηρίας στα γενικά σχολεία και, σύμφωνα με αρκετούς ερευνητές, απαιτούνται μακροχρόνιες παρεμβάσεις για να υπάρξει πραγματική και με διάρκεια αλλαγή στάσεων, η ένταξη γίνεται χωρίς καμιά προετοιμασία των μαθητών. Ως αποτέλεσμα, δεκαετίες μετά την έναρξη της συζήτησης για την ένταξη παιδιών με αναπηρία στο γενικό σχολείο, δεν έχει παρατηρηθεί ουσιαστική αλλαγή. Επιπλέον, ερευνητικά δεδομένα αναφέρουν ότι η έμμεση επαφή των τυπικών μαθητών με θέματα που αφορούν την αναπηρία, πριν από την ένταξη μαθητή με αναπηρία, μπορεί να συμβάλει στην επιτυχία της ένταξης, καθώς ένα από τα πλεονεκτήματά της είναι η εφαρμογή της όταν δεν είναι παρόντα τα εκτός ομάδας μέλη. Αυτό σημαίνει ότι, αν εφαρμοστεί η παρέμβαση πριν από την ένταξη του παιδιού στη γενική τάξη, θα έχει δομηθεί ισχυρό γνωστικό υπόβαθρο πάνω στο οποίο μπορούν να διαμορφωθούν θετικές στάσεις οι οποίες θα οδηγήσουν όχι μόνο στην αποδοχή του παιδιού με αναπηρία από τους τυπικούς συμμαθητές του, αλλά και στην ανάπτυξη αλληλεπίδρασης εντός και εκτός σχολικού πλαισίου.

Αφορμώμενοι από παρόμοια δεδομένα και από-

ψεις, αποφασίσαμε να σχεδιάσουμε αυτό το πρόγραμμα, με σκοπό την ενημέρωση των μαθητών του Δημοτικού σχολείου σε θέματα που αφορούν την αναπηρία, αφού πρώτα αξιολογήθηκαν οι γνώσεις που έχουν γι' αυτό το θέμα και οι στάσεις τους προς τα άτομα με αναπηρία. Τελικός στόχος της παρέμβασης ήταν η τροποποίηση των τυχόν αρνητικών στάσεων και η αποδοχή από τους μαθητές των συνομηλίκων τους με αναπηρία. Ως μέσο για την υλοποίηση της παρέμβασης, χρησιμοποιήθηκε η παιδική λογοτεχνία με θέμα την αναπηρία μέσω της βιβλιοθεραπείας, αφενός επειδή το αντικείμενο της λογοτεχνίας είναι οικείο στους εκπαιδευτικούς της πρωτοβάθμιας εκπαίδευσης και στα παιδιά αυτής της ηλικίας (8 ως 12 ετών) αρέσει να τους διαβάζουν βιβλία, αφετέρου, επειδή μέσω της μυθοπλασίας και της συζήτησης σχετικά με αυτήν, τους δίνεται η ευκαιρία όχι μόνο να εκφράσουν αβίαστα τα βιώματά τους και τις ανησυχίες τους αλλά και να βιώσουν με έναν ιδιαίτερο τρόπο ποικίλες εμπειρίες και καταστάσεις.

Πιο συγκεκριμένα, αρχικά δόθηκε στο σύνολο του δείγματος το εργαλείο αξιολόγησης, ώστε να διερευνηθεί η προηγούμενη γνώση τους σχετικά με το θέμα της αναπηρίας, οι αντιλήψεις τους και οι διαθέσεις τους για αλληλεπίδραση και στη συνέχεια υλοποιήθηκε εκτεταμένη παρέμβαση στην πειραματική ομάδα και πολύ σύντομη στην ομάδα ελέγχου. Είχαν επιλεγεί τρία παιδικά λογοτεχνικά βιβλία και βάσει αυτών, σε συνδυασμό με τους σκοπούς της έρευνας, δομήθηκε η παρέμβαση που υλοποιήθηκε στην πειραματική ομάδα, διάρκειας οκτώ εβδομάδων. Στο τέλος, έγινε επαναξιολόγηση αμέσως μετά την ολοκλήρωση της παρέμβασης (post- test) και επαναξιολόγηση (follow-up) μετά από 4 μήνες. Επιπλέον, στο τέλος της παρέμβασης, με τυχαία επιλογή, δόθηκαν συνεντεύξεις από τους μαθητές της πειραματικής ομάδας, ώστε να έχουμε πληρέστερη εικόνα τόσο για τις αντιλήψεις των μαθητών όσο και για την επιτυχία της διαδικασίας.

Τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντική βελτίωση στο γνωστικό τομέα και στη σταθεροποίηση των στάσεων. Ως προς τη μεταβλητή «αποδοχή και ανάπτυξη φιλικών σχέσεων» παρατηρήθηκε μια διστακτικότητα παρά τη διαπίστωση θετικής στάσης. Επομένως, στην παρούσα περίπτωση η γνώση των στάσεων δεν μπορεί να μας οδηγήσει με αξιοπιστία στην πρόβλεψη της συμπεριφοράς, γιατί υπεισέρχονται αστάθμητοι παράγοντες που αλλοιώνουν το αποτέλεσμα. Αυτό το δεδομένο πρέπει να το λάβουμε σοβαρά υπόψη μας όταν πρόκειται να ενταχθεί μαθητής με αναπηρία στη γενική τάξη, ώστε να αποφευχθούν οι συνέπειες της απόρριψης και περιθωριοποίησης που παρατηρήθηκαν σε ανάλογες περιπτώσεις. Αναφορικά με τα χαρακτηριστικά υλοποίησης της παρέμβασης, οι μαθητές αξιολόγησαν θετικά το σύνολο των παραμέτρων και περισσότερο ενδιαφέρον έδειξαν για τις εικαστικές δραστηριότητες και για τα παιχνίδια ρόλων. Επίσης, παρόλο που η διάρκεια της παρέμβασης ήταν μεγάλη, κανένας μαθητής δεν πρότεινε να μειωθεί και να γίνει πιο σύντομο το πρόγραμμα. Αντιθέτως, δήλωσαν ότι επιθυμούν να επαναληφθεί, γιατί τους δόθηκε η ευκαιρία να συζητήσουν για θέματα που δε γνώριζαν και που είχαν πραγματικό ενδιαφέρον.

Εν κατακλείδι, από ανάλογες παρεμβάσεις δεν περιμένουμε θεαματικά αποτελέσματα, καθώς η τροποποίηση της συμπεριφοράς είναι μια σταδιακή διαδικασία. Χρησιμοποιούμε ποικιλία μεθόδων προσέγγισης του θέματος ώστε να εγείρεται το ενδιαφέρον των συμμετεχόντων αλλά και να διατηρείται αμείωτο καθ' όλη τη διάρκεια του προγράμματος. Μέσω όλων αυτών των δραστηριοτήτων φροντίζουμε για τη δόμηση ισχυρού γνωστικού υποβάθρου ώστε να υπάρξει θετική ενημέρωση και αποσαφήνιση των παρανοήσεων. Ως αποτέλεσμα, θεωρούμε ότι η υλοποίηση του παραπάνω προγράμματος είναι σημαντική, όχι μόνο ως μια ερευνητική πρόταση, αλλά ως πρόταση που μπορεί να εφαρμοστεί και να ενταχθεί στο σχολικό πρόγραμμα και, με τις ανάλογες κάθε φορά προσαρμογές, να καλύψει ένα ευρύ φάσμα περιπτώσεων για την τροποποίηση της συμπεριφοράς των μαθητών ως προς κάποιο συμμαθητή τους με διαφορετικότητα.

Λέξεις κλειδιά: αναπηρία, βιβλιοθεραπεία, στάσεις μαθητών, παρέμβαση

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Μαρίτα Παπαρούση, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Νεοελληνική λογοτεχνία και Διδακτική της Λογοτεχνίας, Παιδαγωγικό Τμήμα Δημοτικής Εκπαίδευσης, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Διαμάντω Φιλιππάτου, Επίκουρη Καθηγήτρια, Εκπαιδευτική Ψυχολογία : Μαθησιακές Δυσκολίες, Παιδαγωγικό Τμήμα Δημοτικής Εκπαίδευσης, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Σουζάνα Παντελιάδου, Καθηγήτρια, Ειδική Αγωγή – Μαθησιακές Δυσκολίες, Τμήμα Φιλοσοφίας και Παιδαγωγικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Marina Louari

Bibliotherapy in Education: students' preparation in order to include students with disability in elementary school

Abstract

This thesis investigates typical students' knowledge and attitudes towards their schoolmates with disabiities. Research has proven that ignorance and existing prejudices are causes for social exclusion of these students. Specifically, the aim of this thesis is: a) the investigation of understandings, perceptions and attitudes of elementary school students, 10-12 years old b) the implementation of an intervention program to Grades four and five of Elementary School. Children's Literature Books about disabilities have been used and the aim of the intervention was the augmentation of understanding, the clarification of misconceptions and the consolidation of positive attitudes.

Social inclusion of people with disabilities is a long lasting process and social interaction from early childhood has a positive impact on their attitudes. Successful inclusion depends on acceptance and positive interaction among able and disabled students. On the contrary, rejection has a negative impact on their self-image and may cause emotional and behavioural problems. School is a setting where every student has the opportunity to meet each other, make friends and have a good time. For that reason, the role of school is too important not only for disabled students' inclusion but also for typical students' sensitization and positive attitudes' construction.

Results of previous studies about disabled students' inclusion are ambiguous. However, when a well-designed intervention program is implemented, focused on accurate information about characteristics of disabilities and fostering social interaction between typical students and those with disabilities, students' attitudes are improved. In addition, teachers should be informed for students' attitudes before the inclusion, in order to prepare them cognitively and emotionally, as the very first interaction between able and disabled students is a crucial point for further interaction. Teachers should be informed for the intentions of their typical students, regarding the possibility of interaction with peers with disabilities, as previous researchers have addressed that students' attitudes can change in more positive ones, after well-designed interventions.

In the last decades, researches have been investigating not only attitudes but also students' conceptions about disability, in order to predict their intended behaviour for interaction and friendship formation. The outcomes have revealed that typical students may have positive attitudes and some of them may have negative attitudes. Because of ambiguous and short results, researchers look for new techniques in order to investigate thoroughly this sensitive topic. On the other hand, although long lasting debate for inclusion has taken place all over the world and the importance of typical students' positive attitudes has been highlighted, inclusion is finally implemented without any preparation. As a result, no change has been noticed and when a disabled student is going to attend school, possibility of rejection, isolation and sometimes bulling is most likely.

Furthermore, "indirect contact" before inclusion may contribute to the success of it, as one of its advantages is the application when out-group members are not present. This means that if indirect contact is applied before inclusion, there shall be high probability of success and if a strong cognitive background is constructed, positive attitudes may be expressed. As a consequence, acceptance may be a reality and interaction within and outside the school setting maybe a possibility.

Taking into account similar data, we decided to design this intervention in order to inform elementary school students about matters concerning disability. Before that, we had assessed their knowledge and their attitudes towards people with disabilities. The ultimate objective of this intervention was the construction of a strong cognitive background in order to change negative attitudes and improve acceptance between peers with and without disabilities. Children's literature books about disability were used and Bibliotherapy was the method. We decided to use this method because previous researchers have highlighted the effectiveness of Bibliotherapy and teachers of elementary school use Children's Literature. In addition, students have the opportunity through drama and role-playing not only to express effortlessly their anxiety and concerns, but also to experience in a special way diverse situations.

More specifically, we firstly gave the questionnaire to all students, in order to investigate their previous knowledge about the topic of disability, their concerns and their intentions for interaction. After that, we implemented the extensive intervention

in the experimental group and a very short one in the control group. We had chosen three Children's Literature books, reading and writing, art and role-playing activities were designed and the length of the intervention was eight weeks. After that, we assessed students' knowledge and attitudes again (post-test) and after four months we carried out follow-up assessment. Moreover, at the end of the intervention, randomized interviews were given by the students of the experimental group in order to have a more complete picture for both, perceptions of students and success of the intervention.

The results revealed significant improvement in the cognitive domain but not any change in the attitudes, which were positive from the beginning of the program. We highlight this outcome, because, in the control group, attitudes changed in more negative ones after the short intervention. However, reluctance was observed in the formation of friendships. Therefore, awareness of attitudes is not a key factor for the prediction of intended behaviour. For that reason, this outcome should be seriously taken into consideration, when a child with disability is going to be included in the mainstream classroom.

With regard to the characteristics of the intervention students positively assessed all the parameters and they showed more interest for art activities and role-playing. Also, even though the intervention was long lasting, no one stated that the program should become shorter. On the contrary, they stated that they wished the program would be repeated because they were given the opportunity to discuss issues, which they did not know and according to students' beliefs these issues are very interesting. These results were very encouraging and that we would like to highlight is the variety of activities in order to keep students' interest alert.

In conclusion, similar interventions do not give spectacular results, as the modification of behaviour is a gradual process. During these interventions we are looking for constructing strong cognitive background in order to provide clarification of misunderstandings and dissolution of prejudices. We believe that the implementation of this intervention program is very important not only as a research proposal, but as a proposal that can be applied and integrated into the school program.

Key words: bibliotherapy, disability, students' attitudes, intervention

Three - Member Supervisory Committee

Marita Paparousi, Associate Professor, Modern Greek Literature and Teaching of Literature, Department of Primary Education, University of Thessaly, Greece (*supervisor*)

Amanda Philippatou, Assistant Professor, Educational Psychology: Learning Difficulties, Department of Primary Education, University of Thessaly, Greece

Suzana Pandeliadou, Professor, Special Education - Learning Disabilities, Department of Philosophy and Pedagogy, Aristotle University of Thessaloniki, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within “Heraclitus II” programme

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Λουάρη, Μ.** (2012). Στάσεις και αντιλήψεις τυπικών μαθητών για την αναπηρία. *Νέα Παιδεία*, 144, 41-49

   Louari, M. (2012). Attitudes and typical students' perceptions about disability. *Nea Paidia*, 144, 41-49

2. **Louari, M.** (2013). Can typical students define the word “disability”? A pilot study about their knowledge or misconceptions. *Procedia Social and Behavioral Sciences*, 93, 699-703

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων - βιβλία περιλήψεων Publications in conference proceedings- books of abstracts

1. **Λουάρη, Μ.**, & Παπαρούση, Μ. (2012). Οι αντιλήψεις των εκπαιδευτικών πρωτοβάθμιας εκπαίδευσης ως προς την αποτελεσματικότητα της βιβλιοθεραπείας. Στο Κ. Μαλαφάντης, & Θ. Μπάκας (Επιμ.), *8ο συνέδριο της Παιδαγωγικής Εταιρείας Ελλάδος* (σελ. 2-44). Ιωάννινα: ΠΤΔΕ, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων (υπό δημοσίευση) .

   Louari, M., & Paparousi, M. (2012). The perceptions of primary school teachers on the effectiveness of Bibliotherapy. In K. Malafantis & Th. Bakas (Eds.), *8th Conference of Pedagogical Association of Greece* (pp. 2-44). Ioannina, Greece: Department of Primary Education, University of Ioannina (in press).

2. **Louari, M.**, & Paparousi, M. (2011). Young children make their own picture books in the recourse room. In N. Stellakis & M. Efstathiadou (Eds.), *European Conference, OMEP Nicosia Cyprus: Perspectives on Creativity and Learning in Early Childhood* (pp. 203-210). Cyprus: European University Cyprus

3. **Λουάρη, Μ.**, & Παπαρούση, Μ. (2009). Η βιβλιοθεραπεία στην εκπαιδευτική πράξη. Στο Α. Τριλιανός & Ι. Καράμηνας (Επιμ.), *6ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Παιδαγωγικής & Εκπαιδευτικής Έρευνας Τόμος ΙΙ*, (σελ. 241-248). Αθήνα: Ατραπός.

   Louari, M., & Paparousi, M. (2009).The Bibliotherapy in educational practice. In A. Trilianos, & I. Karaminas, (Eds.), *6th Panhellenic Conference of Greek Pedagogy and Educational Research Volume II*, (pp. 241-248). Athens, Greece: Atrapos.

4. **Louari, M.**, & Paparousi, M. (2009).Do children with disabilities have friends? In Ines Gomes, Rui Leonardo Maia (Eds.) *International Congress on Family, School and Society: "Special Education: From Theory to Practice"* (pp. 513-520). Praga, Czech Republic: University Fernado Pessoa.

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες
Presentations in scientific conferences and meetings-workshops

1. **Λουάρη, Μ.** (2013, Οκτώβριος). *Έλα να διαβάσουμε και να παίξουμε!: Ανάπτυξη δεξιοτήτων φιλίας μεταξύ τυπικών μαθητών και παιδιού με Νοητική Υστέρηση*. Προφορική ανακοίνωση στο 9ο Πανελλήνιο Συνέδριο της ΟΜΕΡ με θέμα «Δεξιότητες Ζωής: Προσωπική- κοινωνική ανάπτυξη στην προσχολική και πρώτη σχολική ηλικία», Ιωάννινα.

   Louari, M. (2013, October). *Come to read and play! : Developing friendship skills between typical students and those with learning difficulties*. Paper presented at 9th Congress of O.M.E.P. «Life Skills: Individual - social development in preschool and primary school age", Ioannina, Greece.

2. **Λουάρη, Μ.** (2012, Νοέμβριος). *Οι αντιλήψεις των εκπαιδευτικών πρωτοβάθμιας εκπαίδευσης ως προς την αποτελεσματικότητα της βιβλιοθεραπείας*. Προφορική ανακοίνωση στο 8ο Πανελλήνιο Συνέδριο «Ελληνική Παιδαγωγική & Εκπαιδευτική Έρευνα», Ιωάννινα.

   Louari, M. (2012, November). *Perceptions of primary school teachers on the effectiveness of Bibliotherapy*. Paper presented at 8th Panhellenic Conference «Greek Pedagogy and Educational Research", Ioannina, Greece.

3. **Louari, M.** (2012, October). *Can typical students define the word "disability"? A pilot study about their knowledge or misconceptions*. Paper presented at 3rd World Conference on Learning, Teaching and Educational Research Leadership, Brussels, Belgium.

4. **Louari, M.** (2012, July). *The design of an intervention program through bibliotherapy*. Paper presented at the JURE 2012 «A Learning Odyssey: Exploring new Horizons in Learning and Instruction», Regensburg, Germany.

5. **Λουάρη, Μ.** (2011, Δεκέμβριος). *Στάσεις τυπικών μαθητών απέναντι σε μαθητές με αναπηρία και σχεδιασμός προγράμματος παρέμβασης*. Προφορική ανακοίνωση στο ΙΔ΄ Διεθνές Συνέδριο Παιδαγωγικής Εταιρείας Ελλάδος, «Εκπαίδευση ατόμων με ειδικές ανάγκες, Μια πρόκληση για το σχολείο και την κοινωνία», Θεσσαλονίκη.

   Louari, M. (2011, December). *Typical students' attitudes toward students with disabilities in order to design an intervention program*. Paper presented at the XIV International Congress, Pedagogy Association of Greece, «Education of people with special needs, a challenge for the school and society", Thessaloniki, Greece.

6. **Λουάρη, Μ.**, & Παπαρούση, Μ. (2011, Μάιος). *Η δημιουργία εικονογραφημένων παιδικών βιβλίων από τα ίδια τα παιδιά στο Τμήμα Ένταξης*. Προφορική ανακοίνωση στο Συνέδριο Ο.Μ.Ε.Ρ. «Δημιουργικότητα και Μάθηση στην Πρώτη Σχολική Ηλικία», Λευκωσία, Κύπρος.

   Louari, M., & Paparousi, M. (2011, May). *Young children make their own picture books in the resource room*. Paper presented at European Congress O.M.E.R. «Creativity and Learning in primary school», Nicosia, Cyprus.

7. **Louari, M.**, & Paparousi, M. (2011, July-August). *Inclusion Literature and Bibliotherapy*. Paper presented at 17th European Conference on Reading, "Literacy and Diversity", Mons, Belgium.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Μαρίνα Λουάρη** είναι Προϊσταμένη του ΚΕΔΔΥ Μαγνησίας. Είναι δασκάλα Πρωτοβάθμιας Εκπαίδευσης (αποφοίτησε το 1987 από την Παιδαγωγική Ακαδημία Λάρισας, με βαθμό 8,64 «Λίαν Καλώς»), με μετεκπαίδευση στην Ειδική Αγωγή (2003, Μαράσλειο Διδασκαλείο Δημοτικής Εκπαίδευσης, Τμήμα Ειδικής Αγωγής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας : βαθμός 9,10 «Άριστα»).

Το 2008, έλαβε Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης στα «Σύγχρονα περιβάλλοντα μάθησης και παραγωγής εκπαιδευτικού υλικού» (βαθμός 8,83 «Άριστα») από το Παιδαγωγικό Τμήμα Δημοτικής Εκπαίδευσης του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Με υποτροφία « Ηράκλειτος ΙΙ», το 2014, ολοκλήρωσε με βαθμό «Άριστα» τη διδακτορική της διατριβή, στη γνωστική περιοχή της Ειδικής Αγωγής και Λογοτεχνίας, με θέμα: «Η Βιβλιοθεραπεία στην εκπαίδευση: Προετοιμασία μαθητών Δημοτικού σχολείου για την ένταξη παιδιών με αναπηρία» .

Γνωρίζει πολύ καλά την αγγλική γλώσσα (Επίπεδο Γ2, Test of Interactive English) κι έχει βασικές γνώσεις της γερμανικής. Έχει παρακολουθήσει επιμορφώσεις στην ειδική αγωγή που αφορούσαν τη Νοητική Υστέρηση (400 ωρών), τις Μαθησιακές Δυσκολίες (ετήσιο), το φάσμα του Αυτισμού (20 ωρών) και τα προβλήματα συμπεριφοράς (24 ωρών). Έχει συμμετάσχει σε ημερίδες με ανακοίνωση κι έχει εργαστεί ως επιμορφώτρια στα ΠΕΚ Λάρισας και Λαμίας. Επίσης, διετέλεσε πρόεδρος των ομάδων επιμόρφωσης των εκπαιδευτικών παράλληλης στήριξης. Έχει πάρει μέρος με προφορική ανακοίνωση σε ελληνικά και διεθνή συνέδρια και οι εργασίες της έχουν δημοσιευτεί σε πρακτικά συνεδρίων και σε επιστημονικά περιοδικά. Έχει διοργανώσει ημερίδες και έχει λάβει μέρος στη διοργάνωση συνεδρίου της Ψυχολογικής Εταιρείας Ελλάδος. Τέλος, έχει λάβει μέρος στην κατασκευή και στάθμιση ερευνητικών εργαλείων που αφορούν τους μαθητές με μαθησιακές δυσκολίες.

Short CV

Marina Louari is Headmaster at a Diagnostic National Centre for students with Learning Disabilities. She is a primary school teacher (1987: Degree from Teaching Academy of Larissa, grade 8.64 «Very Good»), with further training in Special Education (2003: National & Kapodistrian University of Athens, Marasleio Didaskaleio, retraining at Special Education Department of the University of Thessaly, grade 9,10 «Excellent»).

In 2008, she received a Master's Degree in «Modern learning environments and production of educational material» (grade 8.83 «Excellent») from the Department of Primary Education of the University of Thessaly. In 2014, funded by a «Heraclitus II» scholarship, she completed a PhD, with grade «Excellent», in the cognitive area of «Special Education» and «Literature» titled «The Bibliotherapy in Education: Preparing elementary school students for the integration of children with disabilities».

She speaks English fluently (Level C2, Test of Interactive English) and she has basic knowledge of German. She has attended trainings in special education concerning Mental Retardation (400 hours), Learning Disabilities (annual), the spectrum of autism (20 hours) and behavioural problems (24 hours). She has participated in meetings with announcements and has worked as a teachers' trainer at Differentiated Instruction, Individualized Educational Programmes and Students' Behavioural Problems. She has also served as president of the training groups for special education teachers .She has taken part with announcements in Greek and international conferences and her work has been published in the proceedings of conferences and in scientific journals. She has organized workshops and she has taken part in the organization of a conference by the Psychological Association of Greece. Finally, she has taken part in the construction and validation of research tools related to students with learning difficulties.

Ιωάννα Νούλα

Η έννοια της πολιτειότητας στην ελληνική πρωτοβάθμια εκπαίδευση. Η κατασκευή της έννοιας του πολίτη στο πλαίσιο των εφαρμοζόμενων παιδαγωγικών πρακτικών.

Περίληψη

Κεντρικό σκοπό της έρευνας αποτελεί η διερεύνηση και κατανόηση των παιδαγωγικών πρακτικών εντός των οποίων οι μαθητές του Δημοτικού Σχολείου οικοδομούν και υποκειμενικά νοηματοδοτούν την έννοια του πολίτη. Συγκεκριμένα, τα ερευνητικά ερωτήματα της εργασίας διατυπώθηκαν ακολούθως:

α) Ποια είναι τα χαρακτηριστικά των παιδαγωγικών πρακτικών - δυναμική και ποιότητα διυποκειμενικών σχέσεων, διδακτικές πρακτικές, παραπρόγραμμα - που δημιουργούν, άμεσα ή έμμεσα, *εμπειρίες πολιτειότητας*;

β) Ποια πρότυπα αντίληψης για την πολιτειακή σχέση παράγουν οι σχέσεις εκπαιδευτικών-μαθητών και σχολικής διοίκησης-εκπαιδευτικών αναφορικά με τα πρότυπα ιεραρχίας που εμπεριέχουν;

γ) Ποια είναι τα κριτήρια και τα περιεχόμενα με τα οποία οι μαθητές οριοθετούν και ορίζουν την έννοια του πολίτη;

δ) Πώς τοποθετούνται οι μαθητές σε θέματα της επικαιρότητας και ειδικότερα πώς διαχειρίζονται το συγκρουσιακό χαρακτήρα του πολιτικού χώρου;

Τα ερευνητικά ερωτήματα μελετώνται υπό το πρίσμα της Κριτικής Παιδαγωγικής προκειμένου να γίνουν κατανοητοί οι όροι υπό τους οποίους λειτουργεί η παιδαγωγική σχέση στο ελληνικό Δημοτικό σχολείο αλλά και ο τρόπος με τον οποίο η σχέση αυτή σήμερα διαμορφώνει τη συγκρότηση της έννοιας της πολιτειότητας από τους μαθητές, με αναφορά στην τοποθέτησή τους στο δημόσιο χώρο, στην έννοια της συμμετοχής και της διαμόρφωσης της σχέσης τους με τον άλλο, στη συνθήκη της παγκοσμιοποίησης, υπό τους όρους του νεο-φιλελευθερισμού.

Η διερεύνηση των ερευνητικών ερωτημάτων πραγματοποιήθηκε με ποιοτικές μεθόδους. Επελέγη η μέθοδος της εθνογραφικής *μελέτης περίπτωσης* και συγκεκριμένα διεξήχθη μία πολλαπλή μελέτη περίπτωσης στο πλαίσιο της οποίας επελέγησαν πέντε τμήματα Στ΄ Δημοτικού σε πέντε διαφορετικά Δημοτικά σχολεία. Η επιλογή των σχολείων πραγματοποιήθηκε με *δειγματοληψία σκοπιμότητας*, με κριτήριο το βαθμό αστικοποίησης της περιοχής της έδρας των σχολείων και το κοινωνικο-οικονομικό υπόβαθρο των μαθητών που τα σχολεία υποδέχονταν.

σχολείο	αστικής περιοχής (1)		αστικής περιοχής (2)		ημιαστικής περιοχής		αγροτικής περιοχής		ιδιωτικό	
χαρακτηριστικά σχολείου	γονείς: εργάτες, στρατιωτικοί, επαγγελματίες (62% Ρομά)		γονείς: ανώτερο μορφωτικό επίπεδο (εκπ/κοί, γιατροί)		γονείς: αγρότες, μετανάστες		γονείς: αγρότες, μετανάστες		γονείς: ανώτερο μορφωτ. & οικονομ. επίπεδο (έμποροι, γιατροί)	
μαθητές	**κ**	**α**	**κ**	**α**	**κ**	**α**	**κ**	**α**	**κ**	**α**
	11	8	11	10	6	6	7	3	8	15
	6 μαθητές Ρομά		-		4 παιδιά μη-ελληνικής εθνοτικής προέλευσης		7 παιδιά μη-ελληνικής εθνοτικής προέλευσης		-	

επιλογή περιπτώσεων

εκπαιδευτικοί			
φύλο	**σχολείο**	**χρόνια υπηρεσίας**	**εκπαίδευση/σπουδές**
Γ	ιδιωτικό	14	Ανώτατη Εκπαίδευση (Πτυχίο Κλασικής Φιλολογίας και Μεταπτυχιακό)
Α	αστικής περιοχής	25	Παιδαγωγική Ακαδημία και προσομοίωση
Α	αστικής περιοχής (μη προνομιούχο)	21	Παιδαγωγική Ακαδημία και προσομοίωση
Γ	ημιαστικής περιοχής	22	Παιδαγωγική Ακαδημία και προσομοίωση
Α	αγροτικής περιοχής	33	Παιδαγωγική Ακαδημία

Στο πλαίσιο της εφαρμογής της πολλαπλής μελέτης περίπτωσης αξιοποιήθηκαν τρεις μέθοδοι για τη συλλογή δεδομένων. Πρόκειται για τη μέθοδο της *παρατήρησης* εντός και εκτός τάξης, τη μέθοδο των *συνεντεύξεων* με τους εκπαιδευτικούς και αυτή των *εργαστηρίων* με τους μαθητές. Με τη μέθοδο της παρατήρησης επιδιώχθηκε η καταγραφή της εκπαιδευτικής πράξης και της ρουτίνας της σχολικής καθημερινότητας. Τα δεδομένα της παρατήρησης συμπληρώθηκαν από αυτά των συνεντεύξεων με τους εκπαιδευτικούς οι οποίοι κλήθηκαν να «φωτίσουν» όψεις της εκπαιδευτικής πράξης με τις δικές τους ερμηνείες.

Τέλος, καθώς μέσω της παρατήρησης δεν κατέστη δυνατό να αποσαφηνιστεί ο τρόπος με τον οποίο οι μαθητές συγκροτούν την έννοια της πολιτειότητας, αξιοποιήθηκε η μέθοδος των εργαστηρίων, στο πλαίσιο των οποίων οι μαθητές ενθαρρύνθηκαν να συζητήσουν ανοιχτά για επίκαιρα κοινωνικά ζητήματα. Η θεματολογία του υλικού που υποστήριξε τις συζητήσεις προέκυψε από ζητήματα των σύγχρονων πλουραλιστικών κοινωνιών τόσο στο μικρο-επίπεδο της τοπικής κοινωνίας όσο και στα μακρο-επίπεδα του κράτους ή των διεθνών και των υπερεθνικών οντοτήτων.

Η ανάλυση των δεδομένων που προέκυψαν από την παρατήρηση και τις συνεντεύξεις έλαβε χώρα με την αξιοποίηση της θεματικής ανάλυσης, ενώ τα δεδομένα των εργαστηρίων αναλύθηκαν με τη χρήση της μεθόδου των ερμηνευτικών ρεπερτορίων.

Όπως προέκυψε από την ανάλυση των δεδομένων της παρατήρησης και των συνεντεύξεων, δημιουργούνται εμπόδια εμπειριών πολιτειότητας σε ό,τι αφορά την ενθάρρυνση της συμμετοχής των μαθητών και την ανάπτυξη της κριτικής τους σκέψης. Το εύρημα αυτό συνδέεται μάλλον με μια σειρά δυσκολιών που οι εκπαιδευτικοί συναντούν προκειμένου να ανταποκριθούν στις απαιτήσεις που τα νέα ΔΕΠΠΣ θέτουν σχετικά με τη συγκρότηση της ιδιότητας του πολίτη στο σχολείο. Εκείνο που επίσης προέκυψε είναι ότι υπάρχει μία μετατόπιση από τις αρχές του συγχωνευμένου κώδικα που πρεσβεύουν τα νέα ΔΕΠΠΣ σε αυτές του κώδικα συλλογής. Κύρια αιτία των φαινομένων αυτών, σύμφωνα με τους εκπαιδευτικούς, αναδεικνύεται ο προσανατολισμός των γονέων στις υψηλές επιδόσεις με απώτερο στόχο την επιτυχία στις Πανελλαδικές Εξετάσεις ήδη από το Δημοτικό σχολείο. Επιπλέον ευρήματα που προέκυψαν από την ανάλυση αφορούν στην επίδραση των στάσεων των γονέων στο έργο των εκπαιδευτικών και στον τρόπο με τον οποίο ο προσανατολισμός των πρώτων στις ακαδημαϊκές επιδόσεις φαίνεται να σχετίζεται με τις δασκαλοκεντρικές/παραδοσιακές προσεγγίσεις που συχνά υιοθετούνται. Παράλληλα, διαφαίνονται συσχετισμοί του προσανατολισμού των γονέων με τη δυσκολία εκπλήρωσης της στοχοθεσίας των ΔΕΠΠΣ και ειδικότερα με την αναστολή της προσπάθειας για την προώθηση της κριτικής σκέψης.

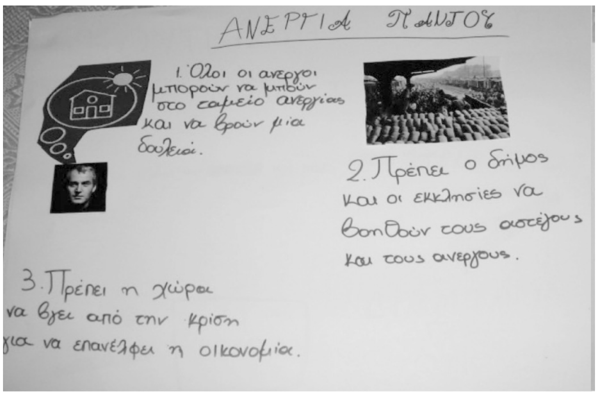
Τα ευρήματα από τα εργαστήρια έδειξαν ότι οι μαθητές πραγματοποιούν τη διάκριση πολίτη και μη-πολίτη με κριτήριο την έννοια του ανήκειν η οποία καταδεικνύει την αδυναμία κατανόησης της σημασίας της κοινωνικής αλληλεγγύης και της ενσυναίσθησης και παράλληλα μέσα από τις αφηγήσεις τους σκιαγραφούν την αποσύνδεσή τους από τη σφαίρα του πολιτικού και από τις συμμετοχικές διαδικασίες, τοποθετώντας την έννοια του «κράτους» στον αντίποδα της πολιτειότητας.

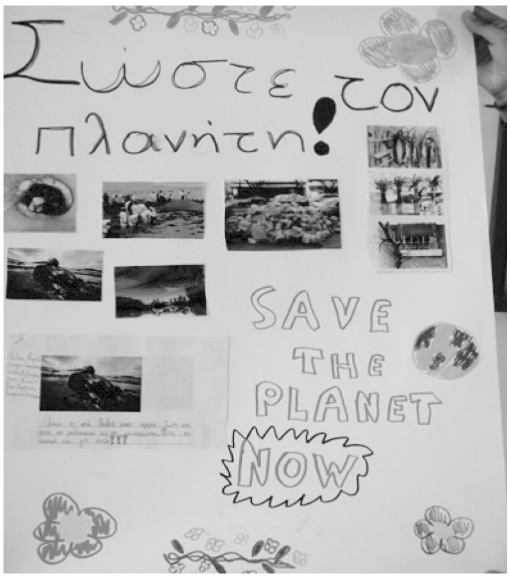
ΜΕΤΑΝΑΣΤΗΣ / ΠΡΟΣΦΥΓΑΣ *σχολεία*	**ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ**	**ΗΜΙΑΣΤΙΚΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ**	**ΑΣΤΙΚΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ** (μη-προνομιούχο)	**ΑΣΤΙΚΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ**	**ΙΔΙΩΤΙΚΟ ΣΧΟΛΕΙΟ**
ρεπερτόρια **πρόοδος** (επιδίωξη καλύτερης ποιότητας ζωής / επιβίωση)	✓				
πρόοδος («έξυπνη απόφαση»)			✓	✓	✓
φτώχεια		✓	✓	✓	✓
δικαιώματα (ανθρώπινα δικ: “δικαίωμα να μην τους εκμεταλλεύονται”)		✓	✓	✓	✓
οίκτος (“επιδρά στην ψυχολογία”)		✓	✓	✓	✓
ρατσισμός (είναι παράνομοι, καφέ, πλούσιοι κλπ.)				✓	
αποκλεισμός				✓	✓

Πίνακας 5.1 ευρήματα από την ανάλυση δεδομένων των εργαστηρίων

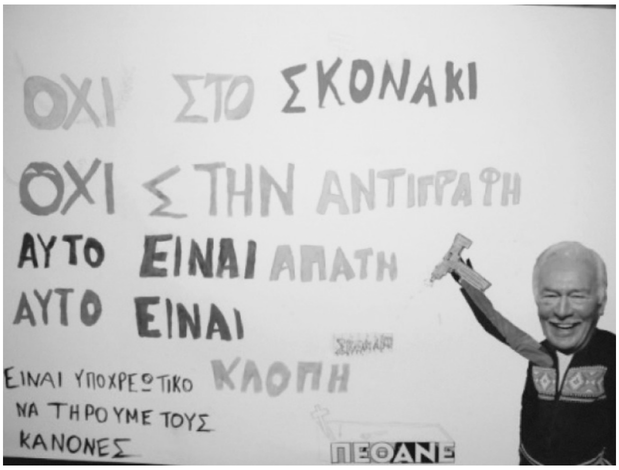
ΚΡΑΤΟΣ / *σχολεία* / *ρεπερτόρια*	ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ	ΗΜΙΑΣΤΙΚΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ	ΑΣΤΙΚΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ (μη-προνομιούχο)	ΑΣΤΙΚΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ	ΙΔΙΩΤΙΚΟ ΣΧΟΛΕΙΟ
διοίκηση	✓	✓	✓	✓	✓
κυριαρχία		✓			
ανωτερότητα		✓	✓	✓	
ταύτιση					✓
διαφθορά				✓	

Πίνακας 5.2 ευρήματα από την ανάλυση δεδομένων των εργαστηρίων

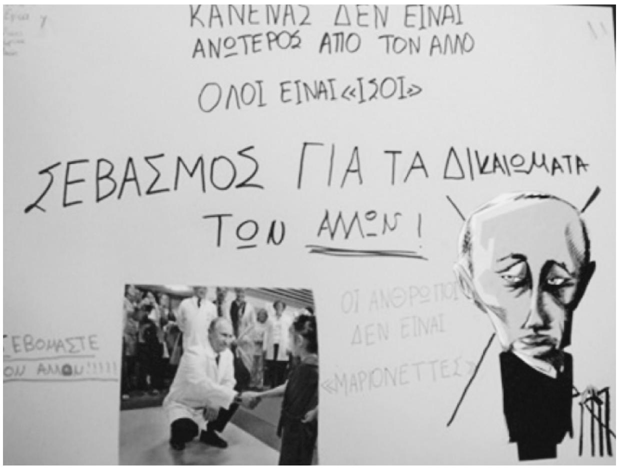




Πόστερ μαθητών σχολείου αστικής περιοχής



Πόστερ μαθητών σχολείου ημιαστικής περιοχής



Πόστερ μαθητών σχολείου αγροτικής περιοχής

Οι θέσεις που οι μαθητές υιοθετούν είναι ενδεικτικές της σύνδεσης που υπάρχει με τον τρόπο διαπαιδαγώγησής τους στους κώδικες συλλογής και στην καλλιέργεια της ψευδαίσθησης ότι το άτομο μπορεί ως μονάδα να υπάρχει και να είναι παραγωγικό στο κοινωνικό σύνολο.

Συνεπώς, όπως προκύπτει από τα ευρήματα, η σχολική τάξη λειτουργεί ως ένας μηχανισμός αλλοτρίωσης, καθώς η χειραφετητική δημοκρατική δυναμική της παιδαγωγικής σχέσης υπονομεύεται εξαιτίας ιεραρχικών διαδικασιών που καλλιεργούν σχέσεις εξάρτησης και ασυμμετρίας αλλά και λόγω του αφηρημένου χαρακτήρα της γνώσης και της αποσύνδεσής της από την πραγματικότητα.

Αυτή η υποβάθμιση των όρων εκδημοκρατισμού της εκπαιδευτικής ζωής, η οποία προκύπτει από την απουσία της διαλεκτικής μορφής διδασκαλίας που στηρίζεται στην ανταλλαγή γνώσεων, στην ενεργό συμμετοχή και στον προβληματισμό για ζητήματα που αφορούν στην επικαιρότητα, έχει ως μακροπρόθεσμη συνέπεια την αναπαραγωγή κοινωνικών δυναμικών που αφήνουν ευάλωτες κοινωνικές ομάδες εκτεθειμένες σε νοοτροπίες ρατσισμού και διακρίσεων, ενθαρρύνοντας τη δημιουργία συνθηκών κοινωνικής και οικονομικής περιθωριοποίησης.

Λέξεις κλειδιά: εκπαίδευση για την πολιτειότητα, πρωτοβάθμια εκπαίδευση, εθνογραφική μελέτη περίπτωσης, Κριτική Παιδαγωγική, παιδαγωγική πρακτική κριτική σκέψη

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Χρήστος Γκόβαρης, Καθηγητής, Διαπολιτισμική Εκπαίδευση: Θεωρία και Πράξη. Παιδαγωγικό Τμήμα Δημοτικής Εκπαίδευσης, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας (*επιβλέπων*)

Ελένη Χοντολίδου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Παιδαγωγική και Λογοτεχνική Εκπαίδευση, Τμήμα Φιλοσοφίας και Παιδαγωγικής, Φιλοσοφική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Γιασεμή-Όλγα Σαραφίδου, Καθηγήτρια, Στατιστική-Μεθοδολογία Ποσοτικής και Ποιοτικής έρευνας, Παιδαγωγικό Τμήμα Δημοτικής Εκπαίδευσης, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Ioanna Noula

The concept of citizenship in primary education in Greece. The construction of the concept of citizenship in the context of educational practices.

Abstract

This study aimed to investigate the pedagogical practices wherein primary school pupils in Greece construct and give meaning to the concept of citizenship.

In particular the research questions of the thesis were formulated as follows:

a) Which are the aspects of the pedagogical practice (dynamics and quality of intersubjective relations, teaching practices and hidden curriculum) that create, directly or indirectly, experiences of citizenship?
b) Which are the standards for civic relationships set by the relationships between teachers and pupils and those between teachers and the school administration regarding the hierarchical models they involve?

c) Which criteria and content do pupils use to define the concept of citizenship?
d) How do pupils situate themselves in relation to current affairs and in particular how do they manage the conflictual character of the political space?

Critical Pedagogy provided the theoretical framework for the exploration of the research questions and the understanding of the terms under which pedagogical relationships in the Greek primary school function. In light of the same framework there has been an attempt to depict the way in which primary school pupils construct the concept of citizenship within the limits of pedagogical relationships using as points of reference the pupils' role in the public spaces, the concept of participation and the way their relationship is being shaped with the Other in the context of globalisation.

The investigation of the research questions took place within the confines of the Qualitative Paradigm. A multiple case study was conducted which included 5-week observations in each of five Year-6 classes of five primary schools in Greece. Semi-structured interviews with the teachers of the classes where the observation took place were conducted too. The schools selected were differentiated on the basis of their socio-economic intake and urbanisation. The observation as a method of data collection sought to document the educational processes, as well as other aspects of the school routine. On the other hand, teachers' accounts from the interviews were used in order to «shed light» to the data obtained during the observation.

<table>
<tr><th>school</th><th colspan="2">urban area
(underpiviledged)</th><th colspan="2">suburban area</th><th colspan="2">semi-urban area</th><th colspan="2">rural area</th><th colspan="2">private</th></tr>
<tr><td>school features</td><td colspan="2"><u>parents</u>:
workers, military personnel, professionals
(62% Roma)</td><td colspan="2"><u>parents</u>:
high educational capital (teachers, doctors)</td><td colspan="2"><u>parents</u>:
farmers, immigrants</td><td colspan="2"><u>parents</u>:
farmers, immigrants</td><td colspan="2"><u>parents</u>:
high educational & financial capital (enterpreneurs, doctors)</td></tr>
<tr><td rowspan="3">pupils</td><td>girls</td><td>boys</td><td>girls</td><td>boys</td><td>girls</td><td>boys</td><td>girls</td><td>boys</td><td>girls</td><td>boys</td></tr>
<tr><td>11</td><td>8</td><td>11</td><td>10</td><td>6</td><td>6</td><td>7</td><td>3</td><td>8</td><td>15</td></tr>
<tr><td colspan="2">6 Roma pupils</td><td colspan="2">-</td><td colspan="2">4 pupils of non-Greek ethnic background</td><td colspan="2">7 pupils of non-Greek ethnic background</td><td colspan="2">-</td></tr>
</table>

participants (pupils)

teachers' sample			
sex	**school**	**years in service**	**training/studies**
f	private	14	Higher education degrees (BA in Greek literature and MA in linguistics)
m	suburban	25	2 year teacher training academy and teaching certificate equitation to H.Ed. degree
m	urban 60% Roma pupils enrolment	21	2 year teacher training academy and teaching certificate equitation to H.Ed. degree
f	semi-urban 12 klm. away from the nearest city (15% enrolment rate of pupils of migrant background)	22	2 year teacher training academy and teaching certificate equitation to H.Ed. degree
m	rural 40 klm. away from the nearest city (30% enrolment rate of pupils of migrant background)	33	2 year teacher training academy

participants (teachers)

Additionally, workshops with the pupils took place, as observation did not allow a clear understanding of the way in which pupils construct the concept of citizenship. The main aim of the workshops was to enable pupils articulate ways in which they conceptualise citizenship. For that purpose there has been a focus on the context of a diverse society both at the micro-level of the local community as well as the meso and the macro-levels of the state or international and supranational entities.

Observation and interview data analysis took place with the use of thematic analysis while the data obtained from the workshops were analysed using the method of interpretative repertoires.

Data from classroom observations in combination with the themes that emerged in the interviews with the teachers highlighted teachers' withdrawal from the objectives of the new Cross-thematic Curriculum Framework (DEPPS) with regard to citizenship education as they encounter a number of difficulties that hamper their work overall. The research also revealed a shift from an integrated curriculum code that the new Cross-thematic Curriculum Framework advocates with the implementation of strongly classified and framed pedagogical practices. Teachers identify parents' aspirations for their children's academic achievement as the main cause of this phenomenon.

The findings from the workshops showed that pupils distinguish between citizen and non-citizen using as a criterion the concept of belonging to a certain national group. They also illustrate the alienation of the individual from the political realm and the participatory processes as their narratives resonate a contrast between the terms 'State' and 'citizenship'.

citizen Vs. the immigrant/ the refugee

citizen Vs. IMMIGRANT/ REFUGEE / *schools*	**RURAL SCHOOL**	**SEMI-URBAN SCHOOL**	**URBAN SCHOOL** (under-privil.)	**SUBURBAN SCHOOL**	**PRIVATE SCHOOL**
repertoires					
better life (pursuit of better life standards)	✓				
better life(“smart decision”)			✓	✓	✓
rights (social rights)	✓	✓	✓	✓	
rights (“right not to be exploited”)		✓	✓	✓	✓
sorrow (“effect on psychology”)		✓	✓	✓	✓
racism (they are illegal, brown, rich etc)				✓	
public space (exclusion)				✓	✓
poverty		✓	✓	✓	✓

Findings from the workshops (a)

citizen Vs. the State

citizen Vs. **STATE** / *schools* / *repertoires*	**RURAL SCHOOL**	**SEMI-URBAN SCHOOL**	**URBAN SCHOOL** (under-privil.)	**SUBURBAN SCHOOL**	**PRIVATE SCHOOL**
administration	✓	✓	✓	✓	✓
sovereignty		✓			
superiority		✓	✓	✓	
identification with the state					✓
corruption				✓	

Findings from the workshops (b)

The positions that pupils adopted during the workshops are indicative of the link between the way they are being educated in collection curriculum codes and their development of an illusion that they may exist and be productive as alienated from the society.

Thus, as it became clear from the findings, the classroom functions as an alienation mechanism, since the dynamics of a democratic emancipatory pedagogical relationship are undermined due to hierarchical processes that foster relationships of dependency and asymmetry but also because of the abstract nature of knowledge that is being introduced within its limits.

This deterioration of the terms of democratisation of the educational life is a consequence of the absence of the dialectical form of education that is based on the exchange of knowledge, active participation and reflection on issues relating to current affairs and it results to social reproduction that leaves vulnerable social groups exposed to racism and discrimination attitudes encouraging at the same time the creation of conditions of social and economic marginalisation.

Key words: citizenship education, primary education, ethnographic case study, Critical Pedagogy, pedagogical practice, critical thinking

Three - Member Supervisory Committee

Christos Govaris, Professor, Intercultural Education, Theory and Practice, Department of Primary Education, University of Thessaly, Greece (*supervisor*)

Eleni Hodolidou, Associate Professor, Pedagogy and Literary Education, School of Philosophy and Education, Faculty of Philosophy, Aristotle University of Thessaloniki, Greece

Giasemi-Olga Sarafidou, Professor, Research Methodology, Qualitative approach, Quantitative methods and Statistical Analysistics - Quantitative and Qualitative, Department of Primary Education, University of Thessaly, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within "Heraclitus II" programme

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Noula, I.**, Cowan, S. & Govaris, Ch. (2015). Democratic Governance for Inclusion: A Case Study of a Greek Primary School Welcoming Roma Pupils. *British Journal of Educational Studies*, *63*(1), 47-66. doi: 10.1080/00071005.2014.984654

2. **Noula, I**. (2013).Children's Understanding of Citizenship in Greece. *Journal of The Association for Citizenship Teaching*, 35, 24

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες Presentations in scientific conferences and meetings - workshops

1. **Noula I.** & Govaris, Ch., (2015, June). *«Dichotomizing» citizenship: Pedagogical approaches and pupils' conceptualizations of citizenship in primary education settings in neoliberal times. Unveiling the ties. A field work research in primary schools in Greece*. Paper presented at 9th annual conference of the International Centre for Education for Democratic Citizenship, London, UK.

2. **Noula, I.**, & Şen, A. (2014, June). *The Charter on EDC/HRE and Religious Education as a compulsory subject.A mismatch? The cases of Greece and Turkey*". Poster presented at 8th Annual Conference of the International Centre for Education for Democratic Citizenship, London, UK.

3. **Noula,** I. (2013, September). *Pupils' Understandings of Citizenship. Approaching Citizenship through the Lens of Justice*. Paper presented at the EERA/ECER Conference, Istanbul, Turkey.

4. **Noula, I.** (2013, June). *Pupils' perceptions of* (*Otherness) in primary education. A case study in Greece*. Paper presented at 7th Annual Conference of the International Centre for Education for Democratic Citizenship, London, UK.

5. **Noula, I.** (2013, March). *Critical Thinking. What teachers say, what teachers do. Implications*. Paper presented at the «Democracy and Diversity in Education Conference», in Drammen, Norway. (invited speaker), ISBN: 978-82-8261-021-6 (online).

6. **Noula, I.** (2012, October). *The construction of the concept of citizenship in primary education in Greece*. Paper presented at 4th IoE-BNU Conference "Equity and Quality in Education", Beijing, China.

7. **Noula, I.** (2012, July). *Democratic Governance in a School with Roma Pupils in Greece*. Paper presented at 6th Annual Conference of the International Centre for Education for Democratic Citizenship, London, UK.

8. **Noula,** I. (2011, May). *The contemporary nation-state through the lens of the association of primary identities and citizenship*. Paper presented at 3rd South European and Mediterranean Conference on "Citizenship Identity and Culture" of CiCe/CiCea, Patras, Greece.

9. **Νούλα, Ι.** & Λουμάκου, Μ. (2009, Μάιος). *Η έννοια της εθνοτικής ποικιλομορφίας στο λόγο των μαθητών Ελληνικής και μη Ελληνικής εθνοτικής προέλευσης*. Παρουσίαση γραπτής εργασίας στο 12ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ψυχολογικής Έρευνας της Ελληνικής Ψυχολογικής Εταιρίας (Ελ.Ψ.Ε.), Βόλος.

   Noula, I. & Loumakou, M., (2009, May). *The concept of ethnic diversity in the language of pupils of Greek and non-Greek ethnic origin (project: Ethnic prejudice Acculturation and attitudes of primary school pupils)*. Paper presented at 12th Pan-Hellenic Conference of Psychological Research of the Greek Psychological Society (EL.PS.E), Volos, Greece.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Ιωάννα Νούλα** γεννήθηκε στη Λάρισα, το 1982. Αποφοίτησε από το τμήμα Φιλοσοφίας και Παιδαγωγικής του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης το 2004 και από το Παιδαγωγικό Τμήμα Δημοτικής Εκπαίδευσης (Π.Τ.Δ.Ε.) του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας το 2009. Το ακαδημαϊκό έτος 2006-2007, παρακολούθησε το μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών στην Κοινωνιολογία της Εκπαίδευσης του UCL Institute of Education. Το 2009, ξεκίνησε τη διδακτορική της διατριβή στο Π.Τ.Δ.Ε. του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, υπό την επίβλεψη του καθηγητή Χρήστου Γκόβαρη, με τη χρηματοδότηση του προγράμματος διδακτορικών υποτροφιών "Ηράκλειτος ΙΙ". Ολοκλήρωσε τις διδακτορικές της σπουδές το Δεκέμβριο του 2014. Στη διάρκεια εκπόνησης της διατριβής της παρακολούθησε το ειδικό ερευνητικό πρόγραμμα σπουδών του UCL Institute of Education, συνεργαζόμενη με τον καθηγητή Hugh Starkey,ο οποίος συνεπέβλεψε τη διατριβή της, κατά το ακαδημαϊκό έτος 2011-2012.

Το ίδιο διάστημα, συμμετείχε σε διεθνή συνέδρια στην Ελλάδα, στην Αγγλία, στην Κίνα και στη Νορβηγία. Επίσης, στη διάρκεια συγγραφής της διατριβής της, είχε την ευκαιρία να παράγει κείμενα προς δημοσίευση. Εξ αυτών δύο έχουν ήδη δημοσιευθεί σε περιοδικά με κριτές. Το πρώτο σε περιοδικό που αφορά το αντικείμενο της έρευνας και το δεύτερο σε περιοδικό ευρύτερου παιδαγωγικού ενδιαφέροντος. (*βλ. κατάλογο δημοσιεύσεων*)

Στα ερευνητικά της ενδιαφέροντα εντάσσονται η εκπαίδευση για τη δημοκρατική πολιτειότητα, η κοινωνική δικαιοσύνη, η κριτική παιδαγωγική και η εκπαίδευση των εκπαιδευτικών.

Εργάστηκε ως εκπαιδευτικός στην ιδιωτική πρωτοβάθμια εκπαίδευση από το 2009 έως το 2011.

Short CV

Ioanna Noula was born in Larissa, in 1982. In 2004, she graduated from the Department of Philosophy and Education of the Aristotle University of Thessaloniki and in 2009, from the Department of Primary Education of the University of Thessaly. She has also a background in Sociology of Education as she has done her Masters in the relevant field from the UCL Institute of Education. Her advisor was Tony Green. She has also worked as a teacher in primary education.

In 2009, she started her doctoral studies at the Department of Primary Education at the University of Thessaly. Her supervisor was Professor Christos Govaris and her research was funded by the PhD scholarship programme "Heraclitus II". She finished her doctoral studies in December 2014. While a doctoral student at the Department of Primary Education of the University of Thessaly, she also attended the Special Research Programme at the UCL Institute of Education, under the supervision of Professor Hugh Starkey.

During her doctoral studies, she participated in several international conferences that took place in Greece, in England, in China and in Norway. Moreover, her thesis writing resulted to a number of papers for publication. (*see list of publications*)

Her current research interests include education for democratic citizenship, social justice, critical pedagogy and teacher education.

Παιδαγωγικό Τμήμα Προσχολικής Εκπαίδευσης
Department of Early Childhood Education

Παρασκευή Καβαλάρη

Μελέτη των παιδαγωγικών και διδακτικών προσεγγίσεων που υιοθετούν οι εκπαιδευτικοί προσχολικής εκπαίδευσης στη διδασκαλία των Φυσικών Επιστημών

Περίληψη

Τις τελευταίες δεκαετίες, η ανάγκη για νέα Αναλυτικά Προγράμματα (στο εξής ΑΠ) και Προγράμματα Σπουδών (στο εξής ΠΣ) για την προσχολική εκπαίδευση έχει συγκεντρώσει μεγάλο ενδιαφέρον με συνέπεια την έκδοση νέων εθνικών ΑΠ σε πολλές χώρες του κόσμου. Οι μεταρρυθμίσεις των ΑΠ επηρεάζουν τη διδακτική πρακτική και διαμορφώνουν τις απόψεις των εκπαιδευτικών σχετικά με το τι συνιστά ένα νομιμοποιημένο ΑΠ. Η εκπαιδευτική πολιτική δεν είναι απλώς ένα προϊόν, αλλά μια διαδικασία, η οποία αναπτύσσεται σε 3 πλαίσια: το πλαίσιο της παραγωγής των επίσημων κειμένων, το πλαίσιο της επιρροής και το πλαίσιο της εφαρμογής. Σε επίπεδο εφαρμογής, μία πολιτική μπορεί να ερμηνευθεί κατά τρόπο που θα οδηγούσε σε επιθυμητά ή/και ανεπιθύμητα αποτελέσματα. Σε αυτό το στάδιο, η θέση των εκπαιδευτικών είναι ιδιαίτερα ενδυναμωμένη, καθώς «είναι στα χέρια τους να συναρμολογήσουν τα κομμάτια».

Η συγκεκριμένη έρευνα υποκινήθηκε από ευρήματα προηγούμενων μελετών και εμπειρικών παρατηρήσεων που αναφέρονται στην απόσταση ανάμεσα στο επίσημο και στο εφαρμοσμένο ΑΠ. Η περίπτωση της προσχολικής εκπαίδευσης είναι ιδιαίτερη, αφενός γιατί η πιστή τήρηση του ΑΠ δεν θεωρείται τυπική υποχρέωση των εν ενεργεία νηπιαγωγών, αφετέρου γιατί ο βαθμός εξοικείωσής τους με το ισχύον ΑΠ είναι πολύ διαφοροποιημένος. Τα βασικά σημεία διαφοροποίησης των νηπιαγωγών πηγάζουν από τις εκπαιδευτικές μεταρρυθμίσεις των τελευταίων 30 ετών και είναι ο χαρακτήρας των πτυχιακών τους σπουδών, ο τρόπος διορισμού τους στη δημόσια εκπαίδευση και το ΑΠ με το οποίο έχουν εκπαιδευτεί.

Το επίσημο ΑΠ για το νηπιαγωγείο είναι το Διαθεματικό Ενιαίο Πλαίσιο Προγραμμάτων Σπουδών (στο εξής ΔΕΠΠΣ) στο οποίο οι Φυσικές Επιστήμες (στο εξής ΦΕ) κατέχουν σημαντική θέση υπό την ενότητα «Μελέτη Περιβάλλοντος». Το ΔΕΠΠΣ δίνει έμφαση στα στάδια ανάπτυξης δραστηριοτήτων που περιλαμβάνουν την επιλογή υλικών με γνώμονα το διδακτικό αντικείμενο, την ανίχνευση των ιδεών των παιδιών, τον πειραματισμό με συστηματική παρατήρηση, τη διατύπωση προβλέψεων και έλεγχο αυτών και την καταγραφή ευρημάτων και εξαγωγή συμπερασμάτων.

Για τη μαθησιακή περιοχή των ΦΕ, έχει κατά καιρούς εντοπιστεί αντίσταση των εκπαιδευτικών στις αλλαγές που αφορούν στην υιοθέτηση σύγχρονων διδακτικών προσεγγίσεων και μεθόδων, στην τήρηση των νέων προσανατολισμών των ΑΠ, κλπ. και προσκόλληση σε δοκιμασμένες πρακτικές, με την υιοθέτηση ενός δασκαλοκεντρικού μοντέλου διδασκαλίας, που στηρίζεται στη μεταβίβαση της γνώσης στα παιδιά, στην αισθητηριακή προσέγγιση και στη χρήση ακατάλληλων διδακτικών τεχνικών και μέσων.

Η μελέτη αυτή επικεντρώνεται στις έννοιες της Εξαέρωσης και Βύθισης/ Επίπλευσης, οι οποίες επιλέχτηκαν ανάμεσα από άλλες έννοιες Φυσικών Επιστημών, λαμβάνοντας υπόψιν τη δημοτικότητά τους μεταξύ των υπολοίπων εννοιών που προσεγγίζονται στην προσχολική εκπαίδευση. Τα ερωτήματα της έρευνας είναι: 1) Ποια είναι τα μεθοδολογικά χαρακτηριστικά της διδακτικής προσέγγισης της Εξαέρωσης και της Βύθισης/Επίπλευσης σε προσχολικές τάξεις; Συγκλίνουν με το επίσημο ΑΠ; 2) Επηρεάζεται η διδακτική προσέγγιση από την εξοικείωση των νηπιαγωγών με το ΔΕΠΠΣ; και 3) Υπάρχει κάποια διαφοροποίηση ανάμεσα στις διδακτικές προθέσεις και στις πραγματικές στρατηγικές που ακολουθούνται;

Οι συγκεκριμένες δύο έννοιες ΦΕ επιλέχθηκαν κατά κύριο λόγο εξαιτίας της δημοτικότητάς τους μεταξύ των εννοιών των ΦΕ που προσεγγίζονται στην προσχολική εκπαίδευση. Ένας δευτερεύων λόγος είναι ότι στηρίζονται σε μεγάλο βαθμό στη διεξαγωγή

πειράματος και στο ΔΕΠΠΣ δίνεται ακριβής και λεπτομερής περιγραφή στα στάδια της πειραματικής διαδικασίας. Τα αποτελέσματα της έρευνας φανερώνουν μια τάση για υιοθέτηση πρακτικών που απομακρύνονται από τις σύγχρονες τάσεις που εκφράζονται από το ισχύον ΑΠ, ακόμα και από νηπιαγωγούς που είναι εξοικειωμένες μόνο με αυτό το ΑΠ.

Η έρευνα οργανώθηκε σε δύο φάσεις. Κατά την α' φάση, συλλέχθηκαν δεδομένα από 30 νηπιαγωγούς, μέσα από ημι-δομημένες συνεντεύξεις, για να διερευνηθεί ο τρόπος με τον οποίο οι νηπιαγωγοί συνήθως στοχεύουν να προσεγγίσουν τις δύο έννοιες ΦΕ και για να ανιχνευθεί η εξοικείωσή τους με το επίσημο ΔΕΠΠΣ. Κατά τη διάρκεια της β΄ φάσης, πραγματοποιήθηκαν 8 παρατηρήσεις διδασκαλιών, σε τάξεις νηπιαγωγείου, της προσέγγισης των δύο εννοιών. Ο στόχος των παρατηρήσεων ήταν να αποκαλυφθούν τα μεθοδολογικά χαρακτηριστικά που τελικά περιλαμβάνει η προσέγγιση των δύο εννοιών.

Η ανάλυση του περιεχομένου του καταγεγραμμένου υλικού, βασίζεται σε προκαθορισμένες και αναδυόμενες κατηγορίες. Κατά τη θεματική ανάλυση, οι αναφορές που σχετίζονται με τα μεθοδολογικά χαρακτηριστικά των δραστηριοτήτων συμπεριλήφθηκαν σε 5 βασικά θέματα: Θ1 Πλαίσιο Ένταξης της δραστηριότητας Θ2. Εισαγωγικές ερωτήσεις Θ3. Πειραματική διαδικασία Θ4. Κριτήρια επιλογής των υλικών και Θ5. Ολοκλήρωση. Κατά την εννοιολογική ανάλυση , οι αναφορές συμπεριλήφθηκαν σε δύο βασικές κατηγορίες: Κ1. Σύγκλιση και Κ2. Απόκλιση σε σχέση με το ΔΕΠΠΣ.

Τα αποτελέσματα αναδεικνύουν απόλυτη σύγκλιση με το ΔΕΠΠΣ σε σχέση με το πλαίσιο ένταξης της δραστηριότητας και για τις δύο έννοιες. Στα υπόλοιπα θέματα, η Εξαέρωση φαίνεται ότι προσεγγίζεται με πολύ τυποποιημένο τρόπο ενώ παρουσιάζει σημαντική απόκλιση η πειραματική διαδικασία. Στην περίπτωση της Βύθισης, η απόκλιση εντοπίζεται περισσότερο στην επιλογή των υλικών και στην πειραματική διαδικασία. Όσον αφορά στον παράγοντα «εξοικείωση με το ΔΕΠΠΣ», δεν εντοπίστηκε να σχετίζεται σημαντικά με τη σύγκλιση ή απόκλιση των προσεγγίσεων, εύρημα που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι σε γενικές γραμμές η προσέγγιση των δύο αυτών εννοιών πραγματοποιείται με παγιωμένα μεθοδολογικά χαρακτηριστικά που κληροδοτούνται από την μία εκπαιδευτική γενιά στην άλλη.

Λέξεις κλειδιά: εφαρμοσμένο αναλυτικό, μεθοδολογικές επιλογές νηπιαγωγών, διδασκαλία φυσικών επιστημών στο νηπιαγωγείο

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Δόμνα – Μίκα Κακανά, Καθηγήτρια, Θεωρία Προσχολικής Εκπαίδευσης, Παιδαγωγικό Τμήμα Προσχολικής Εκπαίδευσης, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Βασιλεία Χρηστίδου, Καθηγήτρια, Διδασκαλία και μάθηση εννοιών για τη φύση και το περιβάλλον, Παιδαγωγικό Τμήμα Προσχολικής Εκπαίδευσης, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Αικατερίνη Μιχαλοπούλου, Καθηγήτρια, Θεωρία και Μεθοδολογία Δραστηριοτήτων Νηπιαγωγείου, Παιδαγωγικό Τμήμα Προσχολικής Εκπαίδευσης, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Paraskevi Kavalari

Pedagogical and didactical approaches preschool teachers implement during science teaching

Abstract

During the last decade, a great deal of attention is being paid to the need for new curricula or pedagogical guidelines in early childhood education. Acknowledgement of this need has led to the publication of new national or state curricula in many countries worldwide. Curriculum reform processes influence teaching practice and shape teachers' views on what constitutes a legitimate curriculum. Educational policy is not merely a product, but rather a process which is developed in 3 contexts: the context of policy text production, the context of influence and the context of implementation. At the level of implementation, a policy can be interpreted in a way that would lead to intended and/ or unintended outcomes. At this stage, teachers are in an empowered position; it is in their hands to "put the pieces together". The experience, background, personal theory about teaching and learning of every teacher affect the way he/she will interpret –and consequently implement- educational policies.

A number of previous studies have expressed the concern that teachers often resist changing their role in the classroom, resulting to a significant inconsistency between the official curriculum and

the applied curriculum. This concern motivates this study, given a number of additional adjustments in Greek preschool education, which in the last 25 years involved the enactment of new curricula and the foundation of Pedagogical Departments at University level, with the introduction of Science Education courses. These adjustments have resulted in significant changes in the intended profile of the preschool teacher, who is expected to readily adopt contemporary teaching methods and transform innovative pedagogical premises into classroom practice. Teachers' difficulty in adopting new roles and styles has been attributed to various factors.

When it comes to science education in the Greek curriculum, it is integrated in the unit "Nature and Interaction". The approach is based on children's predictions. In this case, experiment and observation are supposed to be systematic and guide children to test their predictions and come to conclusions by discussing and recording their opinions. The teacher's role is to facilitate children's investigations by providing the appropriate equipment and embedding processes that facilitate learning (cooperative learning, symbolic representations, language etc.). This study focuses on Evaporation and Sinking/Floating, which were selected among other science concepts taking into account their popularity among the science concepts that are approached in preschool education. The research questions of the study are: 1) Which are the methodological characteristics of the didactical approach of Evaporation and Sinking/Floating in preschool classrooms? Are they consistent to the official curriculum guidelines? 2) Is the didactical approach influenced by teachers' curriculum familiarization? and 3) Is there any differentiation between didactical intentions and actual strategies?

The research is organized in two stages: During Stage 1 we collected data from 30 preschool teachers, through semi-structured interviews, to reveal the way preschool teachers usually intend to approach the two science concepts and to detect their curriculum familiarization. During stage 2 we performed 8 in-classroom systematic observations of the approach of Sinking/Floating and Evaporation. The objective of the observations was to reveal the actual methodological characteristics of the approach of the two concepts.

The content analysis of the recorded material is based on both preset and emergent categories. During the thematic analysis, the episodes that refer to the methodological characteristics of the activities were included in 5 main themes: T1. Context within which the activity is integrated T2. Introductory questions T3. Main experimental process T4. Criteria used for the selection of materials and T5. Findings and conclusions. During the conceptual analysis, the episodes were included in two main categories: C1. Consistency and C2. Inconsistency with the official curriculum.

Results show consistency with the official curriculum regarding the context within which the activity is integrated for both concepts. As far as other themes are concerned, the Evaporation approach seems to be handled in a very standardized manner while the experimental procedure is quite differentiated. In the case of Sinking/Floating, the inconsistency is detected more in the choice of materials and in the experimental procedure. Concerning the factor « curriculum familiarization", it has been not detected to be quite relevant to the consistency or inconsistency of the approaches, which leads to the result that, generally speaking, the approach of those two concepts is being carried out with vested methodological features inherited from one educational generation to another.

Key words: science teaching, early childhood education, curriculum implementation, teachers' strategies

Three - Member Supervisory Committee

Domna-Mika Kakana, Professor, Theory of Preschool Education, Department of Early Childhood Education, University of Thessaly, Greece

Vasilia Christidou, Professor, Teaching and Learning About Science and the Environment, Department of Early Childhood Education, University of Thessaly, Greece

Aikaterini Michalopoulou, Professor, Theory and Methodology of Early Childhood Activities, Department of Early Childhood Education, University of Thessaly, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within "Heraclitus II" programme

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Kavalari, P.**, Kakana, D.-M., & Christidou, V. (2014). Consistency between teaching practice and curriculum guidelines during the approach of "Sinking/Floating" in a preschool classroom; a case study. *International Journal of Early Childhood Learning*, *20*(4),1-10.
2. **Kavalari, P.,** Kakana, D.-M., & Christidou, V. (2012). Contemporary teaching methods and science content knowledge in preschool education: searching for connections. *Procedia – Social and Behavioural Studies*, 46, 3649-3654.

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων - βιβλία περιλήψεων Publications in conference proceedings-books of abstracts

1. **Καβαλάρη, Π.**, Κακανά, Δ.-Μ., Χρηστίδου, Β., & Καζέλα, Κ.(2013). Προσεγγίζοντας την εξαέρωση: διδακτικές επιλογές των νηπιαγωγών και αναλυτικό πρόγραμμα. Στο Π. Καριώτογλου & Π. Παπαδοπούλου (Επιμ.), *Υπερβαίνοντας τα όρια της τυπικής και μη εκπαίδευσης στις Φυσικές Επιστήμες και το Περιβάλλον, 7ο Πανελλήνιο Συνέδριο για τις Φυσικές Επιστήμες* (σελ. 303-308). Φλώρινα, Ελλάδα: Παιδαγωγικό Τμήμα Νηπιαγωγών, Πανεπιστήμιο Δυτικής Μακεδονίας

   http://epublishing.ekt.gr/sites/ektpublishing/files/proceedings/7o_ebook-1.pdf

   Kavalari, P., Kakana, D.-M., Christidou, V., & Kazela, K. (2013). Approaching evaporation; Preschool teachers' didactical choices and curriculum. In P. Kariotoglou & P. Papadopoulou (Eds.), *Overcoming the boundaries of official and non-official education in Science and Environmental Education, 7th National Conference on Science* (pp.303- 308). Florina, Greece: Department of Preschool Education, University of Western Macedonia.

   http://epublishing.ekt.gr/sites/ektpublishing/files/proceedings/7o_ebook-1.pdf
2. **Καβαλάρη, Π.**, & Κακανά, Δ.-Μ. (2012). Βύθιση/Πλεύση: Διδακτικές πρακτικές των νηπιαγωγών και Αναλυτικό Πρόγραμμα. Στο Σ. Πανταζής & Χ. Ζάραγκας (Επιμ.). *Η έρευνα στην παιδική ηλικία: προσδιορίζοντας ένα νέο ερευνητικό τοπίο, 3ο Διεθνές Συνέδριο Προσχολικής Αγωγής* (σελ.232-243). Ιωάννινα, Ελλάδα: Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων.

   http://www.pedagogy.gr/images/praktika-sinedriou-2014.pdf.

   Kavalari, P., & Kakana, D.-M. (2012).Sinking/Floating; Preschool teachers' teaching strategies and the curriculum. In S. Pantazis & Ch. Zaragkas (Eds.), *Research in childhood; identifying a new research landscape, 3rd International Conference of Early Childhood Education* (pp. 232-243) Ioannina, Greece: University of Ioannina. http://www.pedagogy.gr/images/praktika-sinedriou-2014.pdf.

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια - ημερίδες Presentations in scientific conferences and meetings-workshops

1. **Kavalari, P.**, Kakana, D.-M., & Christidou, V. (2014, September). *Teaching Evaporation in preschool education: do teachers implement contemporary recommendations?* Paper presented at 24th EECERA Conference, Chersonissos, Greece.
2. **Kavalari, P.** (2014, June). *Preschool teachers' pedagogical and didactical approaches in science teaching*. Paper presented at the EERA/NTNU Summer School on Educational Methodology, Trondheim, Norway.
3. **Kavalari, P.**, Kakana, D.-M., & Christidou, V. (2014, May). *Preschool teachers' personal theory and their effect on didactical approaches; the case of Sinking/Floating*. Paper presented at the ISNITE 2014, Macerata, Italy.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Παρασκευή Καβαλάρη** γεννήθηκε το 1975, στην Ερμούπολη της Σύρου. Το 1999, αποφοίτησε από το τότε Παιδαγωγικό Τμήμα Νηπιαγωγών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Έκτοτε απασχολήθηκε στο Τμήμα αυτό συμμετέχοντας σε αρκετά ερευνητικά προγράμματα. Από το 2004 ως το 2008, εργάστηκε ως γραμματέας ακαδημαϊκών θεμάτων στο Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών του Παιδαγωγικού Τμήματος Προσχολικής Εκπαίδευσης του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας «Παιδαγωγικό παιχνίδι και παιδαγωγικό υλικό στην πρώτη παιδική ηλικία», με διευθύντρια σπουδών την καθηγήτρια του ΠΤΠΕ Δόμνα Κακανά. Η διδακτορική της διατριβή με θέμα: «Μελέτη των παιδαγωγικών και διδακτικών προσεγγίσεων που υιοθετούν οι εκπαιδευτικοί προσχολικής εκπαίδευσης στη διδασκαλία των Φυσικών Επιστημών», πραγματοποιήθηκε με υποτροφία του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ». Τα τελευταία 15 χρόνια, εργασίες της έχουν δημοσιευθεί σε ελληνικά και ξένα επιστημονικά περιοδικά και έχουν παρουσιαστεί σε πολλά παιδαγωγικά συνέδρια στην Ελλάδα και στο εξωτερικό.

Short CV

Paraskevi Kavalari was born in Ermoupolis, Syros, in 1975. In 1999, she graduated from the Pedagogical Department of Preschool Education of the University of Thessaly. Since then, she has worked in this Department, participating in several research programmes. From 2004 to 2008, she worked as a secretary in academic issues in the Postgraduate programme of the PDPE «Educational Sciences: Educational Material and Pedagogical Toys», directed by Domna Kakana, Professor of PDPE. Her doctoral thesis, entitled «Preschool teachers' pedagogical and didactical approaches in science teaching» was financed by the PhD scholarship programme “Heraclitus II”. Over the last 15 years, parts of her research have been published in both Greek and foreign scientific journals and have been presented at numerous educational conferences in Greece and abroad.

Πολυξένη Μανώλη

Ανάπτυξη στρατηγικών κατανόησης γραπτού λόγου στη διδασκαλία της Αγγλικής γλώσσας στην Πρωτοβάθμια Εκπαίδευση

Περίληψη

Η έρευνα γύρω από την ανάγνωση στην ξένη γλώσσα έχει εστιάσει στη γνώση του λεξιλογίου, στην αυτοματοποιημένη ικανότητα αναγνώρισης του λεξιλογίου, στην αναγνωστική ευχέρεια, στην ανάγνωση για ευχαρίστηση, στην ενεργοποίηση της προηγούμενης γνώσης σχετικά με το περιεχόμενο του κειμένου, στη χρήση γραφικών οργανωτών, καθώς και στη χρήση των στρατηγικών κατανόησης γραπτού λόγου αλλά και στη μεταγνωστική ικανότητα, προκειμένου να επιτευχθεί αποτελεσματική κατανόηση του γραπτού λόγου (Psaltou-Joycey, 2010). Η έρευνα αυτή εστιάζει στην ανάπτυξη της κατανόησης του γραπτού λόγου, η οποία συνιστά μία από τις τέσσερεις βασικές δεξιότητες του λόγου στην Αγγλική γλώσσα και μάλιστα εκλαμβάνεται ως ενεργητική δεξιότητα, καθώς ο αναγνώστης, στην προσπάθειά του να κατανοήσει το νόημα ενός αγγλικού κειμένου, βρίσκεται σε συνεχή αλληλεπίδραση με αυτό, χρησιμοποιώντας διάφορες στρατηγικές κατανόησης γραπτού λόγου. Οι στρατηγικές κατανόησης γραπτού λόγου ορίζονται ως σκόπιμες ενέργειες, σχέδια που επιλέγονται συνειδητά από την πλευρά των αναγνωστών, ώστε να αντιμετωπίζουν δυσκολίες που προκύπτουν κατά την ενασχόλησή τους με γραπτά κείμενα, όπως είναι η αδυναμία τους να καταλάβουν τη σημασία λέξεων μέσα στο κείμενο ή να εντοπίζουν συγκεκριμένες πληροφορίες (Urquhart & Weir, 1998). Σχετική έρευνα υποστηρίζει ότι οι μαθητές/τριες χρειάζεται να διδάσκονται τη χρήση στρατηγικών κατανόησης γραπτού λόγου κατά την αλληλεπίδρασή τους με γραπτά κείμενα, ώστε να κατανοούν ευκολότερα και αποτελεσματικότερα το νόημά τους (Carrell, Pharis, & Liberto, 1989; Kern, 1989; Macaro & Erler, 2008; Song, 1998). Μέσα σε αυτό το πλαίσιο, η συγκεκριμένη έρευνα αποσκοπούσε στη διερεύνηση της αποτελεσματικότητας της διδασκαλίας ορισμένων στρατηγικών κατανόησης γραπτού λόγου στη βελτίωση της ικανότητας των μαθητών/τριών να κατανοούν και να εντοπίζουν τις απαιτούμενες κάθε φορά πληροφορίες των γραπτών κειμένων στην Αγγλική γλώσσα. Το δείγμα της έρευνας αποτέλεσαν 135 Έλληνες μαθητές Δημοτικού, ηλικίας 11 έως 12 ετών, οι οποίοι διδάσκονταν την Αγγλική ως ξένη γλώσσα. Οι στρατηγικές οι οποίες διδάχθηκαν στους μαθητές/τριες ήταν η πρόβλεψη περιεχομένου των κειμένων βάσει τίτλων, υποτίτλων και εικόνων, η χρήση σημασιολογικού χάρτη προ της ανάγνωσης του κειμένου, η διαγώνια ανάγνωση και το μάντεμα της σημασίας άγνωστων αγγλικών λέξεων από τα συμφραζόμενα. Η έρευνα περιελάμβανε μια πειραματική ομάδα, στην οποία διεξήχθη η διδασκαλία των στρατηγικών κατανόησης γραπτού λόγου για περίπου τρεις μήνες και μια ομάδα ελέγχου, η οποία διδάχθηκε την κανονική ύλη με τον πιο "παραδοσιακό" τρόπο. Ωστόσο, όλα τα άτομα συμμετείχαν στις ίδιες δοκιμασίες ελέγχου κατανόησης του γραπτού λόγου, οι οποίες δόθηκαν πριν (pretest) και μετά την παρέμβαση (posttest), καθώς και τρεις μήνες μετά την ολοκλήρωση της παρέμβασης (follow-up study), προκειμένου να διαπιστωθεί η διατήρηση των αποτελεσμάτων της παρέμβασης (Cohen, 1998; Oxford, 2011), κάτι που αποτέλεσε έναν πρόσθετο στόχο αυτής της έρευνας. Η διδακτική προσέγγιση που υιοθετήθηκε ήταν η *Άμεση Επεξήγηση*, η οποία περιλαμβάνει άμεση επεξήγηση και μοντελοποίηση των στρατηγικών εκ μέρους του εκπαιδευτικού, καθώς και καθοδηγούμενη εφαρμογή αυτών με σκοπό την εφαρμογή των στρατηγικών από τους μαθητές χωρίς τη βοήθεια του εκπαιδευτικού (Duke & Pearson, 2002; Pearson & Gallagher, 1983). Γενικότερα, η παρέμβαση ήταν γνωστικού τύπου με ταυτόχρονη ενσωμάτωση μεταγνωστικών στοιχείων, προκειμένου να ενισχυθεί η ικανότητα κατανόησης κειμένων και να γίνουν οι μαθητές/τριες αποτελεσματικοί και ανεξάρτητοι αναγνώστες. Επιπροσθέτως, εξετάστηκε το ενδεχόμενο επίδρασης του επιπέδου της αναγνωστικής ικανότητας στην επίδοση των μαθητών/τριών, καθώς και ο ρόλος του παράγοντα του φύλου στη διαμόρφωση των τελικών αποτελεσμάτων. Αξίζει να σημειωθεί ότι πριν από την έναρξη της διδακτικής παρέμβασης, πραγματοποιήθηκε αρχική συστηματική παρατήρηση στις τάξεις που αποτέλεσαν το δείγμα της έρευνας αλλά και διεξήχθη ημι-δομημένη συνέντευξη με τις δασκάλες της Αγγλικής γλώσσας των αντίστοιχων τμημάτων, προκειμένου να διαπιστωθεί αν οι μαθητές/τριες διδάσκονται στρατηγικές κατανόησης γραπτού λόγου. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της έρευνας, οι μαθητές/τριες της ΣΤ' τάξης του Δημοτικού Σχολείου δε διδάσκονταν συστηματικά την εφαρμογή στρατηγικών κατανόησης γραπτού λόγου κατά την ενασχόληση τους με γραπτά κείμενα στην Αγγλική γλώσσα. Τα ευρήματα της έρευνας έδειξαν, επίσης, ότι οι μαθητές/τριες της πειραματικής ομάδας βελτίωσαν σημαντικά την επίδοσή τους στις δοκιμασίες που χορηγήθηκαν μετά τη διδακτική παρέμβαση σε σχέση με τους μαθητές/τριες της ομάδας ελέγχου, αλλά και διατήρησαν τα αποτελέσματα της παρέμβασης τρεις μήνες μετά το πέρας αυτής. Ωστόσο, η αλληλεπίδραση ανάμεσα στους παράγοντες του επιπέδου αναγνωστικής κατανόησης και επίδοσης των μαθητών/τριών δε βρέθηκε να είναι στατιστικώς σημαντική, καθώς διαπιστώθηκε ότι όλοι οι μαθητές, ανεξάρτητα από το επίπεδο της αναγνωστικής τους ικανότητας, βελτίωσαν σημαντικά την ικανότητα κατανόησης και εντοπισμού των απαιτούμενων κάθε φορά πληροφοριών των γραπτών κειμένων στην Αγγλική γλώσσα. Παράλληλα, η συσχέτιση φύλου και επίδοσης βρέθηκε μη στατιστικώς σημαντική, εύρημα που χρήζει περαιτέρω διερεύνησης. Τα πορίσματα αυτής της έρευνας καταδεικνύουν τη συμβολή των στρατηγικών στην ενίσχυση της κατανόησης κειμένων στην Αγγλική γλώσσα και αναδεικνύουν την αναγκαιότητα της συστηματικής διδασκαλίας τους, ιδιαίτερα σε μαθητές/τριες Δημοτικού σχολείου, με σκοπό την ενεργητική εμπλοκή τους στη διαδικασία κατανόησης των απαιτούμενων κάθε φορά πληροφοριών και την εξέλιξή τους σε ικανούς, αποτελεσματικούς και ανεξάρτητους από τη σχολική τάξη αναγνώστες.

Λέξεις κλειδιά: Κατανόηση γραπτού λόγου στην Αγγλική ως ξένη γλώσσα, διδασκαλία στρατηγικών κατανόησης γραπτού λόγου, διδασκαλία της κατανόησης γραπτού λόγου, στρατηγική προσέγγιση κειμένων, μαθητές/τριες Δημοτικού σχολείου

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Μαρία Παπαδοπούλου, Καθηγήτρια, Γραμματισμοί και Διδακτική της Γλώσσας Παιδαγωγικό Τμήμα Προσχολικής Εκπαίδευσης, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας (*επιβλέπουσα*)

Παναγιώτα Μεταλλίδου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Γνωστική Ψυχολογία Τμήμα Ψυχολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Δόμνα-Μίκα Κακανά, Καθηγήτρια, Θεωρία Προσχολικής Εκπαίδευσης, Παιδαγωγικό Τμήμα Προσχολικής Εκπαίδευσης, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Polyxeni Manoli

Developing Strategic Reading in EFL Elementary Classrooms

Abstract

Second Language (L2) reading research has yielded a number of insights focusing on vocabulary knowledge, automaticity in word recognition, reading fluency, extensive reading, activation of background knowledge in relation to text content, graphic representations, use of reading strategies and metacognitive awareness, in order to ensure effective reading comprehension in the classroom (Psaltou-Joycey, 2010). This study focuses on the development of reading comprehension, one of the most important language skills, which is considered to be an active and strategic process during which readers deploy a number of reading strategies in order to construct meaning from English as a foreign language (EFL) texts. Reading strategies are regarded as deliberate actions or plans that represent a conscious response to a specific problem arisen, such as a failure to understand the meaning of a word or find the information one was looking for (Urquhart & Weir, 1998). According to L2 reading research, learners should be instructed to use reading strategies when interacting with written texts, in order to improve reading comprehension (Carrell, Pharis, & Liberto, 1989; Kern, 1989; Macaro & Erler, 2008; Song, 1998). In this context, the study aimed to investigate the effectiveness of implementing metacognitive multiple-strategy instruction on elementary EFL learners' reading performance; in particular, the sample consisted of 135, 11 to 12 year old, Greek-speaking EFL learners. The teaching intervention focused on predicting text content, using semantic maps prior to text reading, going through the text quickly (skimming), locating specific pieces of information (scanning) and guessing unfamiliar word items based on contextual clues. The study, quasi experimental in design, involved an experimental group that received a three-month strategy instruction and a control group that received no such training but participated in pretest, posttest and follow-up measurements. The instructional approach adopted in this study was *Direct Explanation* following a cycle of direct explanation of strategies, modelling, guided practice, where there is gradual transfer of responsibility from teachers to students, leading to more independent practice (Duke & Pearson, 2002; Pearson & Gallagher, 1983); the strategy instruction can be characterized as cognitive, simultaneously emphasizing the development of students' metacognitive awareness of reading comprehension with the goal of enhancing their

reading achievement and rendering them strategic and independent readers. Another aim of the study was to explore the maintenance of comprehension gains after treatment withdrawal, which constitutes one of the main aims of strategy training (Cohen, 1998; Oxford, 2011). In addition, the study intended to examine the relationship between students' reading ability level and reading performance as well as the relationship between gender and reading performance after implementing strategy instruction. Before embarking on strategy instruction, teacher interviews and classroom observations were conducted in order to investigate whether the EFL teachers of the classes that constituted the sample of this study instructed students to use reading strategies to derive text meaning. According to the results of the study, the specific EFL teachers were not involved in teaching students how to use reading strategies to construct text meaning. At the same time, the results indicated that the EFL students who received strategy training improved their performance in both the posttest and follow-up measurements in relation to the students in the control group. However, the interaction between students' reading ability level and reading performance after strategy instruction was not found to be statistically significant, as it was revealed that all students of the experimental group regardless of their reading ability level reaped great benefits from the treatment. In a similar way, the interaction between gender and reading performance was not statistically significant, which requires further research. Overall, the findings of this study suggest that EFL learners, in particular, young elementary students, should be explicitly taught to use reading strategies, while interacting with written texts, in order to become active, efficient and independent readers both inside and outside the classroom.

Key words: Multiple-reading strategy instruction, EFL reading comprehension, reading instruction, strategic reading, elementary classrooms

Three - Member Supervisory Committee

Maria Papadopoulou, Professor, Literacy and Language Acquisition, Department of Early Childhood Education, University of Thessaly, Greece (*supervisor*)

Panagiota Metallidou, Associate Professor, Cognitive Psychology Department of Psychology, Aristotle University of Thessaloniki, Greece

Domna-Mika Kakana, Professor, Theory of Preschool Education, Department of Preschool Education, University of Thessaly, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Manoli, P.** ,& Papadopoulou, M. (2013). Reading comprehension practices in Greek elementary EFL classrooms. *Journal of Applied Linguistics*, 28, 29-50.
2. **Manoli, P.**, & Papadopoulou, M. (2013).Greek students' familiarity with multimodal texts in EFL.*The International Journal of Literacies*, *19*(1), 37-46.
3. **Manoli, P.**, & Papadopoulou, M. (2012). Graphic organizers as a reading strategy: Research findings and issues. *Creative Education*, *3*(3), 348-356.
4. **Manoli, P.**, & Papadopoulou, M. (2012). Reading strategies versus reading skills: Two faces of the same coin. *Procedia-Social and Behavioral Sciences*, 46, 817-821.

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες Presentations in scientific conferences and meetings - workshops

1. **Manoli, P.** (2013, October). *A Multimodal approach to using comics in EFL* classrooms. Paper presented at 10th International Conference on Semiotics, Volos, Greece.
2. **Manoli, P.**, & Papadopoulou, M. (2013, July). *Strategic reading in multimodal texts: An application in EFL*. Paper presented at the International Conference on Education and New Learning Technologies (5th edition), Barcelona, Spain.
3. **Manoli, P.**, & Papadopoulou, M. (2013, July). *Typography, how noticeable is it? Preschoolers detecting typographic elements in illustrated books*. Paper presented at 20th International Conference on Learning, Rhodes, Greece.
4. **Manoli, P.**, & Papadopoulou, M. (2013, February). *Elementary EFL teachers' familiarity with reading strategies. Paper presented at 5th International* Conference on Educational Sciences, Rome, Italy.
5. **Μανώλη, Π.**, & Παπαδοπούλου, Μ. (2012, Μάρτιος-Απρίλιος). *Απόψεις των δασκάλων αγγλικής γλώσσας στην Πρωτοβάθμια Εκπαίδευση για τις στρατηγικές κατανόησης γραπτού λόγου*. Ανακοίνωση με τη μορφή Poster που πραγματοποιήθηκε στο 3ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γνωστικής Ψυχολογίας "Σκέψη και Μάθηση", Ιωάννινα.

   Manoli, P., & Papadopoulou, M. (2012, March-April). P*rimary EFL teachers' views on reading strategies*. Poster presented at 3rd Pan-Hellenic Conference on Cognitive Psychology, ''Cognition and Learning'', Ioannina, Greece [In Greek].

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Πολυξένη Μανώλη** κατέχει Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης στη Γλωσσοδιδακτική (υποτροφία ΙΚΥ) και είναι απόφοιτος του Τμήματος Αγγλικής Γλώσσας και Φιλολογίας του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης. Είναι συνεργάτης του μεταπτυχιακού προγράμματος ''Μεταπτυχιακή Ειδίκευση Καθηγητών Αγγλικής'' του Ελληνικού Ανοιχτού Πανεπιστημίου και διδάσκει την Αγγλική ως ξένη γλώσσα στην Τριτοβάθμια Εκπαίδευση. Έχει διδάξει γλωσσολογικά μαθήματα στο Αμερικάνικο Κολλέγιο Θεσσαλονίκης. Είναι μέλος του Εργαστηρίου ''Γλώσσας και Πολιτισμού'' του Παιδαγωγικού Τμήματος Προσχολικής Εκπαίδευσης του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Έχει συμμετάσχει σε δυο ερευνητικά προγράμματα: ''Εκπαίδευση των παιδιών Ρομά'' στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας καθώς και στο πρόγραμμα ''Έρευνα για τον αναγνωστικό εγγραμματισμό και τις αντιλήψεις των μαθητών στη Δευτεροβάθμια Εκπαίδευση στην Ελλάδα με έμφαση στους μετανάστες'' στο Ελληνικό Ανοικτό Πανεπιστήμιο, τα οποία συγχρηματοδοτούνται από την Ευρωπαϊκή Ένωση και από Εθνικούς Κοινοτικούς Πόρους. Έχει πάρει μέρος, επίσης, στο ερευνητικό πρόγραμμα ''Σχεδιασμός, ανάπτυξη και αξιολόγηση ψηφιακής πλατφόρμας για την επιμόρφωση νηπιαγωγών στο γραμματισμό'', που χρηματοδοτήθηκε από την Επιτροπή Ερευνών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Έχει αναλάβει τη θέση της γραμματέως στο 10ο Διεθνές Συνέδριο Σημειωτικής που διοργανώθηκε στο Βόλο. Τα ερευνητικά της ενδιαφέροντα περιλαμβάνουν τη διδακτική και εκμάθηση των γλωσσών, ειδικότερα τη διδακτική και εκμάθηση μιας ξένης/δεύτερης γλώσσας, την επιμόρφωση εκπαιδευτικών στη διδακτική της γλώσσας και τους πολυγραμματισμούς, τη στρατηγική προσέγγιση κειμένων, τα πολυτροπικά κείμενα και την καλλιέργεια του οπτικού γραμματισμού.

Email: pegyma@hotmail.com
Προσωπική ιστοσελίδα:
https://uth.academia.edu/PolyxeniPeggyManoli

Short CV

Polyxeni Manoli has a Master's Degree in Applied Linguistics, with a scholarship (I.K.Y) and a Bachelor's degree in English Language and Literature at Aristotle University of Thessaloniki. She has been participating in the Master Education Programme in TESOL at Hellenic Open University and she has been teaching EFL courses in tertiary education. She has taught linguistic courses at the American College of Thessaloniki. She is also a partner in the Laboratory ''Language and Culture'' of the Department of Early Childhood Education at University of Thessaly. She has participated in the following research programmes: ''Education of Roma children'' at University of Thessaly and ''Exploring reading literacy and self-beliefs in secondary schools in Greece with a focus on immigrant students'' at Hellenic Open University, which are co-funded by the European Union (European Social Fund – ESF) and Greek national funds. She has participated in the programme ''Designing, developing, and assessing a digital platform aiming to enhance nursery school teachers' literacy practices'' funded by the University of Thessaly (www.literacy.gr). She has held the position of Secretariat at the 10th International Conference on Semiotics organized in Volos, Greece. Her research interests focus on language acquisition and teaching, Foreign/Second language learning and teaching, teacher education in terms of language teaching and multiliteracies, reading strategy instruction, multimodal texts and visual literacy.

Email: pegyma@hotmail.com
Personal website:
https://uth.academia.edu/PolyxeniPeggyManoli

Παιδαγωγικό Τμήμα Ειδικής Αγωγής
Department of Special Education

Κυριακή Γ. Γιώτα

Ο ρόλος της επικοινωνίας μέσω διαδικτύου, με τη χρήση υπολογιστή, στη διαδικασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης και ανάπτυξης διαπροσωπικών σχέσεων

Περίληψη

Η ραγδαία εξέλιξη της ψηφιακής τεχνολογίας και των τηλεπικοινωνιακών δικτύων έχει πλέον, στην αυγή του 21ου αιώνα, διαποτίσει κάθε πτυχή της ανθρώπινης δραστηριότητας, ενώ η άνοδος των Μέσων Κοινωνικής Δικτύωσης (Social Media) και η καθιέρωσή τους ως νέα μέσα επικοινωνίας έχει επαναπροσδιορίσει ριζικά τον τρόπο ζωής μας, όπως η τηλεόραση και το τηλέφωνο. Οι Ιστοσελίδες Κοινωνικής Δικτύωσης όπως το Facebook, το MySpace και το Twitter, αποτελούν τα πιο πρόσφατα διαδικτυακά εργαλεία επικοινωνίας που επιτρέπουν στους χρήστες τους να δημιουργήσουν προφίλ και δίκτυα, να έχουν πρόσβαση σε προφίλ και δίκτυα άλλων και να μπορούν με αυτό τον τρόπο να αλληλεπιδρούν μεταξύ τους. Έρευνες δείχνουν ότι οι Ιστοσελίδες Κοινωνικής Δικτύωσης γίνονται οι βασικές περιοχές εξερεύνησης ταυτότητας και αυτοέκφρασης καθώς προσφέρουν την ευκαιρία στους χρήστες τους να εκπληρώσουν την ανάγκη τους για κοινωνική αναγνώριση και κοινωνική υποστήριξη, ανάγκες που δεν ικανοποιούνται πάντοτε από τον πραγματικό κοινωνικό κόσμο ενός ατόμου.

Αν και η διεθνής βιβλιογραφία αυξάνεται διαρκώς, οι κοινωνικές και ψυχολογικές επιπτώσεις των Ιστοσελίδων Κοινωνικής Δικτύωσης στην κοινωνική αλληλεπίδραση, επικοινωνία και ψυχική υγεία φαίνεται να είναι περίπλοκες και δεν έχουν ερευνηθεί επαρκώς, πόσο μάλλον στην Ελλάδα. Στόχος της διατριβής είναι η μελέτη της χρήσης των Ιστοσελίδων Κοινωνικής Δικτύωσης ως μέσου επικοινωνίας και κοινωνικής αλληλεπίδρασης, προσφέροντας πολύτιμα στοιχεία που βοηθούν στο να συμπληρώσουμε το παζλ της σχέσης του ανθρώπου με τα τεχνολογικά επιτεύγματά του. Το περιεχόμενο της εργασίας χωρίζεται σε τέσσερα βασικά μέρη.

Στο πρώτο μέρος της διατριβής παρουσιάζεται το θεωρητικό πλαίσιο και εντοπίζονται τα θέματα στα οποία εστιάζεται η έρευνα. Γίνεται επισκόπηση ενός μεγάλου όγκου ερευνών από διάφορους επιστημονικούς τομείς που μελετάνε την ανθρώπινη διάσταση της χρήσης των νέων διαδικτυακών τεχνολογιών επικοινωνίας και κοινωνικής αλληλεπίδρασης. Έμφαση δίνεται στους παράγοντες που σχετίζονται με τις ατομικές διαφορές των χρηστών, όπως τα χαρακτηριστικά προσωπικότητας (νευρωτισμός, εξωστρέφεια, δεκτικότητα στην εμπειρία, προσήνεια, ευσυνειδησία) και τα κίνητρα (διαπροσωπική ωφέλεια, ψυχαγωγία, διαφυγή, διαχείριση ελεύθερου χρόνου, διευκόλυνση) που οδηγούν στη χρήση τους, καθώς και στους παράγοντες που σχετίζονται με την ψυχική υγεία, όπως η ύπαρξη προβληματικής χρήσης και καταθλιπτικής συμπτωματολογίας. Επιπλέον, διερευνώνται η ποιότητα και δύναμη των διαπροσωπικών σχέσεων στο Διαδίκτυο, χαρακτηριστικά τα οποία περιγράφονται από το βαθμό αυτοαποκάλυψης και συναισθηματικής οικειότητας, καθώς και το πώς επηρεάζουν οι προαναφερθέντες παράγοντες την αντιλαμβανόμενη κοινωνική υποστήριξη που δέχονται τα άτομα μέσα από τις διαδικτυακές αλληλεπιδράσεις τους.

Στο δεύτερο μέρος παρουσιάζεται η ερευνητική μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε για τη διεξαγωγή της έρευνας και σκιαγραφείται το προφίλ του δείγματος. Συνοπτικά, η δημιουργία του δείγματος πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της συμπτωματικής δειγματοληψίας που βασίζεται στη συλλογή ατόμων που είναι άμεσα διαθέσιμοι να συμμετέχουν στην έρευνα σε εθελοντική βάση. Η συγκέντρωση πρωτογενών στοιχείων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση ερωτηματολογίων αυτοαναφοράς που είχαν μεταφραστεί και προσαρμοστεί στην ελληνική γλώσσα με τη μέθοδο της αντίστροφης μετάφρασης και η συμπλήρωση τους διαρκούσε σαράντα περίπου λεπτά. Αποτελούνταν από ερωτήσεις πολλαπλών επιλογών, 5βάθμιες τύπου Likert και 7βάθμιες κλίμακες Likert, καθώς και απαντήσεις «Σωστό/ Λάθος». Στην έρευνα αυτή, συμμετείχαν πεντακόσιοι (500) νεαροί ενήλικες που χρησιμοποιούσαν μια ή περισσότερες Ιστοσελίδες Κοινωνικής Δικτύωσης, από τους οποίους το 45.6% ήταν άνδρες και το 54.4% γυναίκες, μεταξύ 18 και 34 ετών (*Μ.Ο.*= 24.5, *Τ.Α.*= 4.57). Η συντριπτική πλειοψηφία των ερωτηθέντων (97.4%) επέλεγαν το Facebook ως την Ιστοσελίδα που χρησιμοποιούσαν πιο συχνά, ενώ σχεδόν οι μισοί χρησιμοποιούσαν πολλαπλές Ιστοσελίδες Κοινωνικής Δικτύωσης, με δεύτερη σε συχνότητα επιλογής το Twitter (20%).

Εξαιρετικό ενδιαφέρον παρουσίασε το γεγονός ότι αν και η πλειοψηφία των χρηστών (87.4%) δήλωνε ότι είχε κατά μέσο όρο πάνω από 300 άτομα διαδικτυακούς «φίλους», ο αριθμός των ατόμων με τους οποίους αλληλεπιδρούσαν σε καθημερινή βάση δεν υπερέβαινε τους δέκα (*Μ.Ο.*=9.9, *Τ.Α.*=4.16). Τέλος, ένα μεγάλο ποσοστό (72.2%) δήλωσαν ότι η χρήση μιας Ιστοσελίδας Κοινωνικής Δικτύωσης δεν άλλαξε ιδιαίτερα τις σχέσεις τους με τους άλλους ανθρώπους, ενώ μόνο ένα 2.6% δήλωσε ότι οι κοινωνικές τους σχέσεις εκτός διαδικτύου μειώθηκαν.

Στο τρίτο μέρος πραγματοποιείται στατιστική ανάλυση των συλλεχθέντων δεδομένων και παρουσιάζονται τα ερευνητικά αποτελέσματα. Αν και τα ερωτηματολόγια που χρησιμοποιήθηκαν δεν είχαν σταθμιστεί στην Ελλάδα, τα αποτελέσματα των παραγοντικών αναλύσεων ήταν ικανοποιητικά και ως ένα βαθμό αντίστοιχα με αυτά των κατασκευαστών τους. Συνοπτικά, τα ευρήματα της έρευνας έδειξαν ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές σχέσεις ανάμεσα στις μεταβλητές της έρευνας, δηλαδή, τα χαρακτηριστικά προσωπικότητας, τα κίνητρα, την ποιότητα διαδικτυακών σχέσεων, την αναζήτηση κοινωνικής υποστήριξης, την καταθλιπτική συμπτωματολογία και την προβληματική χρήση. Από τα πιο ενδιαφέροντα συμπεράσματα ήταν το γεγονός ότι δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ ανδρών και γυναικών στην καταθλιπτική συμπτωματολογία. Αναφορικά με την προβληματική χρήση ιστοσελίδων, υψηλότερα σκορ παρουσίαζαν οι κάτοικοι αγροτικών περιοχών σε σχέση με τους κατοίκους αστικών περιοχών και οι άντρες φοιτητές σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες του δείγματος. Η ύπαρξη καταθλιπτικής συμπτωματολογίας αποτελούσε ισχυρό προβλεπτικό παράγοντα της αυτοαποκάλυψης σε Ιστοσελίδες Κοινωνικής Δικτύωσης, ενώ η ύπαρξη προβληματικής χρήσης αποτελούσε προβλεπτικό παράγοντα της συναισθηματικής οικειότητας. Οι άντρες φαίνεται να αναζητούν κοινωνική υποστήριξη στο διαδίκτυο περισσότερο από τις γυναίκες. Τέλος, με τη χρήση της πολυμεταβλητής τεχνικής των Μοντέλων Δομικών Εξισώσεων, εξετάστηκαν ταυτόχρονα όλες οι εξαρτημένες γραμμικές σχέσεις μεταξύ των διαστάσεων των ερευνητικών μεταβλητών ως προς την αναζήτηση διαδικτυακής υποστήριξης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι παράγοντες της προσωπικότητας (νευρωτισμός, εξωστρέφεια, δεκτικότητα στην εμπειρία και προσήνεια) και τα κίνητρα χρήσης ιστοσελίδων (ψυχαγωγία, διαφυγή, διαχείριση ελεύθερου χρόνου και διευκόλυνση) προβλέπουν το βαθμό αυτοαποκάλυψης και συναισθηματικής οικειότητας που μπορεί να δημιουργηθεί, ενώ παράλληλα η ύπαρξη της καταθλιπτικής συμπτωματολογίας ως διαμεσολαβητικού παράγοντα ενισχύει την αναζήτηση κοινωνικής υποστήριξης σε μια Ιστοσελίδα Κοινωνικής Δικτύωσης.

Τέλος, στο τέταρτο και τελευταίο μέρος, γίνεται συζήτηση των αποτελεσμάτων, περιγράφονται τα τελικά συμπεράσματα, οι περιορισμοί και γίνονται προτάσεις για μελλοντικές έρευνες. Οι κυριότεροι περιορισμοί της έρευνας είναι η μέθοδος δειγματοληψίας που δεν επιτρέπει τη θεώρηση του δείγματος ως αντιπροσωπευτικό του πληθυσμού των νεαρών ενηλίκων της Ελλάδας, τα ερωτηματολόγια αυτόαναφοράς και η συσχετιστική σχέση των αποτελεσμάτων που δεν επιτρέπει τη δημιουργία σχέσεων «αιτίας – αποτελέσματος». Ωστόσο, τα αποτελέσματα προσφέρουν γόνιμο έδαφος για μελλοντικές έρευνες. Συζητούνται ζητήματα που αφορούν στην επικαιροποίηση του Κώδικα Δεοντολογίας και στη σημασία εκπαίδευσης ψυχολόγων και συμβούλων πάνω στις νέες τεχνολογίες επικοινωνιών και στα Μέσα Κοινωνικής Δικτύωσης. Έρευνες αξίζει να εστιαστούν στο γεγονός ότι Κοινωνικά Μέσα Δικτύωσης όπως το Facebook γίνονται χώρος αυτοαποκάλυψης καταθλιπτικών συναισθημάτων, αλλά και χώρος διαδικτυακής ανακοίνωσης αυτοκτονιών. Ενδιαφέρον αποτελεί το κατά πόσο οι Ιστοσελίδες Κοινωνικής Δικτύωσης μπορούν να τονώσουν τα υπάρχοντα δίκτυα υποστήριξης και να δημιουργήσουν νέες, εναλλακτικές ευκαιρίες για αναζήτηση βοήθειας για π.χ. άτομα με αναπηρίες ή μακροχρόνια άνεργους. Τέλος, είναι σημαντικό να εξερευνηθούν τα διαφορετικά μέσα με τα οποία οι νεαροί ενήλικες έχουν πρόσβαση σε Social Media, όπως η χρήση smartphones και tablets και οι τρόποι με τους οποίους θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σε σημαντικούς τομείς της ψυχικής υγείας, είτε ως μέσα πληροφόρησης και έρευνας, είτε στη δημιουργία και τήρηση προγραμμάτων παρέμβασης και θεραπείας.

Λέξεις κλειδιά: Ιστοσελίδες Κοινωνικής Δικτύωσης, Κοινωνική Υποστήριξη, Προσωπικότητα, Κίνητρα, Κατάθλιψη, Ποιότητα Διαδικτυακών Σχέσεων

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Γιώργος Κλεφτάρας, Αναπληρωτής Καθηγητής, Κλινική Ψυχολογία – Ψυχοπαθολογία, Παιδαγωγικό Τμήμα Ειδικής Αγωγής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας (*επιβλέπων*)

Αναστάσιος Σταλίκας, Καθηγητής, Μεθοδολογία Έρευνας στην Κλινική Ψυχολογία, Τμήμα Ψυχολογίας, Πάντειο Πανεπιστήμιο

Μαρία Μαλικιώση – Λοΐζου, Ομότιμη Καθηγήτρια, Συμβουλευτική Ψυχολογία, Τμήμα Εκπαίδευσης και Αγωγής στην Προσχολική Ηλικία, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Kyriaki G. Giota

The role of computer-mediated internet communication on online social interactions and interpersonal relationships

Abstract

The rapid development of digital technology and telecommunications networks has, in the dawn of the 21st century, permeated every aspect of human activity. Meanwhile, the rise of Social Media has radically redefined our lives in such ways that could only be compared to the introduction of television and the telephone. Social Networking Sites such as Facebook, MySpace and Twitter, are the latest online communication tools that allow users to create profiles and networks, access other profiles and networks and socially interact with other users. Research shows that Social Networking Sites are the key areas for self-expression and identity exploration, as well as for offering users the opportunity to meet their needs for social recognition and social support, needs that are not always met in a person's offline social world.

Even though international literature is rapidly increasing, the social and psychological impact of Social Networking Sites regarding social interaction, communication and mental health appear to be complicated and not sufficiently investigated. This doctoral dissertation aims to offer valuable insights that add to the puzzle of the growing relationship between man and his technological achievements. Our goal is to study the use of Social Networking Sites in Greece as a means of interpersonal interaction and social support. The content of this dissertation is divided into four main parts.

In order to examine the human dimension of these new online communication and social interaction technologies, the first part focuses on the theoretical framework created from a large volume of research from various disciplines, identifies the basic research issues and presents the study hypotheses. Emphasis is placed on factors related to individual differences, such as personality traits (neuroticism, extraversion, openness to experience, agreeableness, conscientiousness) and motivations (interpersonal utility, entertainment, escape, pass time, convenience) that affect the use of Social Networking Sites, as well as factors that are related to mental health issues, such as the existence of problematic Social Networking Site usage and depressive symptomatology. Furthermore, we investigate the quality and strength of online interpersonal relationships, as measured by the reported degree of self-disclosure and emotional intimacy and how these factors affect the attraction to social support that can be received through online interactions.

The second part of the dissertation describes the research methodology used to conduct this investigation and outlines the profile of our sample. In summary, the method of convenience sampling was utilised to create our sample by collecting individuals who volunteered and were available to participate in this research. The self-report questionnaires used to collect primary data were translated, adapted into the Greek language and revised through back-translations. They consisted of multiple choice questions, 5point Likert-type and 7point Likert scales, as well as «True/ False» answers that take approximately 40 minutes to complete. The sample consisted of five hundred (500) young adults, who used one or multiple Social Networking Sites, 45.6% male and 54.4% female, between the ages of 18 and 34 (*M*=24.5, *SD*= 4.57). The vast majority of the respondents (97.4%) chose Facebook as the website that they used more frequently, while almost half of them were using multiple Social Networking Sites with Twitter being the second in line of preference (20%). An interesting finding was that although the majority of users (87.4%) stated that they had, on average, more than 300 people as online «friends», they chose to interact with no more that ten (*M*=9.9, *SD*=4.16) on a daily basis. Finally, a large percentage of participants (72.2%) stated that the use of a Social Networking Site did not significantly change their social relationships with other people, however, that was not the case for 2.6% of the sample stating that their social relationships offline decreased.

In the third part, we display the statistical analyses of collected data and the research results. Even though the measures used in this research have not been studied in the Greek population, the results of their factorial structure based on our sample were satisfactory and similar to those of their manufacturers. The study's findings showed that there are statistically significant relationships among personality traits, motivation, online relationship quality, attraction to online social support, depressive symptomatology and problematic Social Networking Site usage. It is important to highlight that despite previous research findings, there were no statistically significant differences between men and

women with regards to depressive symptomatology. Regarding problematic use, participants from rural areas exhibited significantly higher scores than those of urban residents, as well as male students compared to the other groups of our sample. The presence of depressive symptoms was a strong predictor of self-disclosure in Social Networking Sites, while the existence of problematic usage was a predictor of emotional intimacy. Men were attracted to seeking social support online more than women. Furthermore, applying the multivariate technique of Structural Equation Modelling, we tried to simultaneously examine all the dependent linear relationships between the dimensions of research variables with regards to attraction to online social support. Results indicated that the personality factors of neuroticism, extraversion, openness to experience and agreeableness, together with the motives of entertainment, escape, pass time and convenience can predict the degree of self-disclosure and emotional intimacy, while the existence of depressive symptomatology as a mediating factor enhances attraction to online social support found in Social Networking Sites.

In the fourth and last part of the dissertation, we discuss the results and restrictions, and make recommendations for future research. To sum up, the results of the present study were limited by the self-report questionnaires and the correlational nature of the results that did not allow “cause and effect” conclusions. Furthermore, another limitation was the convenience sample used in this study that was not representative of the general population of young adults in Greece and therefore the results should be interpreted with caution. In spite of the above limitations, the results of the present study have some important implications for future research. We discuss updating the Code of Ethics, together with the importance of educating psychologists and counsellors regarding new communication technologies and social media. Future research should focus on the fact that Social Media have become a venue for people to disclose online depressive feelings and announce possible suicide attempts. It could be interesting to study whether Social Networking Sites can empower existing support networks and create new alternative opportunities to seek help for e.g. people with disabilities or long-term unemployed. Experimental methods could further explore the way that young people use Social Media technology and whether the mediums they use (e.g. smartphones and tablets with mobile applications) can be adapted into psychological interventions and research, particularly in important areas of mental health, such as anxiety, depression and suicide prevention.

Key words: Social Networking Sites, Social Support, Personality, Motivation, Depressive symptomatology, Relationship quality

Three - Member Supervisory Committee

George Kleftaras, Associate Professor, Clinical Psychology – Psychopathology, Department of Special Education, University of Thessaly, Greece (*supervisor*)

Anastasios Stalikas, Professor, Research Methods in Clinical Psychology, Department of Psychology, Panteion University of Social and Political Sciences, Greece

Maria Malikiosi – Loizos, Professor Emeritus, Counselling Psychology School of Education, Faculty of Early Childhood Education, National and Kapodistrian University of Athens, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme “Heraclitus II”

Άρθρα σε περιοδικά
Articles in journals

1. **Giota, K. G**., & Kleftaras, G. (2014). Mental Health Apps: Innovations, Risks and Ethical Considerations. *E-Health Telecommunication Systems and Networks*, 3, 19-23. SciRes. DOI: 10.4236/etsn.2014.33003.

2. **Giota, K. G.**, & Kleftaras, G. (2014). The Discriminant Value of Personality, Motivation and Online Relationship Quality in Predicting Attraction to Online Social Support on Facebook. *International Journal of Human Computer Interaction, 30*(12), 985-994. DOI: 10.1080/10447318.2014.925770

3. **Giota, K. G.**, & Kleftaras, G. (2013). The role of personality and depression in problematic use of social networking sites in Greece. Cyberpsychology: *Journal of Psychosocial Research on Cyberspace*, *7*(3), article 6. DOI: 10.5817/CP2013-3-6

Κεφάλαια σε συλλογικά έργα / Book chapters

1. **Giota, K. G.**, & Kleftaras, G. (2014). Cyberpsychology and Social Media: Online Social Support in Mental Health. In P. Kommers, P. Isaias & T. Issa (Eds.), *Perspectives on Social Media*: *A Yearbook* (pp.56-63). London: Routledge. ISBN-13: 9780415854160

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων – βιβλία περιλήψεων
Publications in conference proceedings – books of abstracts

1. **Giota, K. G.**, & Kleftaras, G. (2014). Social Media and Counselling: Opportunities, Risks and Ethical Considerations. *World Academy of Science, Engineering and Technology, International Science Index 92, International Journal of Social, Management, Economics and Business Engineering*, *8*(8), 8 - 10.
2. **Giota, K. G.** & Kleftaras, G. (2013). Facebook Social Support: a comparative study on Depression and Personality characteristics. In P. Kommers & C. Gauzente (Eds.), *IADIS International Conference*: *ICT, Society and Human Beings 2013* (pp. 37-44). Prague, Czech Republic: *International* Association of Development of the Information Society.
3. **Γιώτα, Κ. Γ.** (2013). Κοινωνική Δικτύωση και Αναπηρία: Ενδυνάμωση και Ζητήματα Αποκλεισμού. Στο Κ. Σιώμος & Γ. Φλώρος (Eds.), *2ο Πανελλήνιο Συνέδριο «E-LIFE 2011: Οφέλη και Κίνδυνοι στη Χρήση του Διαδικτύου»* (σελ. 188-193). Θεσσαλονίκη: Ελληνική Εταιρεία Μελέτης της Διαταραχής Εθισμού στο Διαδίκτυο.

   Giota, K. G. (2013). Social Networking and Disability: Empowerment and Social Exclusion. In K. Siomos & G. Floros (Eds.), *2nd Pan-Hellenic Interdisciplinary Conference: «E-LIFE 2011» of the Hellenic Association for the Study of Internet Addiction Disorder* (pp. 188-193). Thessaloniki, Greece: Hellenic Association for the Study of Internet Addiction Disorder.
4. **Γιώτα, Κ. Γ.** (2011). Ιστοσελίδες Κοινωνικής Δικτύωσης και Διαπροσωπικές Σχέσεις. Στο Κ. Σιώμος & Γ. Φλώρος (Eds.), *1ο Πανελλήνιο Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Μελέτης της Διαταραχής Εθισμού στο Διαδίκτυο «Έρευνα, Πρόληψη, Αντιμετώπιση των Κινδύνων στη Χρήση του Διαδικτύου»* (σελ. 63-66). Λάρισα: Ελληνική Εταιρεία Μελέτης της Διαταραχής Εθισμού στο Διαδίκτυο.

   Giota, K. G. (2011). Social Networking Sites and Interpersonal Relationships. In K. Siomos & G. Floros (Eds.), *1st Pan-Hellenic Interdisciplinary Conference of the Hellenic Association for the Study of Internet Addiction Disorder* (pp. 63-66). Larissa, Greece: Hellenic Association for the Study of Internet Addiction Disorder.

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες
Presentations in scientific conferences and meetings - workshops

1. **Giota, K. G.**, & Kleftaras, G. (2015, July). *Embracing Mental Health mobile apps in counselling and psychotherapy*. Paper presented at 14th European Congress of Psychology: “Linking technology and psychology: feeding the mind, energy for life”, European Federation of Psychologists’ Associations (EFPA), Milan, Italy.
2. **Γιώτα, Κ. Γ.** (2015, Ιούνιος). *Ο Ρόλος της Επικοινωνίας μέσω Διαδικτύου, με τη Χρήση Υπολογιστή, στη Διαδικασία Κοινωνικής Αλληλεπίδρασης και Ανάπτυξης Διαπροσωπικών Σχέσεων: Σύνοψη.* Εισήγηση στην 4η Επιστημονική Συνάντηση Υποψηφίων Διδακτόρων του Π.Τ.Ε.Α., Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.

   Giota, K. G. (2015, June). *The role of computer-mediated internet communication on online social interactions and interpersonal relationships: Synopsis*. Paper presented at 4th Annual Scientific Meeting of Doctoral Candidates in the Department of Special Education, University of Thessaly, Volos, Greece.
3. **Γιώτα, Κ. Γ.,** & Κλεφτάρας, Γ. (2015, Μάιος). *Κοινωνική Υποστήριξη μέσω Διαδικτύου και Προβληματική χρήση Ιστοσελίδων Κοινωνικής Δικτύωσης στην περίοδο της Οικονομικής Κρίσης: Κατάθλιψη, Ανεργία και Διαφορές Φύλου*. Προφορική ανακοίνωση στο 15ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ψυχολογικής Έρευνας: «Η Ψυχολογία στην Ελλάδα και τη Μεσόγειο», ΕΛ.Ψ.Ε., Λευκωσία, Κύπρος.

   Giota, K. G., & Kleftaras, G. (2015, May). *Online Social Support and Problematic Social Networking Site usage in the Economic Crisis: Depressive symptomatology, unemployment and gender differences*. Paper presented at 15th National Congress of the Hellenic Psychological Society titled Psychological Research: “Psychology in Greece and the Mediterranean”, Nicosia: Cyprus.

4 **Γιώτα, Κ. Γ.** & Κλεφτάρας, Γ. (2015, Μάρτιος). *Επαγγελματίες ψυχικής υγείας και Mobile apps: mHealth & Δεοντολογικοί προβληματισμοί στην εκπαίδευση ψυχολόγων*. Προφορική ανακοίνωση στο 4ο Πανελλήνιο Διεπιστημονικό Συνέδριο: Ψυχική Υγεία, Τεχνολογία & Τηλεματικές Εφαρμογές, Ομπρέλα, Αθήνα.

Giota, K. G., & Kleftaras, G. (2015, March). *Mental Health professionals and Mobile apps: mHealth & Ethical considerations regarding training future psychologists*. Paper presented at 4th Mental Health Innovation Forum of Obrela, Athens, Greece.

5. **Γιώτα, Κ. Γ.**, & Κλεφτάρας, Γ. (2014, Νοέμβριος). *Κατάθλιψη και κυβερνο-ψυχολογία: δεοντολογικοί προβληματισμοί για επαγγελματίες ψυχικής υγείας*. Προφορική ανακοίνωση στο 5ο Πανελλήνιο Συνέδριο Συμβουλευτικής Ψυχολογίας «Συμβουλευτική ψυχολογία: Σύγχρονες τάσεις, μελλοντικοί προσανατολισμοί», ΕΛ.Ψ.Ε., Πάτρα.

Giota, K. G., & Kleftaras, G. (2014, November). *Depression and Cyber-psychology: Ethical considerations for mental health professionals*. Paper presented at 5th National Congress of Counselling Psychology of the Hellenic Psychological Society, Patras, Greece.

6. **Giota, K. G.**, & Kleftaras, G. (2014, August). *Social Media and Counselling: Opportunities, Risks and Ethical Considerations*. Paper presented at the ICPA 2014: International Conference on Psychology and Applications, World Academy of Science, Engineering and Technology, Amsterdam, the Netherlands.

7. **Γιώτα, Κ. Γ.** (2014, Ιούνιος). *Ο Ρόλος της Επικοινωνίας μέσω Διαδικτύου, με τη Χρήση Υπολογιστή, στη Διαδικασία Κοινωνικής Αλληλεπίδρασης και Ανάπτυξης Διαπροσωπικών Σχέσεων: Μια σύντομη ματιά πριν τον επίλογο*. Εισήγηση στην 3η Επιστημονική Συνάντηση Υποψηφίων Διδακτόρων του Π.Τ.Ε.Α., Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.

Giota, K. G. (2014, June). *The role of computer-mediated internet communication on online social interactions and interpersonal relationships: A quick look before the epilogue*. Paper presented at 3rd Annual Scientific Meeting of Doctoral Candidates in the Department of Special Education, University of Thessaly, Volos, Greece.

8. **Γιώτα, Κ. Γ.**, & Κλεφτάρας, Γ. (2013, Νοέμβριος). *Κατάθλιψη & Facebook: Αναζητώντας Κοινωνική Υποστήριξη στο Διαδίκτυο.* Προφορική ανακοίνωση στο 3ο Πανελλήνιο Διεπιστημονικό Συνέδριο με Διεθνή συμμετοχή E-LIFE 2013: Πρόληψη και Αντιμετώπιση Διαδικτυακών Συμπεριφορών Υψηλού Κινδύνου, Ελληνική Εταιρεία Μελέτης της Διαταραχής Εθισμού στο Διαδίκτυο, Αθήνα.

Giota, K. G. & Kleftaras, G. (2013, November). *Depression & Facebook: Seeking Social Support Online*. Paper presented at 3rd Pan-Hellenic Interdisciplinary Conference of the Hellenic Association for the Study of Internet Addiction Disorder "E-LIFE 2013", Athens, Greece.

9. **Giota, K. G.** & Kleftaras, G. (2013, September). *Seeking social support on Facebook: a study on depression and personality characteristics – Implications for counselors*. Paper presented at the IAC World Conference 2013 & XIIth National Congress of Psychological Counselling and Guidance – Counselling Technology Use: Real Lives Virtual Contexts, Istanbul, Turkey.

10. **Giota, K. G.**, & Kleftaras, G. (2013, July). *Facebook social support: a comparative study on depression and personality characteristics*. Paper presented at the Multiconference Computer Science and Information Systems 2013 of the International Association for Development of the Information Society – IADIS: ICT, Society and Human Beings, Prague, Czech Republic.

11. **Γιώτα, Κ. Γ.** (2013, Ιούνιος). *Ο Ρόλος της Επικοινωνίας μέσω Διαδικτύου, με τη Χρήση Υπολογιστή, στη Διαδικασία Κοινωνικής Αλληλεπίδρασης και Ανάπτυξης Διαπροσωπικών Σχέσεων: Νέα Δεδομένα*. Εισήγηση στη 2η Επιστημονική Συνάντηση Υποψηφίων Διδακτόρων του Π.Τ.Ε.Α., Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.

Giota, K. G. (2013, June). *The role of computer-mediated internet communication on online social interactions and interpersonal relationships: New Data*. Paper presented at 2nd Annual Scientific Meeting of Doctoral Candidates in the Department of Special Education, University of Thessaly, Volos, Greece.

12. **Γιώτα, Κ. Γ.**, & Κλεφτάρας, Γ. (2013, Μάιος). *Κατάθλιψη και Οικονομική Κρίση: Προβληματική χρήση Ιστοσελίδων Κοινωνικής Δικτύωσης και Κοινωνική. Υποστήριξη μέσω Διαδικτύου – Επιπτώσεις στη Συμβουλευτική.* Προφορική ανακοίνωση στο 14ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ψυχολογικής Έρευνας «Η Ψυχολογία σε κρίσιμους καιρούς», ΕΛ.Ψ.Ε., Αλεξανδρούπολη.

Giota, K. G., & Kleftaras, G. (2013, May). *Depression and Economic Crisis: Problematic Social Networking Site usage and Online Social*

Support – Implications for Counsellors. Paper presented at 14th National Congress of Psychological Research of the Hellenic Psychological Society, Alexandroupolis, Greece.

13. **Γιώτα, Κ. Γ.**, & Κλεφτάρας, Γ. (2012, Νοέμβριος). *Σχέση Κατάθλιψης, Χαρακτηριστικών Προσωπικότητας και Προβληματικής Χρήσης Ιστοσελίδων Κοινωνικής Δικτύωσης*. Προφορική ανακοίνωση στο 4ο Πανελλήνιο Συνέδριο Συμβουλευτικής Ψυχολογίας: ο ρόλος της συμβουλευτικής ψυχολογίας σε συνθήκες κρίσης, ΕΛ.Ψ.Ε., Θεσσαλονίκη.

    Giota, K. G., & Kleftaras, G. (2012, November). *Depressive symptomatology, Personality Characteristics and Problematic use of Social Networking Sites*. Paper presented at 4th National Congress of Counselling Psychology of the Hellenic Psychological Society, Thessaloniki, Greece.

14. **Γιώτα, Κ. Γ.** (2012, Σεπτέμβριος). *Ο Ρόλος της Επικοινωνίας μέσω Διαδικτύου, με τη Χρήση Υπολογιστή, στη Διαδικασία Κοινωνικής Αλληλεπίδρασης και Ανάπτυξης Διαπροσωπικών Σχέσεων*. Εισήγηση στην 1η Επιστημονική Συνάντηση Υποψηφίων Διδακτόρων του Π.Τ.Ε.Α., Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.

    Giota, K. G. (2012, September). *The role of computer-mediated internet communication on online social interactions and interpersonal relationships*. Paper presented at 1rst Annual Scientific Meeting of Doctoral Candidates in the Department of Special Education, University of Thessaly, Volos, Greece.

15. **Γιώτα, Κ. Γ.** (2012, Ιούνιος). *Ο Ρόλος της Επικοινωνίας μέσω Διαδικτύου, με τη Χρήση Υπολογιστή, στη Διαδικασία Κοινωνικής Αλληλεπίδρασης και Ανάπτυξης Διαπροσωπικών Σχέσεων*. Εισήγηση στην Ημερίδα παρουσίασης της Ερευνητικής Θεματολογίας και της Προόδου των Διδακτορικών Διατριβών που εκπονούνται στο πλαίσιο του «Ηράκλειτος ΙΙ», Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.

    Giota, K. G. (2012, June). *The role of computer-mediated internet communication on online social interactions and interpersonal relationships*. Paper presented at the 1rst Scientific Meeting on Research Thematology and Progress of Doctoral Dissertations in the School of Humanities funded by the Ph.D. Scholarship Program “Heraclitus II”, University of Thessaly, Volos, Greece.

16. **Γιώτα, Κ. Γ.** (2011, Απρίλιος). *Κοινωνική Δικτύωση και Αναπηρία: Ενδυνάμωση και Ζητήματα Αποκλεισμού*. Προφορική ανακοίνωση στο 2ο Πανελλήνιο Διεπιστημονικό Συνέδριο με Διεθνή Συμμετοχή «E-LIFE 2011: Οφέλη και Κίνδυνοι στη Χρήση του Διαδικτύου», Ελληνική Εταιρεία Μελέτης της Διαταραχής Εθισμού στο Διαδίκτυο, Θεσσαλονίκη.

    Giota, K. G. (2011, April). *Social Networking and Disability: Empowerment and Social Exclusion*. Paper presented at 2nd Pan-Hellenic Interdisciplinary Conference: «E-LIFE 2011» of the Hellenic Association for the Study of Internet Addiction Disorder, Thessaloniki, Greece.

17. **Γιώτα, Κ. Γ.** (2009, Νοέμβριος). *Ιστοσελίδες Κοινωνικής Δικτύωσης και Διαπροσωπικές Σχέσεις*. Προφορική ανακοίνωση στο 1ο Πανελλήνιο Διεπιστημονικό Συνέδριο για την Έρευνα – Πρόληψη – Αντιμετώπιση των Κινδύνων στη Χρήση του Διαδικτύου, Ελληνική Εταιρεία Μελέτης της Διαταραχής Εθισμού στο Διαδίκτυο, Λάρισα.

    Giota, K. G. (2009, November). *Social Networking Sites and Interpersonal Relationships*. Paper presented at 1st Pan-Hellenic Interdisciplinary Conference of the Hellenic Association for the Study of Internet Addiction Disorder, Larissa, Greece.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Κυριακή Γ. Γιώτα** σπούδασε Ψυχολογία στο Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης και ολοκλήρωσε το πρόγραμμα μεταπτυχιακής ειδίκευσης (M.Sc.) στη Συμβουλευτική και Θεραπευτική Επικοινωνία στο Πανεπιστήμιο Ulster της Μ. Βρετανίας. Είναι Διδάκτορας του Παιδαγωγικού Τμήματος Ειδικής Αγωγής στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας και έχει λάβει υποτροφία για την έρευνά της από το πρόγραμμα διδακτορικών υποτροφιών «Ηράκλειτος ΙΙ». Η διδακτορική της διατριβή με τίτλο: «Ο Ρόλος της Επικοινωνίας μέσω Διαδικτύου, με τη Χρήση Υπολογιστή, στη Διαδικασία Κοινωνικής Αλληλεπίδρασης και Ανάπτυξης Διαπροσωπικών Σχέσεων» εστιάζεται στην ανθρώπινη συμπεριφορά σε διαδικτυακά περιβάλλοντα, με έμφαση κυρίως στις κοινωνικές αλληλεπιδράσεις και στις διαπροσωπικές σχέσεις σε Ιστοσελίδες Κοινωνικής Δικτύωσης όπως το Facebook.

Έχει εργαστεί ως Ψυχολόγος στη Μη-Κυβερνητική Οργάνωση Άρσις – Κοινωνική Οργάνωση Υποστήριξης Νέων, παρέχοντας συμβουλευτική υποστήριξη σε άτομα από ευπαθείς κοινωνικά ομάδες και συμμετείχε σε Ευρωπαϊκά προγράμματα ανταλλαγής καλών πρακτικών (Socrates/ Grundtvig) με θέματα αλφαβητισμού, ανάπτυξης κοινωνικών δεξιοτήτων και επανένταξης φυλακισμένων. Με διδακτική εμπειρία σε Δημόσια Ι.Ε.Κ. και στη Σχολή Μονίμων Υπαξιωματικών (Σ.Μ.Υ.), από το 2009 δραστηριοποιείται ως εκπαιδεύτρια στις Σχολές Γονέων του Ιδρύματος Νεολαίας και Δια Βίου Μάθησης (Ι.ΝΕ.ΔΙ.ΒΙ.Μ.).

Έχει συμμετάσχει σε μεγάλο αριθμό συνεδρίων στην Ελλάδα και στο εξωτερικό, με πρωτότυπες ανακοινώσεις, οι οποίες έχουν δημοσιευθεί σε ελληνικά και διεθνή πρακτικά συνεδρίων. Επιπλέον, έχει δημοσιεύσει ένα κεφάλαιο στο ξενόγλωσσο βιβλίο «Perspectives on Social Media: A Yearbook» του εκδοτικού οίκου Routledge και τρία άρθρα σε διεθνή επιστημονικά περιοδικά με κριτές (International Journal of Human Computer Interaction, Cyberpsychology: Journal of Psychosocial Research on Cyberspace, & E-Health Telecommunication Systems and Networks).

Τα ερευνητικά της ενδιαφέροντα επικεντρώνονται σε θέματα όπως η κατάθλιψη, η αναζήτηση κοινωνικής υποστήριξης σε Social Media και Ιστοσελίδες Κοινωνικής Δικτύωσης, καθώς και η χρήση των mobile apps στην ψυχική υγεία, τη συμβουλευτική και την ψυχοθεραπεία.

Short CV

Kyriaki G. Giota studied Psychology at the Aristotle University of Thessaloniki and has a Master's Degree in Counselling and Therapeutic communication from Ulster University, U.K. She completed her doctorate in the Department of Special Education at the University of Thessaly, Greece and her research was funded by the Ph.D scholarship programme "Heraclitus II". Her doctoral dissertation is titled: "The role of computer-mediated internet communication on online social interactions and interpersonal relationships" and focuses on social interactions and interpersonal relationships in Social Networking Sites, such as Facebook.

She has worked as a Psychologist for the Non-Governmental Organization Arsis – Association for the Social Support of Youth, counselling individuals from vulnerable social groups and participating in European Partnership Programmes (Socrates/ Grundtvig) on Literacy and Life Skills in Prison, as well as Resettlement Issues for inmates. She has teaching experience in public Institutes of Vocational Training (DIEK) and in the Non-Commissioned Officer Army Academy (SMY). Since 2009, she has been working as an animator/ coach in the Parent Education Groups of the Youth and Lifelong Learning Foundation (INEDIVIM).

She has participated in a large number of Greek and international conferences with oral presentations that have been published in Greek and international conference proceedings. She is the co-author of a chapter in a book titled «Perspectives on Social Media: A Yearbook» published by Routledge. Furthermore, her three articles have been published in international scientific peer-reviewed Journals (International Journal of Human Computer Interaction, Cyberpsychology: Journal of Psychosocial Research on Cyberspace, & E-Health Telecommunication Systems and Networks).

Her research interests revolve around depression, seeking social support in Social Networking Sites, as well as the use of mobile apps in mental health, counselling, and psychotherapy.

Αριστέα Φύσσα

Συγκριτική αξιολόγηση στρατηγικών-πρακτικών για την προώθηση των εκπαιδευτικών και κοινωνικών διεργασιών ένταξης παιδιών με ειδικές εκπαιδευτικές ανάγκες στο γενικό νηπιαγωγείο: Έρευνα πεδίου

Περίληψη

Η κρισιμότητα των πρώτων χρόνων στη ζωή κάθε παιδιού για την ώθηση της ολόπλευρης ανάπτυξής του, η πρόληψη για το στίγμα και την κοινωνική απόρριψη και η προαγωγή της ενεργού και συνεχούς συμμετοχής εντός και εκτός των τοίχων του σχολείου συνηγορούν υπέρ της αναγκαιότητας της προσχολικής ένταξης (Guralnick, 2001• Meisels & Shonkoff, 2000• Odom, 2000• WHO & UNICEF, 2012). Απαραίτητη προϋπόθεση για την ένταξη των παιδιών με ειδικές εκπαιδευτικές ανάγκες και αναπηρία (ΕΕΑ/Α) μαζί με τους συνομηλίκους τους με τυπική ανάπτυξη αποτελεί ο σχεδιασμός και η εφαρμογή υψηλής ποιότητας προγραμμάτων φροντίδας και εκπαίδευσης. Αυτού του είδους τα προγράμματα θα πρέπει να είναι ικανά να προάγουν τη συμμετοχή στην ομάδα, τις κοινωνικές αλληλεπιδράσεις, τις φιλίες, την ανάπτυξη και τη μάθηση για *όλα* τα παιδιά (DEC & NAEYC, 2009).

Παρ' όλα αυτά, μέχρι και σήμερα, δεν υπάρχει ένα κοινά αποδεκτό εννοιολογικό πλαίσιο σχετικά με το τί περιλαμβάνει ο όρος «ποιότητα» στην προσχολική ένταξη. Η Soukakou ήταν από τους πρώτους ερευνητές που μελέτησε τη δομή του όρου αυτού, μέσω μίας δομημένης κλίμακας παρατήρησης (Inclusive Classroom Profile [ICP], Soucacou, 2007• Soukakou, 2012). Η υπόθεσή της ήταν ότι η δομή της ποιότητας είναι μονοδιάστατη και αποτελείται από 11 αλληλοσχετιζόμενες πρακτικές που προωθούν την ένταξη σε επίπεδο τάξης. Αυτές είναι οι εξής: (1) Προσαρμογές του χώρου και του υλικού/εξοπλισμού (2) Εμπλοκή των ενηλίκων στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ συνομηλίκων (3) Καθοδήγηση του παιχνιδιού των παιδιών από τους ενήλικες (ελεύθερο παιχνίδι) (4) Επίλυση συγκρούσεων (5) Συμμετοχή ως μέλος της ομάδας-τάξης (6) Κοινωνικές και επικοινωνιακές αλληλεπιδράσεις ενήλικα-παιδιού (7) Υποστήριξη της κοινωνικής επικοινωνίας (8) Προσαρμογές των ομαδικών δραστηριοτήτων (9) Μεταβάσεις μεταξύ των δραστηριοτήτων (10) Ανατροφοδότηση και (11) Σχεδιασμός και παρακολούθηση των εξατομικευμένων αναγκών και στόχων των παιδιών.

Στην Ελλάδα όμως, παρατηρείται έλλειψη επίσημων δεδομένων και ερευνητικών πορισμάτων σχετικά με την ποιότητα των εμπειριών που βιώνουν τα παιδιά με ΕΕΑ/Α όταν φοιτούν σε γενικά προσχολικά προγράμματα. Για το λόγο αυτό, η χρήση μεικτών ερευνητικών μεθόδων προκρίνεται ως αναγκαία για τη διερεύνηση του υπό εξέταση φαινομένου. Σκοπός της έρευνας αυτής ήταν, μέσω των μεικτών μεθόδων, η συγκριτική αξιολόγηση των στρατηγικών-πρακτικών που χρησιμοποιούν οι νηπιαγωγοί γενικής και ειδικής εκπαίδευσης για να προωθήσουν την ένταξη παιδιών με ΕΕΑ/Α σε τάξεις γενικού νηπιαγωγείου. Ειδικότερα, υιοθετήθηκε ο συγχρονικός σχεδιασμός (concurrent design), όπου τα ποσοτικά και τα ποιοτικά δεδομένα της έρευνας συλλέχθηκαν (σχεδόν) ταυτόχρονα.

Η ποσοτική προσέγγιση χρησιμοποιήθηκε στοχεύοντας στη διερεύνηση των ακόλουθων ερευνητικών ερωτημάτων: (1) Σε ποιο βαθμό οι πρακτικές που εφαρμόζουν οι νηπιαγωγοί υποστηρίζουν την πρόσβαση και τη συμμετοχή των παιδιών με ΕΕΑ/Α στις ρουτίνες και στις δραστηριότητες της γενικής τάξης; (2) Πώς προκύπτει η δομή της ποιότητας των ενταξιακών πρακτικών στο ελληνικό εκπαιδευτικό σύστημα; Παρατηρείται σύγκλιση με το θεωρητικό μοντέλο της Soukakou; (3) Ποια είναι η σχέση του προφίλ του εκπαιδευτικού πλαισίου (δηλαδή, μοντέλο ειδικής υποστήριξης, μέγεθος ομάδας-τάξης, αριθμός παιδιών με αναπηρίες) και των νηπιαγωγών (δηλαδή, χρόνια διδακτικής εμπειρίας και επαγγελματική κατάρτιση στην ειδική εκπαίδευση) με την ποιότητα των πρακτικών ένταξης; Από την άλλη πλευρά, η ποιοτική προσέγγιση χρησιμοποιήθηκε με στόχο να μελετηθούν οι απόψεις των νηπιαγωγών γενικής και ειδικής εκπαίδευσης για ζητήματα που σχετίζονται με τη διαδικασία εφαρμογής της προσχολικής ένταξης, προκειμένου το ποιοτικό υλικό να επιβεβαιώσει, να συμπληρώσει και να επεκτείνει τα ποσοτικά αποτελέσματα.

Η έρευνα διεξήχθη σε 52 τάξεις γενικών δημόσιων νηπιαγωγείων για παιδιά ηλικίας τεσσάρων μέχρι έξι χρονών, στις οποίες φοιτούσε ένα τουλάχιστον παιδί με διαγνωσμένες ΕΕΑ/Α. Οι τάξεις του δείγματος επιλέχθηκαν με τη μέθοδο της τυχαίας δειγματοληψίας από 19 Διευθύνσεις και Γραφεία Πρωτοβάθ-

μιας Εκπαίδευσης στη Βόρεια, Δυτική και Κεντρική Ελλάδα και ήταν αντιπροσωπευτικές όλων των μοντέλων ειδικής αγωγής που παρέχονται σε παιδιά με ΕΕΑ/Α στο ελληνικό γενικό εκπαιδευτικό σύστημα. Στο 42.3% (*ν*= 22) λειτουργούσε τμήμα ένταξης, στο 32.7% (*ν*=17) προσφέρονταν παράλληλη στήριξη και στο 25% (*ν*=13) των μονάδων, τα παιδιά με ΕΕΑ/Α βρίσκονταν στη γενική τάξη χωρίς να λαμβάνουν επιπρόσθετη στήριξη από νηπιαγωγό ειδικής εκπαίδευσης. Στο σύνολο των τάξεων, υπήρχαν 93 παιδιά με ΕΕΑ/Α, με μέσο όρο ηλικίας 72.68 μήνες (*Τ.Α.*=9.81). Η επικρατούσα διαγνωστική κατηγορία για τα παιδιά με ΕΕΑ/Α ήταν ο αυτισμός (*ν*=38, 40.9%) και ακολουθούσαν η αναπτυξιακή καθυστέρηση (*ν*=26, 27.9%), η νοητική καθυστέρηση (*ν*=15, 16.1%), τα νευρολογικά προβλήματα (*ν*=13, 14%) και τα προβλήματα ακοής (*ν*=1, 1.1%). Επίσης, στην έρευνα έλαβαν μέρος οι 96 νηπιαγωγοί γενικής (*ν*=58, 60.4%) και ειδικής (*ν*=38, 36.9%) εκπαίδευσης που εργάζονταν στις τάξεις του δείγματος. Οι περισσότεροι νηπιαγωγοί γενικής εκπαίδευσης είχαν μεταξύ έξι-δέκα (*ν*=19, 32.8%) και περισσότερα από 20 χρόνια διδακτικής εμπειρίας (*ν*=17, 29.3%), ενώ η πλειοψηφία των συναδέλφων τους ειδικής εκπαίδευσης είχαν λιγότερα από πέντε χρόνια διδακτικής εμπειρίας (*ν*=30, 78.9%). Από τους 38 νηπιαγωγούς ειδικής εκπαίδευσης, η συντριπτική τους πλειοψηφία (*ν*=34, 89.5%) είχε ολοκληρώσει, εκτός των σπουδών τους στη γενική προσχολική εκπαίδευση, 2-ετή ή 400-ωρών κατάρτιση και μεταπτυχιακό πρόγραμμα εξειδίκευσης στην ειδική αγωγή. Από την ομάδα δε των νηπιαγωγών γενικής εκπαίδευσης, μόνο 11 (19%) είχαν λάβει κάποια ανεπίσημη ενδοεπαγγελματική εκπαίδευση για την υποστήριξη παιδιών με ΕΕΑ/Α.

Τα ποσοτικά δεδομένα που συγκεντρώθηκαν με την Κλίμακα ICP δείχνουν ότι η ποιότητα, όπως υποστήριξε και η Soukakou, δομείται ως μία μονοδιάστατη έννοια. Ωστόσο, στην ελληνική έρευνα διαπιστώθηκε ότι η πρακτική «Σχεδιασμός και παρακολούθηση των εξατομικευμένων αναγκών και στόχων των παιδιών» εξαιρέθηκε από την παραγοντική δομή της ποιότητας. Ο λόγος έγκειται στο ότι οι περισσότεροι νηπιαγωγοί (*ν*=50, 96.2%) χρησιμοποιούσαν ακατάλληλης ποιότητας πρακτικές όσον αφορά (α) τον σχεδιασμό και την ενσωμάτωση του Εξατομικευμένου Εκπαιδευτικού Προγράμματος των παιδιών στις καθημερινές δραστηριότητες της τάξης (β) τον έλεγχο της προόδου των παιδιών με ΕΕΑ/Α και (γ) τη συνεργασία με τους γονείς (ή κηδεμόνες) των παιδιών με ΕΕΑ/Α. Επιπλέον, βρέθηκε ότι η ποιότητα στις τάξεις του δείγματος κυμαινόταν από ακατάλληλη έως μέτρια, με τις νηπιαγωγούς να εφαρμόζουν πρακτικές που ενθάρρυναν μόνο έως ένα μικρό βαθμό την πρόσβαση και τη συμμετοχή των παιδιών με ΕΕΑ/Α στις δραστηριότητες της γενικής τάξης. Από τις αναλύσεις διαπιστώθηκε ακόμη, ότι η ποιότητα των «ενταξιακών» πρακτικών δεν επηρεάζεται από το μοντέλο ειδικής στήριξης, το μέγεθος της ομάδας/τάξης, τον αριθμό των παιδιών με αναπηρίες, τα χρόνια διδακτικής εμπειρίας των εκπαιδευτικών και την επαγγελματική τους κατάρτιση στην ειδική εκπαίδευση. Οι ημι-δομημένες συνεντεύξεις που πραγματοποιήθηκαν με τις νηπιαγωγούς γενικής και ειδικής εκπαίδευσης φαίνεται να δικαιολογούν τον εντοπισμό της πολύ χαμηλής ποιότητας πρακτικών στις συμμετέχουσες τάξεις. Ειδικότερα, η ποιοτική ανάλυση ανέδειξε ότι οι νηπιαγωγοί υιοθετούσαν ατομικές προσεγγίσεις απέναντι στην αναπηρία, θεωρώντας, κατ' επέκταση, ότι η ένταξη αφορά την αφομοίωση των παιδιών με ΕΕΑ/Α στις συνθήκες της τάξης. Ακόμη βρέθηκε ότι, ενώ οι νηπιαγωγοί αναφέρονταν σε μία σειρά από στρατηγικές-πρακτικές που εφάρμοζαν για να υποστηρίξουν την εμπλοκή των παιδιών με ΕΕΑ/Α στο πρόγραμμα και στις δραστηριότητες, εντούτοις αυτές ήταν αναποτελεσματικές (π.χ. υπεραπλούστευση συγκεκριμένων στοιχείων των δραστηριοτήτων). Εν κατακλείδι, αυτά τα αποτελέσματα θα συζητηθούν ως προς τη συνεισφορά τους στην επαγγελματική ανάπτυξη των νηπιαγωγών για την προώθηση περισσότερο ενταξιακών περιβαλλόντων μάθησης.

Λέξεις κλειδιά: ενταξιακή εκπαίδευση, ποιότητα, προσχολικά προγράμματα, Ελλάδα

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Αναστασία Βλάχου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Ειδική Αγωγή: Εκπαιδευτική Ένταξη, Παιδαγωγικό Τμήμα Ειδικής Αγωγής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος (*επιβλέπουσα*)

Αναστασία Αλευριάδου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Ειδική Παιδαγωγική: Μάθηση και Ψυχοκινητική Ανάπτυξη, Παιδαγωγικό Τμήμα Νηπιαγωγών, Πανεπιστήμιο Δυτικής Μακεδονίας, Φλώρινα

Παναγιώτα Σταυρούση, Επίκουρη Καθηγήτρια, Νοητική Καθυστέρηση: Ψυχολογική Προσέγγιση & Εφαρμογές στην Ειδική Αγωγή, Παιδαγωγικό Τμήμα Ειδικής Αγωγής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος

Aristea Fyssa

Comparative assessment of strategies-practices to promote educational and social processes in the general preschool for children with special education needs: Field research

Abstract

The critical importance of early years in every child's life for boosting his or her overall development, the prevention of stigma and social rejection and the promotion of active child's participation within and without the school's walls in combination, provide the rationale towards the movement of preschool inclusion (Guralnick, 2001; Meisels & Shonkoff, 2000; Odom, 2000; World Health Organization [WHO] & United Nations International Children's Emergency Fund [UNICEF], 2012). In order to ensure positive inclusive experiences for children with disabilities alongside their peers who have more typical developmental patterns, the general early care and educational programs should be designed and implemented with the aim to offer high quality provision, resulting in 'a sense of belonging and membership, positive social relationships, friendships, development and learning to reach their full potential.' (Division of Early Childhood [DEC] & National Association for the Education of Young Children, 2009, p. 2).

Until now, there is no unified theory in relation to what constitutes 'high quality pre-school inclusion'. Soukakou is one of the researchers who initially studied the construct of quality in inclusive preschool classrooms through the development of a structured observation rating scale (Inclusive Classroom Profile [ICP]; Soucacou, 2007; Soukakou, 2012). She argued that the construct is unidimensional and consists of 11 distinct, but interconnected practices that encourage inclusion at a classroom level. These are: (1) Adaptations of space and materials/ equipment (2) Adult involvement in peer interactions (3) Adult's guidance of children's play (free-play) (4) Conflict resolution (5) Membership (6) Adult-child social communicative interactions (7) Support for social communication (8) Adaptation of group activities (9) Transitions between activities (10) Feedback and (11) Planning and monitoring of children's individual needs and goals.

In Greece, however, there is a lack of official data and research initiatives in relation to how inclusion is experienced by children with disabilities in general preschool settings. In order to acquire a more spherical view of the research project, a mixed methods research design was applied. More specifically, the purpose of the present study was to comparatively assess through mixed methods the strategies-practices that general and special education teachers use to support the inclusion of children with disabilities in general preschool settings, applying different models of special education provision. A concurrent design was applied, where the quantitative and qualitative data were collected simultaneously.

The quantitative approach was used with the aim to address the following research questions: (1) To what extent the practices that the participating Greek preschool teachers use support access and participation in classroom routines and activities for children with disabilities? (2) How the latent construct of preschool inclusion quality is identified in the Greek sample? Does this outcome converge with the theoretical model of Soukakou? (3) Is there a relationship between the quality of those practices and context (i.e., model of special education provision, group-class size, number of children with disabilities) and teacher (i.e., years of teaching experience and professional training in special education) profiles? In addition, the qualitative approach was used with the aim to explore general and special education teachers' views about the implementation of preschool inclusion in an attempt to corroborate, supplement and expand the quantitative results.

This study was conducted in 52 general preschool settings run by the state for children between four and six years of age and which had at least one child on their register with identified disabilities. The investigator used a random sampling technique to select regular preschool settings that derived from 19 LEAs located in Northern, Western and Central parts of Greece. The settings were representative of the various models for providing special education support to children with disabilities within the general school context in Greece: pull-out programme (*n*=22; 42.3%); in-class support (*n*=17; 32.7%); and no additional provision (*n*=13; 25%). Across the sample, there were 93 children with disabilities, with a mean age 72.68 months (*SD*=9.81). Among the group, the most prevalent diagnostic category was that of autistic spectrum disorder (n=38; 40.9%) followed by developmental delay (*n*=26; 28%), intellectual

disability (*n*=15; 16.1%), neurological problems (*n*=13; 14%) and hearing impairment (*n*=1; 1.1%). Also, 96 teachers who worked in the participating classrooms were also the participants of this study; 58 (60.4%) were general teachers and 38 (39.6%) were special teachers. Among the regular preschool teachers, most participants fell in the groups of sixten (*n*=19; 32.8%) and more than 20 years (*n*=17; 29.3%) of teaching experience. In contrast, the majority of their special education colleagues (*n*=30; 79%) had between one month and five years of teaching experience in special education. Of the 38 special education teachers, the vast majority (*n*=36; 94.7%), in addition to the bachelor degree in general preschool education, had completed substantial training or masters programs in special education. Of the 58 regular education teachers only 11 had received at least some informal training in supporting pupils with disabilities.

The quantitative data, as collected through the ICP, showed that the structure of the preschool inclusion quality was in accordance to Soukakou's theoretical model as regards to its unidimensional nature. However, in the Greek study, the practice 'Planning and monitoring of children's individual needs and goals' was discarded from the factor structure of the ICP because the way this item was rated indicates that in the vast majority of cases (*n*=50, 96.2%) teachers employed practices of inadequate quality to plan for and implement the goals of children with disabilities in daily activities and to monitor their progress in collaboration with parents. Additionally, it was found that quality ranged from low to minimal, with the teachers more frequently implementing practices that only partially promoted access and participation in daily activities and routines for children with disabilities. Correlation and/or comparison analyses revealed that the quality of programming was not influenced by the model of special education provision, the group/class size, the number of children with disabilities, the training teachers had in special education or their teaching experience. The qualitative data that were derived from semi-structured interviews with the general and special education teachers provide a justification for the occurrence of poor levels of quality. The analysis revealed that teachers adopted an individualist approach to disability assuming the disabled children's ability to assimilate to the demands of a largely unchanged classroom environment as the main determinant of their inclusion. Also, it was found that while teachers identified a range of strategies that they deployed for promoting children's involvement in classroom activities, these were ineffective (e.g., oversimplification of specific aspects of activities).The results will be discussed in relation to their contribution for professional development for preschool teachers to promote more inclusive learning environments.

Key words: inclusive education, quality, preschool programs, Greece

Three - Member Supervisory Committee

Anastasia Vlachou, Associate Professor, Special/ Inclusive Education, Department of Special Education, University of Thessaly, Volos, Greece (*supervisor*)

Anastasia Alevriadou, Associate Professor, Special Pedagogy: Leaning and Psychomotor Development, Faculty of Early Childhood Education, University of West Macedonia, Florina, Greece

Panayiota Stavroussi, Assistant Professor, Intellectual Disability: Psychological Approach and Applications in Special Education, Department of Special Education, University of Thessaly, Volos, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. Vlachou, A., & **Fyssa, A.** (accepted for publication). 'Inclusion in practice': Program practices in mainstream preschool classrooms and associations with context and teacher characteristics. *International Journal of Disability, Development and Education*.

2. **Fyssa, A.**, & Vlachou, A. (accepted for publication). Assessment of quality for inclusive programs in Greek preschool classrooms. *Journal of Early Intervention*.

3. **Fyssa, A.**, Vlachou, A., & Avramidis, E. (2014). Early childhood teachers' understanding of inclusive education and associated practices: Reflections from Greece. *International Journal of Early Years Education, 22*(2), 223-237, doi:10.1080/09669760.2014.909309.

Κεφάλαια σε συλλογικά έργα/ Book chapters

1. Νησιώτου, Ι., Βλάχου, Α. & **Φύσσα, Α.** (2010). Έγκαιρη παρέμβαση για παιδιά με ειδικές εκπαιδευτικές ανάγκες ή παράγοντες κινδύνου. Στο Α. Ν. Κορνηλάκη, Μ. Α. Κυπριωτάκη & Γ. Μανωλίτσης (Επιμ.) *Πρώιμη παρέμβαση: Διεπιστημονική θεώρηση* (σελ. 19-44). Αθήνα: Πεδίο.

   Nisiotou, I., Vlachou, A., & **Fyssa, A.** (2010). Early intervention for children with special educational needs or factors at risk. In A. N. Kornilaki, M. A. Kypriotaki, & G. Manolitsis (Eds.), *Early Intervention: An interdisciplinary approach* (pp. 19-44). Athens, Greece: Pedio.

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων – βιβλία περιλήψεων
Publications in conference proceedings – books of abstracts

1. **Φύσσα, Α.**, & Βλάχου, Α. (2014). Διερεύνηση της ποιότητας των πρακτικών ένταξης που εφαρμόζονται στην προσχολική εκπαίδευση: Εμπειρική μελέτη συστηματικής παρατήρησης. Στο Μ. Τζεκάκη & Μ. Κανατσούλη (Επιμ.), *Πανελλήνιο Συνέδριο με Διεθνή Συμμετοχή: Αναστοχασμοί για την Παιδική Ηλικία* (σελ. 1307-1332). Θεσσαλονίκη: ΤΕΠΑΕ, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.

   Fyssa, A., & Vlachou, A. (2014). Exploring the quality of inclusive practices employed in preschooleducation: An empirical study based on systematic observation. In M. Gekaki & M. Kanatsouli (Eds.), *Panhellenic Conference with International Participation: Reflections on Childhood* (pp. 1307-1332). Thessaloniki, Greece: School of Early Childhood Education (TEPAE), Aristotle University of Thessaloniki, Greece.

2. **Fyssa, A.**, & Vlachou, A. (2012). Quality of social and educational processes in early childhood inclusive classrooms. In V. Prachalias (Ed.), *8th International Conference on Education. Samos Island, Greece: Research and Training Institute of East Aegean* (INEAG). ISBN: 978-618-5009-05-2• ISSN: 1792-3867.

3. Βλάχου, Α., & **Φύσσα, Α.** (2008). Εκπαιδευτικές πρακτικές για την προώθηση της κοινωνικής ένταξης παιδιών με ειδικές εκπαιδευτικές ανάγκες στο γενικό νηπιαγωγείο. Στο Α. Τριλιανός & Ι. Καράμηνας (Επιμ.), *6ο Πανελλήνιο Συνέδριο της Παιδαγωγικής Εταιρείας Ελλάδος, Ελληνική Παιδαγωγική & Εκπαιδευτική Έρευνα* (σελ. 556-563). Αθήνα: Ατραπός.

   Vlachou, A., & **Fyssa, A.** (2008). Educational practices to promote the social inclusion of children with disabilities in the general kindergarten. In A. Trilianos & I. Karaminas (Eds.), *6th Panhellenic Conference of the Hellenic Educational Society, Hellenic Pedagogy & Educational Research* (pp. 556-563). Athens, Greece: Atrapos.

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες
Presentations in scientific conferences and meetings -workshops

1. **Fyssa, A.**, & Vlachou, A. (2015, May). *Factors that relate to the quality of inclusive programs in Greek preschool classrooms: A mixed methods approach*. Paper presented at the ECERS (Early Childhood Environment Rating Scale) Annual Meeting and Conference, University of Thessaly, Department of Special Education, Volos, Greece.

2. **Φύσσα, Α.**, & Βλάχου, Α. (2014, Οκτώβριος - Νοέμβριος). *Διερεύνηση της ποιότητας των πρακτικών ένταξης που εφαρμόζονται στην προσχολική εκπαίδευση: Εμπειρική μελέτη συστηματικής παρατήρησης*. Προφορική ανακοίνωση στο Πανελλήνιο Συνέδριο με Διεθνή Συμμετοχή ‘Αναστοχασμοί για την Παιδική Ηλικία’, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Επιστημών Προσχολικής Αγωγής και Εκπαίδευσης, Θεσσαλονίκη.

   Fyssa, A., & Vlachou, A. (2014, October -November). *Exploring the quality of inclusive practices employed in the preschool education: An empirical study based on systematic observation.* Paper presented at the Panhellenic Conference with International Participation ‘Reflections on Childhood’, Aristotle University of Thessaloniki, School of Early Childhood Education, Thessaloniki, Greece.

3. **Φύσσα, Α**., & Βλάχου, Α. (2014, Μάιος). *Αξιολόγηση της ποιότητας των προγραμμάτων ένταξης στο γενικό νηπιαγωγείο.* Προφορική ανακοίνωση στο 4ο Πανελλήνιο Συνέδριο Εξελικτικής Ψυχολογίας ‘Μορφές Ανάπτυξης σε Έναν Απρόοπτα Μεταβαλλόμενο Κόσμο’, Ελληνική Ψυχολογική Εταιρεία-Κλάδος Εξελικτικής Ψυχολογίας & Πανεπιστήμιο Κρήτης (Τμήμα Ψυχολογίας & Παιδαγωγικό Τμήμα Προσχολικής Εκπαίδευσης), Πανεπιστημιούπολη Γάλλου, Ρέθυμνο.

Fyssa, A., & Vlachou, A. (2014, May). *Assessing the quality of inclusive programs in the general kindergarten*. Paper presented at 4th Panhellenic Conference on Developmental Psychology 'Forms of Development in An Unexpected Changing World', Hellenic Psychological Society-Department of Developmental Psychology & University of Crete (Department of Psychology & Department of Preschool Education), University Campus in Gallou, Rethymno, Greece.

4 **Fyssa, A.**, & Vlachou, A. (2013, September). *Social interactions between children with and without disabilities in mainstream preschool classrooms: Regular and special education teachers' input*. Paper presented at the European Conference on Educational Research (ECER) 'Creativity and Innovation in Educational Research', Emerging Researchers. University of Bahçeşehir, Istanbul, Turkey.

5. **Fyssa, A.**, Vlachou, A., & Soukakou, E. (2013, July). *Beliefs and quality of processes in early childhood inclusive classrooms: Indicators for professional development*. Paper presented at the Regional Conference of International Society on Early Intervention 'Early Intervention to Promote Child Development and Mental Health: From Institutional Care to Family Environment', St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation.

6. **Fyssa, A.**, Zoniou-Sideri, A., & Vlachou, A. (2013, July). *Practicing inclusive education? An empirical approach*. Paper presented at the Regional Conference of International Society on Early Intervention 'Early Intervention to Promote Child Development and Mental Health: From Institutional Care to Family Environment', St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation.

7. **Fyssa, A.**, & Vlachou, A. (2012, September). *Measuring quality in early childhood inclusive classrooms: Reflecting on associations with context- and child-related variables*. Paper presented at 6th International Scientific Conference 'Special Education and Rehabilitation Today', University of Belgrade, Belgrade, Serbia.

8. **Fyssa, A.**, & Vlachou, A. (2012, September). *An ecocultural approach to preschool inclusion in Greece: Early childhood teachers' perspectives*. Paper presented at the British Educational Research Association (BERA) Conference, University of Manchester, Manchester, United Kingdom.

9. **Fyssa, A.**, & Vlachou, A. (2012, July). *Quality of social and educational processes in early childhood inclusive classrooms*. Paper presented at 8th International Conference on Education (ICE). Research and Training Institute of East Aegean (INEAG), Samos Island, Greece.

10. Βλάχου, Α., & **Φύσσα, Α.** (2012, Μάιος). *Μοτίβα κοινωνικών αλληλεπιδράσεων ανάμεσα σε παιδιά με και χωρίς ειδικές εκπαιδευτικές ανάγκες* (ε.ε.α.) *σε ενταξιακά πλαίσια προσχολικής εκπαίδευσης: Πρακτικές νηπιαγωγών*. Προφορική ανακοίνωση στο 3ο Πανελλήνιο Συνέδριο Εξελικτικής Ψυχολογίας 'Από τη Σχέση στις Σχέσεις', Ελληνική Ψυχολογική Εταιρεία & Τμήμα Ψυχολογίας. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη.

    Vlachou, A., & **Fyssa, A.** (2012, May). *Patterns of social interactions between children with and without special educational needs (s.e.n.) in inclusive preschool settings: Teachers' practices*. Oral presentation at 3rd Panhellenic Conference on Developmental Psychology 'From the Relationship to Relations', Hellenic Psychological Society & Department of Psychology. Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece.

11. Βλάχου, Α., & **Φύσσα, Α.** (2008). *Εκπαιδευτικές πρακτικές για την προώθηση της κοινωνικής ένταξης παιδιών με ειδικές εκπαιδευτικές ανάγκες στο γενικό νηπιαγωγείο*. Προφορική ανακοίνωση στο 6ο Πανελλήνιο Συνέδριο της Παιδαγωγικής Εταιρείας Ελλάδος 'Ελληνική Παιδαγωγική & Εκπαιδευτική Έρευνα', Κεντρικό Κτίριο Πανεπιστημίου Αθηνών, Φιλοσοφική Σχολή–Πανεπιστημιούπολη Ζωγράφου, Αθήνα.

    Vlachou, A., & **Fyssa, A.** (2008). *Educational practices to promote the social inclusion of children with disabilities in the general kindergarten*. Paper presented at 6th Panhellenic Conference of the Hellenic Educational Society 'Hellenic Pedagogy & Educational Research'. Central Building of the University of Athens, School of Philosophy-University Campus in Zografou, Athens, Greece.

Σύντομο βιογραφικό

Η **Αριστέα Φύσσα** γεννήθηκε στο Βόλο το 1983. Αποφοίτησε από το Παιδαγωγικό Τμήμα Ειδικής Αγωγής (ΠΤΕΑ) του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας το 2005. Στο πλαίσιο των προπτυχιακών της σπουδών, συμμετείχε σε πρόγραμμα ανταλλαγής φοιτητών στο University of Wisconsin-Oshkosh, College of Education and Human Services και παρείχε υπηρεσίες στήριξης παιδιών με προβλήματα ακοής και των οικογενειών τους, στο πλαίσιο ενός εθελοντικού προγράμματος. Το ακαδημαϊκό έτος 2006-2007, παρακολούθησε το Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών 'Special Education (Inclusion and Disability Studies)' τουUCL Institute of Education. Για δύο σχολικά έτη, δίδαξε ως αναπληρώτρια ειδική παιδαγωγός σε δομές παροχής ειδικής υποστήριξης για παιδιά με ειδικές εκπαιδευτικές ανάγκες στο γενικό νηπιαγωγείο (τμήμα ένταξης και παράλληλης στήριξης) στην Κοζάνη και στη Μαλεσίνα, αντίστοιχα.

Τα ερευνητικά της ενδιαφέροντα αφορούν την ενταξιακή εκπαίδευση, τα προσχολικά προγράμματα και την ποιότητα της παρεχόμενης εκπαίδευσης για παιδιά με ειδικές εκπαιδευτικές ανάγκες ή/και αναπηρία.

Short CV

Aristea Fyssa was born in Volos, in 1983. In 2005, she graduated from the Department of Special Education of the University of Thessaly (Volos, Greece). During her undergraduate studies, she participated in an exchange programme at the University of Wisconsin-Oshkosh, College of Education and Human Services; and provided support to children with a hearing disability and their families under a voluntary agreement. In 2007, she completed a Master's Degree in the relevant field of special needs and inclusive education from the UCL Institute of Education. For two years, she worked as a special education teacher in general preschool settings designing individual educational programmes and supporting children with identified disabilities in collaboration with her general education colleagues.

Her thesis and re-search interests address issues relevant to inclusive education, preschool programmes and quality of provision offered to children with disabilities.

Τμήμα Ιστορίας, Αρχαιολογίας και Κοινωνικής Ανθρωπολογίας
Department of History, Archaeology and Social Anthropology

Αθανάσιος Μπέτας

«Καπνοβιομηχανία Ματσάγγος εν Βόλω, 1918-1972». Εργασία και επιβίωση στο Βόλο

Περίληψη

Ο στόχος της συγκεκριμένης μελέτης είναι να αναδείξει και να διερευνήσει τη διάσταση της εργασίας στο πλαίσιο μιας βιομηχανικής επιχείρησης. Το βάρος της έρευνας επικεντρώθηκε στο χώρο της εργασίας και στους βασικούς φορείς της, δηλαδή στους εργάτες και στις εργάτριες, μέσα από τη μελέτη του αρχείου της καπνοβιομηχανίας. Η καπνοβιομηχανία Ματσάγγου, όπως και η πόλη του Βόλου, αποτέλεσαν το κατάλληλο πλαίσιο καθώς επίσης και ένα παράδειγμα για την προσέγγιση και τη μελέτη διαφόρων όψεων της ιστορίας των εργατικών στρωμάτων στην Ελλάδα κατά τη μεταπολεμική περίοδο. Ζητήματα που αφορούν τα εργατικά στρώματα συνεχίζουν να απασχολούν και να προκαλούν την ιστορική έρευνα, ενώ το ενδιαφέρον προσανατολίζεται σε νέα πεδία που ελάχιστα έχουν απασχολήσει μέχρι σήμερα την ελληνική ιστοριογραφία. Πιο συγκεκριμένα, μελετώντας το αρχείο μιας βιομηχανικής επιχείρησης η ιστορική έρευνα είχε την ευκαιρία να εντοπίσει, να περιγράψει και να εξηγήσει τον κόσμο της εργασίας, θέτοντας μια σειρά ερωτημάτων: τι εργασίες γίνονταν, με ποιο τρόπο και από ποιους. Ποιοι παράγοντες και με ποιο τρόπο ρύθμιζαν τις εργασιακές σχέσεις στο χώρο της παραγωγής, τον καταμερισμό της εργασίας, τις αμοιβές, το κύρος, αλλά και την ισχύ και τις σχέσεις εξουσίας που διαμορφώνονταν στο χώρο εργασίας; Πώς διαπλέκεται εντέλει η θέση στη διαδικασία της παραγωγής με άλλες παραμέτρους; (π.χ. εθνοτικοί, έμφυλοι, τεχνολογικός καταμερισμός εργασίας κ.α.). Έτσι, το μεγαλύτερο μέρος των κεφαλαίων της διατριβής επικεντρώνεται σε αυτά ακριβώς τα ερωτήματα. Η συμβολή νέων, ανεξερεύνητων αρχειακών πηγών, όπως το αρχείο της καπνοβιομηχανίας Ματσάγγου, υπήρξε πολύτιμη για την προσέγγιση αυτών των ζητημάτων.

Με την υποστήριξη της συνεργαζόμενης ερευνητικής ομάδας (Δημοτικό Κέντρο Ιστορίας και Τεκμηρίωσης, προπτυχιακοί φοιτητές και φοιτήτριες του Τμήματος Ι.Α.Κ.Α) προχώρησε η ταξινόμηση του αρχείου Ματσάγγου. Κατόπιν, άρχισε η σταδιακή επεξεργασία και ανάλυση του μέρους εκείνου του αρχείου που ανταποκρίνεται στους στόχους της διατριβής, και ειδικότερα, των δελτίων μητρώου και των καταστάσεων του προσωπικού, των μισθολογικών καταλόγων και των πρακτικών του διοικητικού συμβουλίου της επιχείρησης. Τα εν λόγω τεκμήρια συγκροτούν ολοκληρωμένες σειρές του αρχείου που καλύπτουν κυρίως την περίοδο από το 1945 μέχρι το 1972, χρονιά που σταμάτησε να λειτουργεί το εργοστάσιο.

Η έρευνα επεκτάθηκε σε άλλες αρχειακές πηγές και συλλογές. Έγινε αποδελτίωση του ημερήσιου τύπου της πόλης του Βόλου των δεκαετιών 1940, 1950 και 1960 (ειδικότερα οι εφημερίδες *Θεσσαλία, Ταχυδρόμος, Αναγέννηση και Νέα Ελλάς*). Στο αρχείο του Εργατικού Κέντρου Βόλου, στα Γενικά Αρχεία του Κράτους του Ν. Μαγνησίας, στο αρχείο του Πρωτοδικείου Βόλου, στο αρχείο του υποθηκοφυλακείου Βόλου και στο αρχείο του Δημοτικού Κέντρου Ιστορίας και Τεκμηρίωσης του Δ. Βόλου αναζητήθηκε και καταγράφηκε αρχειακό υλικό που αξιοποιήθηκε για τις ανάγκες της διατριβής. Η έρευνα, ωστόσο, δεν περιορίστηκε στο πλαίσιο της πόλης του Βόλου. Επεκτάθηκε σε διάφορους αρχειακούς χώρους και μουσεία ανά την Ελλάδα, κυρίως σε πόλεις που υπήρξαν σημαντικά καπνοβιομηχανικά κέντρα. Αναλυτικότερα, πραγματοποιήθηκε έρευνα στο Ελληνικό Λογοτεχνικό και Ιστορικό Αρχείο (Ε.Λ.Ι.Α.) της Αθήνας και της Θεσσαλονίκης, στα Γενικά Αρχεία του Κράτους των νομών Ξάνθης, Καβάλας και Αττικής, στο αρχείο της Εθνικής Τράπεζας της Ελλάδας στην Αθήνα και στα Μουσεία Καπνού της Καβάλας και της Ξάνθης. Τέλος, εκτός Ελλάδας, η έρευνα επεκτάθηκε στο Μουσείο Καπνού της Κωνσταντινούπολης και στο Αρχείο του Διεθνούς Κέντρου Κοινωνικής Ιστορίας του Άμστερνταμ. Καταγράφηκε αρχειακό υλικό που αξιοποιήθηκε για τις ανάγκες της διατριβής.

Παράλληλα, προκειμένου να προσεγγιστούν αναλυτικότερα και πιο σφαιρικά οι στόχοι και τα ερωτήματα της διατριβής, κρίθηκε απαραίτητο να αποδελτιωθεί ημερήσιος τύπος και περιοδικά με πανελλήνια εμβέλεια. Έτσι, αποδελτιώθηκαν οι εφημερίδες *Ριζοσπάστης* (κυρίως των δεκαετιών 1920 και 1930), *Μακεδονία* (διάφορα φύλλα που καλύπτουν την περίοδο λειτουργίας της επιχείρησης Ματσάγγου), Ελευθερία (1947-1967), *Σκριπ* (δεκαετία 1910), Ελευθερία (1947-1967). Επίσης, αποδελτιώθηκε το περιοδικό *Καπνική Επιθεώρησις* (δεκαετίες 1940, 1950 και 1960), καθώς και διάφορα άλλα περιοδικά

ελληνόγλωσσα και ξενόγλωσσα που συσχετίζονται με καπνικά και εργατικά θέματα και αφορούν κυρίως τη δεκαετία του 1960. (Ενδεικτικά: *Tobacco Journal, The business magazine of the international tobacco industry, Tobacco, World Tobacco, A Quarterly magazine for the world tobacco industry, Δελτίον Διοικήσεως Επιχειρήσεων, Μηνιαία Επιστημονική Επιθεώρησις,κ.α.*)

Η διατριβή χωρίζεται σε δύο μέρη: στο πρώτο μέρος μελετάται η πρώτη ύλη της σιγαροβιομηχανίας, ο καπνός. Παρακολουθούμε, τη διαμόρφωση της διεθνούς αγοράς του καπνού κατά τον 20ο αιώνα, καθώς και τη χωρική και την εμπορική επεξεργασία του καπνού στις «καπνουπόλεις» της Ελλάδας. Στη συνέχεια του πρώτου μέρους, παρακολουθούμε τη χειροποίητη παραγωγή καπνιστικών προϊόντων κατά το 19ο και αρχές 20ου αιώνα, σε διεθνές επίπεδο και στην Ελλάδα, τις συνέπειες και αντιδράσεις που επέφερε η εκμηχάνιση του κλάδου της σιγαροποιίας στις αρχές του 20ουαιώνα. Το τελευταίο κεφάλαιο του πρώτου μέρους παρακολουθεί τη γέννηση του κλάδου της σιγαροβιομηχανίας διεθνώς και στη χώρα μας, από τη συγκρότηση του κλάδου μέχρι τις πρώτες μεταπολεμικές δεκαετίες.

Το δεύτερο μέρος της διατριβής, που αποτελεί και το μεγαλύτερο τμήμα της, στρέφει το βλέμμα της στην καπνοβιομηχανία Ματσάγγου. Στα κεφάλαια που ακολουθούν, μελετάμε την ιστορία της επιχείρησης (προέλευση κεφαλαίων, στρατηγικές διεύθυνσης της επιχείρησης και τεχνολογικές επενδύσεις), τη φυσιογνωμία του εργατικού δυναμικού της (την καταγωγή των εργατών και των εργατριών, την ηλικιακή σύνθεση, τη διάρκεια παραμονής στην εργασία και την επαγγελματική κινητικότητα, τη «χωροταξική» τοποθέτηση του εργατικού δυναμικού του Ματσάγγου στην πόλη) και τη διαμόρφωση της αγοράς εργασίας στο μεταπολεμικό Βόλο. Η μελέτη έπειτα εστιάζει εντός του χώρου εργασίας: η οργάνωση της εργασίας, η διάρθρωση και η αμοιβή της, οι πρακτικές διαχείρισης και πειθάρχησης της εργατικής δύναμης, οι μορφές εργατικής διαμαρτυρίας και διεκδίκησης στο Ματσάγγο καθώς και η «ιχνηλάτηση» της βιωμένης εμπειρίας των εργατών και των εργατριών του Ματσάγγου είναι τα ζητήματα που προσεγγίζονται στις σελίδες των υπολοίπων κεφαλαίων του δεύτερου μέρους της διατριβής.

Κατά τη διάρκεια της μελέτης, έγινε φανερό πως ο χώρος εργασίας ενός εργοστασίου είναι ένα πεδίο οπού παρατηρούνται από τη μια μεριά σχέσεις εξουσίας, κυριαρχίας και ανισότητας και από την άλλη σχέσεις αλληλεγγύης, συναδελφικότητας, διεκδίκησης και πάλης. Με λίγα λόγια, ένας χώρος, στο εσωτερικό του οποίου δημιουργούνται ενσωματώσεις, συλλογικότητες και αποκλεισμοί. Προκειμένου να αναδειχθούν και να ερμηνευθούν αυτές οι καταστάσεις, ήταν απαραίτητη η συνδυαστική χρήση των αναλυτικών εργαλείων «φύλο» και «τάξη». Από τη μια, η χρήση του «φύλου» μπορεί να αναδείξει διάφορες σχέσεις εξουσίας και ιεραρχίας, σχέσεις που στηρίζονται σε έννοιες όπως «κύρος» και «γόητρο» και μπορεί να ευθύνονται για αποκλεισμούς και ενσωματώσεις εντός του χώρου παραγωγής, για οικονομικές ανισότητες και προοπτικές επαγγελματικής ανέλιξης. Από την άλλη, παρά τα κενά και τις αδυναμίες που έχουν σωστά σε πολλές περιπτώσεις επισημανθεί στην αναλυτική κατηγορία της «τάξης», θεωρώ ωστόσο πως παραμένει πολύτιμο «εργαλείο» της ιστορικής ανάλυσης και η «χρήση» της είναι καταλυτικής σημασίας για την εξήγηση και την ερμηνεία των κοινωνικών συγκρούσεων, των ανισοτήτων και των συλλογικών διεκδικήσεων.

Συνοψίζοντας, η συγκεκριμένη μελέτη φιλοδοξεί να συμβάλει στην ανανέωση της ελληνικής ιστοριογραφίας στο πεδίο της κοινωνικής ιστορίας και ειδικότερα της βιομηχανικής ιστορίας και της ιστορίας των εργατικών στρωμάτων της Ελλάδας. Ελάχιστες είναι οι συστηματικές μελέτες που μόλις τα τελευταία χρόνια θέτουν στο επίκεντρο της έρευνάς τους την εργασία στη βιομηχανία και πιο συγκεκριμένα την ίδια την εργασιακή διαδικασία και τον κόσμο της εργασίας. Η μελέτη της εργασίας σε μια μεγάλη καπνοβιομηχανία, όπως αυτή του Ματσάγγου, κλάδο σημαντικό της ελληνικής βιομηχανίας και η δημιουργική αξιοποίηση του αρχείου της επιχείρησης ευελπιστεί να συμπληρώσει καίρια και να εμπλουτίσει το ιστορικό τοπίο του κόσμου της εργασίας στην Ελλάδα και να ενταχθεί στο ευρύτερο ιστοριογραφικό πλαίσιο, προσφέροντας νέα πορίσματα της ιστορικής έρευνας.

Παράλληλα, καθώς τα περισσότερα κεφάλαια της διατριβής επικεντρώνονται στη μετεμφυλιακή εποχή, η εν λόγω μελέτη αναμένεται να συμβάλει στο ευρύτερο πεδίο της ιστορίας της μετεμφυλιακής Ελλάδας. Η μετεμφυλιακή περίοδος έχει μέχρι σήμερα προσεγγιστεί από πολιτικούς επιστήμονες, κοινωνιολόγους και οικονομολόγους, ενώ λιγοστές μελέτες των ιστορικών επικεντρώνονται κυρίως στις πολιτικές εξελίξεις και στην οικονομική ανασυγκρότηση. Η κοινωνική ιστορία της περιόδου πολύ πρόσφατα έχει αρχίσει να προσελκύει το ενδιαφέρον ιστορικών και κοινωνικών ανθρωπολόγων. Τέλος, αξίζει να σημειωθεί η συμβολή της συγκεκριμένης έρευνας και στο πεδίο της τοπικής ιστορίας.

Λέξεις κλειδιά: ιστορία της εργασίας, εργατικά στρώματα, καπνός, τσιγάρο, καπνοβιομηχανία, Ματσάγγος, Βόλος, μετεμφυλιακή Ελλάδα

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Χριστίνα Αγριαντώνη, Καθηγήτρια Σύγχρονης Ιστορίας, Τμήμα Ιστορίας, Αρχαιολογίας και Κοινωνικής Ανθρωπολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Έφη Αβδελά, Καθηγήτρια Σύγχρονης Ιστορίας, Τμήμα Ιστορίας και Αρχαιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Χρήστος Λούκος, Καθηγητής Ιστορίας των Νεοτέρων Χρόνων, Τμήμα Ιστορίας και Αρχαιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης

Athanasios Betas

«The Matsaggos Cigarette Industry. Work and survival in Volos, 1918-1972»

Summary

The objective of this study is to indicate and investigate the dimension of labour in a particular tobacco industry. The research, through the study of the industry's archives, focuses on the workplace as well as on the primary agents of labour, the male and female workers. The Matsaggos Tobacco Industry, such as the city of Volos, does not only stand for an ideal frame, but also for a specific study case of various aspects of the Greek labour strata in the post war period. Issues concerning the labour strata continue to challenge and keep historical research occupied, while the interest is now being orientated to new domains that, until now, have drawn little attention from Greek historiography. In specific, while studying the archive of an industry, historical research had the opportunity to trace, to describe and explain the world of labour by putting a line of questions: what kind of labour was being carried out, in which way and by whom. By which factors and in which way, work relations, the apportionment of labour, the rewards, validity, power and relations of authority were being regulated? How, finally, a particular position in the production process associates with other parameters? (e.g ethnic, gendered, technological apportionment of labour etc.). As a consequence, the biggest part of the chapters of this thesis focuses exactly on these questions. The contribution of new, previously unexplored archival material, such as that of the Matsaggos tobacco industry, has been valuable in order to approach these issues.

The classification of the Matsaggos' archive proceeded thanks to the support of the cooperating research team (Municipal Center of History, undergraduate students of the history department of the University of Thessaly). Then, the gradual elaboration and the analysis of the part of the archive that corresponds to the objectives of the thesis began. This part of the archive consists of staff databases, wages catalogues and records of the industry's board of directors. This material is complete and covers the period from 1945 to 1972, when the factory stopped operating.

The research also spreads to other archival material and collections. Data has been drawn from the daily press of the city of Volos (in particular, from the newspapers *Thessaly, Tachidromos, Anagennisi and New Hellas*). Material for the purposes of this thesis has been also taken from the archives of Volos Labour Center, the General State Archives, the hall of Mortgage records of Volos, the archives of Volos city court and finally from the archive of Volos Municipal History Center. The research, however, is not limited to the city of Volos. It expands to archives and museums throughout Greece and mainly to cities that have been prominent tobacco industry centers. In particular, research has been carried out in the Greek literature and history archive of Athens and Thessaloniki (E.L.I.A), in the General State archives of the prefectures of Xanthi, Kavala and Attiki, in the National Bank of Greece archive in Athens and in the Tobacco Museums of Kavala and Xanthi. Outside Greece, finally, the research expands to the Tobacco Museum of Istanbul as well as to the archive of the International Center of Social History in Amsterdam.

At the same time, data has been gathered from daily press and journals circulating throughout Greece, in order to deal with the objectives and the questions that this thesis puts. This data comes from the newspapers *Rizospastis* (from issues of the decades 1920 and 1930), *Macedonia* (various issues from the period in which the Matsaggos industry was operating), *Liberty* (1947-1967), *Scrip* (1910s). Moreover, data has been drawn from the journal *Tobacco Review* (1940s, 1950s and 1960s), as well as from other Greek and foreign journals related to tobacco and labour issues that came up in the 1960s. (In particular: *Tobacco Journal, The business magazine of the international tobacco industry, Tobacco, World Tobacco, A Quarterly*

magazine for the world tobacco industry, Bulletin for directing businesses, Monthly Scientific Review, etc.)

The thesis is divided in two parts: the first focuses on tobacco, the primary material of the tobacco industry. We discuss about the formation of the international tobacco market in the 20th century and also about the territorial and commercial elaboration of tobacco in the Greek Tobacco Cities. Later in the first part, we discuss about the manufacturing of handmade tobacco products in the 19th century and in the beginning of the 20th, in Greece and internationally. We also discuss about the consequences and reactions provoked by the mechanization of cigarette making in the early 20th century. The last chapter of the first part focuses on the emergence of the cigarette industry, both internationally and locally, from the first years of its formation until the first post war decades.

The second and the largest part of the thesis focuses on the Matsaggos tobacco industry. In the following chapters we can see the history of the particular industry (origin of capital, management strategies and technological investments), the profile of its workforce (the origin of the male and female workers, the age of the workers, how long did they stay in business, the professional mobility and the spatial spot of the Matsaggos workforce in the city of Volos), the formation of the labour market in post war Volos. The study then focuses on the particular workplace: the organization of labour, its division and rewards, the methods of manipulating and imposing discipline on the workforce, the forms of protesting and claiming rights in the Matsaggos industry and, finally, the tracing of the living experience of the industry's male and female workers. These are the issues discussed in the rest of the chapters of the second part of the thesis.

In the course of this study it has been made clear that the factory is a workplace inside which, on the one hand, relations of power appear, dominion and inequality and, on the other, relations of solidarity, colleague bonding, claim and struggle. In few words, the factory is a place inside which collectivities, inclusions and exclusions are formed. In order to indicate and interpret these relations, it has been necessary to use as analytic tools the terms 'gender' and 'social class'. On the one hand, the use of the term 'gender' can indicate various relations of power and hierarchy, relations that are based on meanings such as 'validity' and 'prestige'. These meanings can be responsible for inclusions and exclusions in the workplace, for economic inequalities and professional evolution. On the other hand, despite the gaps and the deficiency that in many cases exist in the term 'social class' as a tool for analysis, I think that it remains a useful tool for historical analysis and also that its usage can be crucial to the explanation and interpretation of social conflicts, inequalities and collective claims.

Summing up, this study has the ambition to contribute to the refreshment of Greek historiography in the field of social history and particularly in the fields of industrial history and the history of the Greek labour strata. Only a few studies and just in the past few years have done a deep research into industrial labour and particularly into the labour process and into the world of labour itself. Both the study of labour in a big tobacco industry, such as the Matsaggos industry, an important branch of the Greek industry and the productive elaboration of the industry's archive aspire to enrich the historical landscape of Greek labour and additionally, to be included into the wider frame of historiography by offering new historical data.

At the same time, as long as most chapters of this thesis focus on the post-civil war period, this study is expected to contribute to the wider field of Greek post-civil war history. The post-civil war period, while has been, until now, approached by social scientists, sociologists and economists, has received little attention in the past, from historians who mainly focused on politics and economic reconstruction. Not until very recently post-civil war social history has begun to receive attention from historians and social anthropologists. Finally, we need to mention that this study also contributes to the field of local history.

Key words: labour history, working classes, tobacco, cigarette, cigarette industry, Matsaggos, Volos, post civil war Greece

Three - Member Supervisory Committee

Christine Agriantoni, Professor, Contemporary History, Department of History, Archaeology and Social Anthropology, University of Thessaly, Greece

Efi Avdela, Professor, Contemporary History, Department of History and Archaeology, University of Crete, Greece

Christos Loukos, Professor, Modern History, Department of History and Archaeology, University of Crete, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme “Heraclitus II”

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Betas, Th.** (to be published on February 2016). From tobacco-shop to cigarette industry. Technological changes and gender in a Greek cigarette factory in the early 20th century. *Advances in Historical Studies* (it has been submitted to the committee of the journal for a special volume on the history of tobacco).
2. **Μπέτας, Θ.** (2008). Συνδικαλισμός και εργατική διαμαρτυρία στο μεταπολεμικό Βόλο., *Εν Βόλω*, 30, Ιούλιος- Σεπτέμβριος 2008, σελ. 68-75.

   Betas, Th. (2008). Syndicalism and labour protest in post-war Volos, *En Volo*, 30, July-September 2008, pp.68-75.

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες Presentations in scientific conferences and meetings - workshops

1. **Betas, Th.** (2015, May). *The authoritarian state as “protector and guardian”. Practices of the “guardian society” during the first period of the colonels’ dictatorship in Greece (1967-1969) through the pages of the magazine ‘Labour Inspection’*. Paper presented at the international conference “Forms of Public Sociality: Collective Action, Collective Subjectivities and the State in the Twentieth Century,” University of Crete, Rethimno, Crete, Greece.
2. **Betas, Th.** (2013, July). *From tobacco-shop to cigarette industry. Technological changes in a Greek cigarette factory in the early 20th century*. Paper presented at the International Conference Tobacco Roads: Technology Transfer in the Tobacco Industry during the Early Twentieth Century, Kavala, Greece.
3. Μπέτας, Θ. (2013, Ιούνιος). *Ο χώρος, οι μηχανές και οι άνθρωποι. Ιχνηλατώντας τις «υλικές και άυλες» μαρτυρίες ενός εργοστασίου παραγωγής τσιγάρων στο Βόλο κατά τον 20ο αιώνα*. Προφορική ανακοίνωση στο Συνέδριο και Έκθεση αρχιτεκτονικού έργου. Βιομηχανική κληρονομιά: αναβίωση και βιωσιμότητα, Αθήνα.

   Betas, Th. (2013, June).*The place, the machines and people… Tracing the “material” and “intangible” testimonials of a cigarette-making factory in Volos, during the twentieth century.* Paper presented at the Conference and Exhibition of Architectural Project, Industrial Heritage: revival and viability, Athens, Greece.
4. **Μπέτας, Θ.** (2012, Μάρτιος). *Δυνατότητες προσέγγισης της βιομηχανικής κληρονομιάς του κλάδου της καπνοβιομηχανίας μέσα από το αρχείο Ματσάγγου*. Προφορική ανακοίνωση στην ημερίδα με θέμα: «Εργαστήρια Βιομηχανικής Κληρονομιάς: «Το πολυσχιδές της βιομηχανικής κληρονομιάς»», Ελληνικό τμήμα της Διεθνούς Επιτροπής για τη Διατήρηση της Βιομηχανικής Κληρονομιάς, Αθήνα.

   Betas, Th. (2012, Μάρτιος) *Approaches of the industrial inheritance of cigarette industry through Matsaggos’ archives*. Paper presented at the meeting: «Workshop for Industrial Inheritance: “The multi-faceted of Industrial Inheritance”» (Greek Department of TICCIH), Athens, Greece.

Σύντομο Βιογραφικό

Ο **Θανάσης Μπέτας** γεννήθηκε στο Βόλο, το Φεβρουάριο του 1977 και είναι πτυχιούχος του Τμήματος Ιστορίας-Αρχαιολογίας της Φιλοσοφικής Σχολής του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης. Κατά την περίοδο των προπτυχιακών του σπουδών, πραγματοποίησε την πρακτική του άσκηση στο Κέντρο Μικρασιατικών Σπουδών, στο Ελληνικό Λογοτεχνικό και Ιστορικό Αρχείο της Αθήνας και στα Γενικά Αρχεία του Κράτους της Αθήνας. Συνέχισε μεταπτυχιακές σπουδές στη Σύγχρονη Ιστορία, στα πανεπιστήμια του Sussex της Μ. Βρετανίας και της Κρήτης (με υποτροφία από το ευρωπαϊκό πρόγραμμα ΕΠΕΑΕΚ), απ' όπου έλαβε με άριστα το Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης (Master). Η διδακτορική του διατριβή με τίτλο «"Καπνοβιομηχανία Ματσάγγος εν Βόλω,1918-1972". Εργασία και επιβίωση στο Βόλο», εκπονήθηκε με υποτροφία από το πρόγραμμα «Ηράκλειτος ΙΙ».

Έχει εργαστεί σ' ερευνητικά προγράμματα του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και του Πολιτιστικού Ιδρύματος του Ομίλου Πειραιώς (αντίστοιχα: «Η διαμόρφωση των εργατικών στρωμάτων στο Βόλο, 1860-1970» και «Καταγραφή παραδοσιακών εργαστηρίων στο Πήλιο, 19ος -20ος αιώνας»). Το καλοκαίρι του 2014, εργάστηκε ως ερευνητής, με υποτροφία του Ιδρύματος Κρατικών Υποτροφιών της Ελλάδας στο πλαίσιο του Erasmus Plus, στο Διεθνές Κέντρο Κοινωνικής Ιστορίας στο Άμστερνταμ, στο διεθνές ερευνητικό πρόγραμμα «Κοινωνική ιστορία, κοινωνικά κινήματα και αρχειακές πηγές. Η ιστορία του Διεθνούς Κέντρου Κοινωνικής Ιστορίας 1935-2008». Είναι μέλος του επιστημονικού σωματείου «Όμιλος Μελέτης Ιστορίας και Κοινωνίας» και της Ελληνικής Εταιρείας Οικονομικής Ιστορίας (ΕΕΟΙ). Τα ερευνητικά του ενδιαφέροντα αφορούν στην ιστορία της εργασίας στην Ελλάδα τον 20ο αιώνα, στην κοινωνική και οικονομική ιστορία της μεταπολεμικής Ελλάδας.

Είναι παντρεμένος με την Εύη Γεωργούλα με την οποία έχουν δυο γιους, τον Γιάννο και τον Δαμιανό.

Short CV

Thanasis Betas was born in Volos, in February 1977 and graduated from the Department of History and Archaeology, School of Philosophy, Aristotle University of Thessaloniki. His traineeship specialized in Contemporary History and took place in the State General Archives (Athens), in the Greek Literature and History Archives of Athens and in the Center of Minor Asian Studies (Athens). He continued postgraduate studies in Contemporary History at Sussex University of Great Britain and he obtained a Master's Degree from the University of Crete (with a scholarship by the European Programme "EPEAEK"). His thesis, entitled "Matsaggos Cigarette Industry in Volos, 1918-1972, Labour and Survival in Volos", was elaborated with a scholarship by the programme "Heraclitus II".

He has worked in research programmes of the University of Thessaly and of the Cultural Foundation of Piraeus Bank (respectively: "The making of the working-class in Volos, 1860-1960", "Record of traditional workshops in Pilio, 19th -20th ct.".) In summer 2014, he also worked in the International Institute of Social History (The Netherlands), in the research project "Social history, social movements and archival sources. A history of the International Institute of Social History 1935-2008." (with a scholarship by the State Scholarship Foundation of Greece, in the context of the European Programme "Erasmus Plus").

He is a member of the scientific union "Association of Research of History and Society", as well as of the "Greek Company of Economic History". His research interests focus on labour history in Greece in the twentieth century, as well as in social and economic history of postwar Greece.

He is married to Evi Georgoula and they have two sons, Gianno and Damiano.

Χρύσα Μωυσίδου

Πολιτική φαντασία, αντίσταση και σχέσεις εξουσίας στις ικαριακές κοινότητες (Ικαρία- Αθήνα-Νέα Υόρκη).

Περίληψη

Σκοπός της διατριβής είναι να διερευνήσει εθνογραφικά την πολιτική φαντασία στις άτυπες αλλά και στις θεσμικές κοινότητες που συγκροτούν οι Καριώτες στο νησί της Ικαρίας, στην Αθήνα και στο εξωτερικό, απ' όπου επελέγη ως δείγμα η κοινότητα της Νέας Υόρκης. Οι περιγραφικές ενότητες, βασιζόμενες σε μοτίβα δραστηριότητας και στην πράξη, επιχειρούν να απαντήσουν στο ερώτημα κατά πόσο είναι δυνατή η εμπειρική διερεύνηση της φαντασίας, επαναπροσδιορίζοντας την ίδια την κύρια αναλυτική έννοια και μειώνοντας την απόσταση που χωρίζει τη φαντασία από την εμπειρία και τη λογική, στις κυρίαρχες σήμερα δυτικές θεωρήσεις. Υποστηρίζεται ότι η φαντασία ως αναλυτικό εργαλείο μπορεί να φέρει στο εθνογραφικό προσκήνιο νέες όψεις της κοινωνικότητας, είναι ικανοποιητικότερο εννοιολογικό πλαίσιο για να διαπραγματευτεί κανείς την κοινωνική αλλαγή, τους μετασχηματισμούς του ανήκειν και τους προσανατολισμούς της δράσης και αναθεωρεί σχετικές παραδοχές που λανθάνουν αξιωματικά σε πολλές ανθρωπολογικές συζητήσεις.

Η εστίαση στη φαντασία προέκυψε από τις ιθαγενείς εννοιολογήσεις του πολιτικού και της κοινωνικότητας, που συνδέουν όψεις της κοινωνικής δημιουργικότητας, της δράσης και της οικειότητας με τη συλλογική ικανότητα μετάθεσης από ένα κοινωνικό πεδίο των νοερών εικόνων που έχουν παραχθεί σε ένα άλλο κοινωνικό πεδίο. Πρόκειται για μία εθνογραφία που μεθοδολογικά εκκινά από τις αρχές της θεμελιωμένης θεωρίας (grounded theory), αναδεικνύει δηλαδή τη διαλογική σχέση μεταξύ ερευνητή και υποκειμένων της έρευνας ως προς τα ερωτήματα που επιχειρεί να θέσει και ως προς την πυκνότητα της περιγραφής. Οι μεθοδολογικές τεχνικές που εφαρμόστηκαν με χρονικό βάθος οκτώ ετών είναι α) κατά κύριο λόγο: η επιτόπια έρευνα και η συμμετοχική παρατήρηση, οι δομημένες και ελεύθερες προσωπικές και ομαδικές συνεντεύξεις και β) κατά δευτερεύοντα λόγο: οι αφηγήσεις ζωής, η σύνθεση και η διασταύρωση αφηγήσεων σύμφωνα με τα εργαλεία της προφορικής ιστορίας, η έρευνα ιδιωτικών και δημοσίων αρχείων και η παλαιογραφική αποκατάσταση κειμένων. Καθώς η έρευνα πραγματοποιήθηκε σε παραπάνω από έναν τόπους, γλώσσες, πολιτισμικά περιβάλλοντα, χρησιμοποιήθηκαν επίσης τεχνικές και προβληματικές που επιστρατεύονται από τις πολυτοπικές εθνογραφίες των τελευταίων ετών.

Συγκεκριμένα, διερευνώνται εθνογραφικά: η δράση και οι γνωστικές διαστάσεις που αφορούν τον τόπο και τη συγκρότηση της τοπικότητας, πρακτικές και παραστάσεις της κινητικότητας και της ιδιοκτησίας, οι συμβολικές επεκτάσεις του θανάτου στο αίσθημα του ανήκειν στην κοινότητα, τα πεδία της ανταλλαγής και οι ντόπιες εννοιολογήσεις της κοινότητας, τα μοτίβα δραστηριοτήτων που συνδέονται με τη συνέλευση, τα σωματεία και τις συνομαδώσεις, η μείωση της κοινωνικής σημασίας των συγγενικών δικτύων στο πεδίο της τοπικής πολιτικής και οι ντόπιες κατατμήσεις, οι αντιλήψεις περί υλικότητας, οι διεθνείς, ταξικές διαστάσεις και η αορατότητα της ικαριακής ιστορίας του 20ου αιώνα, ο εξισωτικός μηχανισμός που διαβρώνει το κύρος και οι καθημερινές και τελετουργικές επιτελέσεις της ισότητας και το πεδίο της 'ικαριακής ιδεολογίας' που προσδίδει κοσμοπολίτικους χρωματισμούς στο αίσθημα του ανήκειν.

Με βάση τις παραπάνω περιγραφικές θεματικές και τη θεωρητική και πραγματολογική πλαισίωσή τους, επιχειρείται ένας αναλυτικός ορισμός της φαντασίας, που, στην παρούσα διατριβή, καταλήγει να συνενώνει τρία πράγματα: α) την κοσμολογική συγκρότηση και έναν μηχανισμό κατανόησης της κοινωνικής θέσης των υποκειμένων β) την ενσυναίσθηση του άλλου, κοντινού και μακρινού και γ) την κοινωνική δημιουργικότητα, τη φαντασιακή συγκρότηση της αλλαγής και του μέλλοντος.

Τέλος, διαπιστώνεται ότι οι διαλεκτικά σχετιζόμενες έννοιες της οικειότητας και της αυτονομίας, όταν θεωρούνται από τα δρώντα υποκείμενα ως το κεντρικό διακύβευμα της κοινωνικότητας, οδηγούν σε έμφαση στην εξισωτική πολιτική συγκρότηση και σε κλονισμό των ιεραρχικών σχέσεων σε μικρή και μεγάλη κλίμακα.

Λέξεις κλειδιά: πολιτική φαντασία, Ικαρία, ελληνική εθνογραφία, ανήκειν, κοινότητα, σχέσεις εξουσίας

Τριμελής Επιτροπή Διατριβής

Γερτρούδη Ρίκη Βαν Μπούσχοτεν, Καθηγήτρια στο Τμήμα Ιστορίας, Αρχαιολογίας και Κοινωνικής Ανθρωπολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
Ειδικότητα: Κοινωνική Ανθρωπολογία, Προφορική Ιστορία

Αλεξάνδρα Μπακαλάκη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Λαογραφίας και Κοινωνικής Ανθρωπολογίας, Τμήμα Ιστορίας και Αρχαιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης
Ειδικότητα: Κοινωνική Ανθρωπολογία

Ιωάννα Λαλιώτου, Επίκουρη Καθηγήτρια στο Τμήμα Ιστορίας, Αρχαιολογίας και Κοινωνικής Ανθρωπολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
Ειδικότητα: Ιστορία του Σύγχρονου κόσμου με έμφαση στις διαπολιτισμικές σχέσεις.

Chryssa Moisidou

Political imagination, Resistance and Power Relations in Icarian Communities (Icaria Island-Athens-New York)

Abstract

The aim of this dissertation is to ethnographically examine the political imagination in institutional or non-institutional communities of Icarians in Icaria island, Athens and abroad, particularly in New York. The descriptive units, based on activity patterns and praxis, are orientated towards the question whether an empirical research of imagination is viable, while at the same time reframing the core analytical concept of imagination: although the currently dominant western conceptualization distinguishes imagination from experience and reason, I see this separation as highly problematic. I also argue that imagination as analytical tool can bring to the ethnographic forefront the less visible otherwise dimensions of sociality, thus it is a properly rich conceptual framework for studying the social change, the transformations of belonging and the reorientations of action. Finally, using imagination as conceptual prism helps detect and rethink related axioms that are implicit in many anthropological discussions.

This focus on imagination in this dissertation is originated in local conceptualizations of politics and sociability, conceptualizations in which social creativity, action and relatedness are related with the faculty of dynamically re-position and project images and appearances from within a field of concern to another. The methodological principles of this ethnography are originated in grounded theory, trying to designate the dialogue between the researcher and her subjects, concerning the questions as much as the thickness of the description. The methods applied for the eight years fieldwork period are primarily a) participant observation, structured and free personal and group interviews and secondarily b) life narratives, crosscheck and formulation of a community history based to the tools of oral history, research on public and private archives and the palaeographic reconstitution of older texts. Because the research has been conducted in more than one places, languages and cultural environments, techniques and tools that are elaborated in the recent multisited ethnographies, are also in use.

The particular descriptive units refer to: action and cognitive dimensions of place and locality, practices and cultural constructs of property and mobility, the symbolic significance of death for the sentiment of belonging to the community, the local conceptualizations of reciprocity and community, the activity patterns related to assemblies, unions and associations, the role of kin-networks in local politics, the types of segmentary divisions, local perceptions of materiality, the international and class dimensions of the invisible icarian history of the 20th century, the egalitarian mechanisms, the everyday practices and ritual performances of equality and the 'icarian ideology' which colours with cosmopolitanism the sense of belonging.

Based on the above and their theoretical contextualization, I propose that imagination as analytical framework accommodates these three – otherwise distinctive- units: a) cosmology and the cultural knowledge on social positioning mechanisms and hierarchy b) empathy for the Other and the different c) social creativity and the imaginary of the social change and the future.

Finally, I argue that in a society where the dialectically related concepts of autonomy and relatedness are situated as the main hazard of sociality, the egalitarian imagination and the vulnerability of hierarchies prevail.

Key words: Political Imagination, Icaria, Greek Ethnography, Belonging, Community, Power Relations

Three - Member Supervisory Committee

Riki Van Boeschoten, Professor of Social Anthropology and Oral History, History, Archaeology and Social Anthropology Department, University of Thessaly, Greece
Expertise: Social Anthropology, Oral History

Alexandra Bakalaki, Associate Professor of Social Anthropology, History, Archaeology and Folklore Department, Aristotle University of Thessaloniki, Greece
Expertise: Social Anthropology

Ioanna Laliotou, Assistant Professor of History, History, Archaeology and Social Anthropology Department, University of Thessaly, Greece
Expertise: Modern History, transcultural relations

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in Journals

1. **Moisidou, C.** (forthcoming autumn 2015). 'How Greek is the Greek Crisis? Representations of Economic Failure and Cultural Otherness', *Journal of Ethnic and Migration Studies, special issue*.
2. **Moisidou, C.** (2010). 'Hidden land, promised histories': temporal anarchy as strategy toward autonomy". *Journal EthnoAnthropoZoom (online)*.

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες Presentations in scientific conferences and meetings – workshops

1. **Moisidou, C.** (2014, September). *Crisis' subjects. People subjected to crisis vs crisis as a subject matter*. Paper presented at 7th conference of the International Association for Southeast European Anthropology, Istanbul, Turkey.
2. **Μωυσίδου, Χ.** (Οκτώβριος, 2012). *Από τις «επικίνδυνες τάξεις» στις «αόρατες τάξεις». Σκέψεις για την κοινωνική αλλαγή και τη ρήξη με αφορμή την Ικαρία*. Προφορική ανακοίνωση στο 19ο Πανελλήνιο Μεταπτυχιακό Συνέδριο για ΥΔ, Τμήμα Κοινωνιολογίας Πανεπιστημίου Κρήτης, Ρέθυμνο.

   Moisidou, C. (2012, October). *From «dangerous classes» to «invisible classes». Thoughts on social change and rupture, in connection with Icaria*. Paper presented at 19th pan-hellenic postgraduate conference, Sociology Department of the University of Crete, Rethymno, Crete, Greece.
3. **Μωυσίδου, Χ.** (2012, Ιούνιος). *Ιθαγενείς εννοιολογήσεις της τοπικότητας: η Ικαριακή πολιτική φαντασία*. Προφορική ανακοίνωση στην ημερίδα παρουσίασης της ερευνητικής θεματολογίας και της προόδου των διδακτορικών διατριβών στη Σχολή Επιστημών του Ανθρώπου του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, που εκπονούνται στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ», Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.

   Moisidou, C. (2012, June). *Native conceptualizations of locality: the Icarian political imagination*. Paper presented at "Heraclitus II" Meeting of PhD Students of the University of Thessaly, University of Thessaly, Volos, Greece.
4. **Moisidou, C.** (2012, April). *"We are parts of many wholes, and that means that there are no real wholes". Reflections on multiculturalism from multiple Icarias*. Paper presented at the international conference «Mediterranean Meetings», Robert Schuman Institute of the European University, Workshop 04 'Contextualizing Multiculturalism', Florence, Italy.
5. **Μωυσίδου, Χ.** (2011, Δεκέμβριος). *Αρχικοί προβληματισμοί και σύντομη περιγραφή της επιτόπιας έρευνας*. Προφορική ανακοίνωση, Τμήμα ΙΑΚΑ, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.

   Moisidou, C. (2011, December). *Initial questions and short description of the fieldwork research*. Paper presented at Department of History, Archaeology and Social Anthropology, University of Thessaly, Volos, Greece.
6. **Moisidou, C.** (2009, November). *"Hidden land, promised histories": temporal anarchy as strategy toward autonomy*. Paper presented at the international conference titled "*Travel, Exchanges, Translations*" which was organized by the International Research Net Eastbordnet, Queens' University, Belfast, Ireland.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Χρύσα Μωυσίδου** σπούδασε Κλασική Φιλολογία στη Φιλοσοφική Σχολή του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης και πραγματοποίησε μεταπτυχιακές σπουδές στο ίδιο Πανεπιστήμιο καθώς και στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, με αντικείμενο την Κοινωνική Ανθρωπολογία. Έχει εργαστεί ως φιλόλογος, καθηγήτρια ελληνικών και ως μεταφράστρια. Υπήρξε μέλος της συγγραφικής ομάδας του σχολικού εγχειριδίου Ερμηνευτικό Λεξικό της Νέας Ελληνικής του Παιδαγωγικού Ινστιτούτου. Είναι μέλος του ερευνητικού δικτύου COST Action/ Eastbordnet project, ‘Remaking Eastern Borders in Europe’ του Πανεπιστημίου του Μάντσεστερ και της Ευρωπαϊκής Επιτροπής Ερευνών. Τα ερευνητικά της ενδιαφέροντα περιλαμβάνουν ζητήματα ελληνικής εθνογραφίας, ζητήματα συγκρότησης του πολιτικού υποκειμένου και την εθνογραφική διερεύνηση της φαντασίας.

Short CV

Chryssa Moisidou completed her undergraduate studies in Ancient Greek and Latin literature at the Aristotle University of Thessaloniki and received her Master on Social Anthropology from the same University. She also attended the Social Anthropology postgraduate programme of the University of Thessaly. She worked as a Greek Language instructor and as translator. She was member of the lexicographic team of Greek Language Dictionary, issued by the Greek Ministry of Education (Reference Series for Secondary Education). She is member of the Eastbordnet project “Remaking Eastern Borders in Europe”, University of Manchester and of the European Committee of Research. Her research interests involve Greek ethnography, the making of the political subject and the ethnographic exploration of imagination.

Αλεξάνδρα Σιώτου

Ερωτικό Συναίσθημα, έμφυλες ταυτότητες και σχέσεις εξουσίας στο πλαίσιο της δια-εθνικής κινητικότητας των μεταναστών

Περίληψη

Η διατριβή αυτή βασίζεται σε εθνογραφική έρευνα που έλαβε χώρα στην πόλη του Βόλου και μελετά το ερωτικό συναίσθημα και τα ερωτικά βιώματα μεταναστών και μεταναστριών από τη Βουλγαρία και την Αλβανία. Φέρνοντας στο προσκήνιο τα συναισθήματα των μεταναστών και μεταναστριών, τα οποία συνήθως αποσιωπούνται στο δημόσιο λόγο, αλλά και στην έρευνα της μετανάστευσης, η συγκεκριμένη διατριβή επιχειρεί μια εναλλακτική θεωρητική και αναλυτική προσέγγιση της μεταναστευτικής κινητικότητας και εμπειρίας. Στο πλαίσιο αυτής της προσέγγισης, η μελέτη αυτή, ακολουθώντας τις σύγχρονες θεωρητικές αναλύσεις περί συναισθημάτων, οι οποίες καταδεικνύουν την ιστορική, κοινωνική και πολιτισμική παραγωγή των συναισθημάτων, προβαίνει σε μια πολιτική ανάγνωση του ερωτικού συναισθήματος θέτοντας στο επίκεντρο του προβληματισμού τη συνάρθρωση του συναισθήματος, της εξουσίας και της υποκειμενικότητας.

Προσεγγίζοντας το ερωτικό συναίσθημα σε κάθε κεφάλαιο από μια διαφορετική οπτική γωνία, η διατριβή διερευνά πώς οι μετανάστες (ανα)συγκροτούν την υποκειμενικότητά τους στο πλαίσιο πολλαπλών αλληλοδιαπλεκόμενων συναισθηματικών εμπειριών και σύνθετων δια-εθνικών σχέσεων εξουσίας. Στο πλαίσιο αυτό, εξετάζεται πώς το ερωτικό συναίσθημα διαμορφώνεται σε συνάρτηση με την επισφάλεια, την οδύνη, το φόβο, τη φροντίδα. Παράλληλα, η διατριβή εντοπίζει τις πολιτικές του συναισθήματος στην έρευνα της μετανάστευσης και αντιπροτείνει μια εναλλακτική προσέγγιση «οικείων» θεματικών της βιβλιογραφίας περί μετανάστευσης, όπως της εργασιακής απασχόλησης των μεταναστριών στον τομέα υπηρεσιών φροντίδας, μέσω της οποίας αποδιαρθρώνονται οι στερεοτυπικές και σταθερές αναπαραστάσεις της έμφυλης μεταναστευτικής ταυτότητας και αναδεικνύονται οι διαρκείς και δυναμικές διεργασίες συγκρότησης της υποκειμενικότητας.

Πιο συγκεκριμένα, στο πρώτο κεφάλαιο ανιχνεύεται η δια-εθνική διάσταση της ερωτικής καθημερινότητας των μεταναστών/τριών μέσω της εξέτασης των σύνθετων συναισθηματικών επαφών και διαδρομών –νοερών και μη- που συμβάλλουν στην ανάδειξη των κατάλληλων και ακατάλληλων τόπων εύρεσης ερωτικού συντρόφου. Μέσα από την προσέγγιση αυτή αναδεικνύεται πώς η πολιτική οικονομία στη χώρα καταγωγής και στη χώρα υποδοχής διαμορφώνει το ερωτικό φαντασιακό και καθορίζει τις πολιτικές διαχείρισης του ερωτικού συναισθήματος που υιοθετούν οι μετανάστες/τριες, μέσω των οποίων επιχειρούν να ανασυγκροτήσουν την έμφυλη, εθνική και ταξική ταυτότητά τους εν τω μέσω του «εδώ» και του «εκεί».

Το δεύτερο κεφάλαιο εστιάζει στις εργασιακές εμπειρίες των Αλβανίδων και Βουλγάρων μεταναστριών στον τομέα υπηρεσιών φροντίδας και επιχειρεί να εξετάσει πώς η φροντίδα του Άλλου διαπλέκεται με τη φροντίδα του Εαυτού και με το ερωτικό συναίσθημα. Μέσω της μελέτης των αγγιγμάτων φροντίδας, των σπιτικών εδεσμάτων και των ρομαντικών εξόδων των μεταναστών και των μεταναστριών διερευνάται πώς οι καθημερινές επιτελέσεις φροντίδας καθίστανται ένα πεδίο πολιτικής διαπραγμάτευσης του έμφυλου, εθνικού και ερωτικού εαυτού. Στο πλαίσιο αυτής της προσέγγισης, αναδεικνύεται πως οι μετανάστριες νοηματοδοτώντας συγκεκριμένες μορφές επιτέλεσης φροντίδας ως τεκμήρια αγάπης και αναδιαπραγματευόμενες τους όρους καθημερινής επιτέλεσης του ερωτικού «μαζί» επιδιώκουν να ανατρέψουν τις άνισες έμφυλες σχέσεις εξουσίας -εντός και εκτός ερωτικού δεσμού-, να αποφυσικοποιήσουν την παγιωμένη ταυτότητά τους ως παρόχων φροντίδας και να αποκαταστήσουν το έμφυλο, ταξικό και κοινωνικό τους κύρος, που απώλεσαν λόγω της εργασιακής και μεταναστευτικής τους ταυτότητας.

Στο τρίτο κεφάλαιο, αναλύεται άλλη μια κεντρική πτυχή της ερωτικής ζωής των μεταναστριών: ο ερωτικός πόνος. Όμως, στην προκείμενη περίπτωση οι αφηγήσεις του ερωτικού πόνου ούτε συντηρούν, ούτε ενισχύουν την υποστασιοποίηση των μεταναστριών ως φιγούρων αξιοθρήνητης τρωτότητας και ως παθητικών υποκειμένων. Αντίθετα, τα εθνογραφικά δεδομένα καταδεικνύουν πως η έμφυλη τρωτότητα μετατρέπεται σε ένα εργαλείο αγωνισμού. Το ερωτικό τραύμα, το οποίο στην περίπτωση των Βουλγάρων μεταναστριών προκαλείται λόγω των αθέατων σχέσεων εξουσίας -σε επίπεδο φύλου, εθνικότητας, τάξης- εντός της ερωτικής σχέσης, ενώ στην περίπτωση των Αλβανίδων μεταναστριών σχετίζεται με τη διάψευση του μεταναστευτικού ονείρου, οδηγεί σε μια διαδικασία αναστοχασμού των επιθυμιών και των αντοχών τους και αναπροσδιορισμού της ταξικής και κοινωνικής τους θέσης στον κόσμο. Αυτό διαφαίνεται με σαφήνεια στην περίπτωση των Βουλγάρων μεταναστριών, ο ερωτικός πόνος των οποίων αφηγηματοποιείται στο πλαίσιο της καφεμα-

ντείας. Οι απόπειρες ίασης του ερωτικού τραύματος μέσω μεταφυσικών πρακτικών (ανάγνωση φλιτζανιών, τελετουργίες μάγευσης του αντικειμένου του πόθου, γράμματα σε γκουρού) ενώ αποτυπώνουν -και αναπαράγουν- την επισφάλεια της έμφυλης μεταναστευτικής πραγματικότητας και αποκαλύπτουν τους έμφυλους όρους επιμερισμού της κοινωνικής οδύνης, την ίδια στιγμή συνιστούν άρρητες μορφές διαμαρτυρίας απέναντι στις κοινωνικές και οικονομικές συνθήκες της μεταναστευτικής εμπειρίας και στις εδραιωμένες κοινωνικές ιεραρχήσεις και καθίστανται εφόδια ενδυνάμωσης του έμφυλου εαυτού - αν και σε συνθήκες αποδυνάμωσης.

Το τέταρτο κεφάλαιο επικεντρώνεται στους «δυνητικούς» έρωτες καταγράφοντας πώς οι τεχνολογικά διαμεσολαβημένες ερωτικές εμπειρίες των μεταναστών και μεταναστριών συνιστούν νέες τροπικότητες ανασυγκρότησης του εθνικού και έμφυλου εαυτού εν τω μέσω της πραγματικής και δυνητικής συναισθηματικής ζωής. Πιο συγκεκριμένα, μελετάει πώς η κατανάλωση των νέων κανονιστικών προτύπων σχεσιακότητας (dating sites, αγγελίες εύρεσης ερωτικού συντρόφου στον έντυπο τύπο, facebook, sms) από πλευράς των μεταναστών/τριών ισοδυναμεί με μια απόπειρα διεκδίκησης της ορατότητας του ερωτικού τους εαυτού και αναπροσδιορισμού της μεταναστευτικής τους ταυτότητας και συνεπάγεται τη δημιουργία απροσδόκητων δια-εθνικών μορφών και κοινοτήτων ανήκειν, στο πλαίσιο των οποίων επαναξιολογούν εδραιωμένες μορφές οικειότητας και συνάφειας, αλλά και υπάγονται σε νέους συσχετισμούς εξουσίας.

Μέσω της μελέτης και ανάλυσης των πολλαπλών συναισθηματικών εμπειριών και πτυχών της ερωτικής καθημερινότητας των μεταναστών/τριών, στην πραγματικότητα, χαρτογραφούνται οι έμφυλες, σεξουαλικές, εθνικές, ταξικές, αλλά και συναισθηματικές προϋποθέσεις που ορίζουν ποιες μορφές έρωτα καθίστανται πολιτισμικά διανοητές ως έρωτες και αντίστοιχα καθορίζουν ποια σώματα αναγνωρίζονται ως σώματα άξια να αγαπηθούν στο πλαίσιο των δυτικών βιοπολιτικών Λόγων του έρωτα. Υπό αυτήν την έννοια, τα κεφάλαια αυτής της διατριβής, αν και αναλύουν επιμέρους θεωρητικά ζητήματα, στην ουσία, πραγματεύονται το ερώτημα που βρίσκεται στο επίκεντρο του προβληματισμού της συγκεκριμένης διατριβής και αφορά το δικαίωμα στον έρωτα. Προσεγγίζοντας το ερωτικό συναίσθημα ως ένα κανονιστικό ιδεώδες, που θέτει τους όρους και τα πρότυπα της αναγνωρισιμότητας του ανθρώπινου, η συγκεκριμένη διατριβή εξετάζει πώς τα υποκείμενα που εκτοπίζονται από την επικράτεια του έρωτα, άρα και του ανθρώπινου και αντίστροφα, βιώνουν την κανονιστική βία του έρωτα. Στο πέμπτο κεφάλαιο, όπου συγκεφαλαιώνονται τα ευρήματα της εθνογραφικής μελέτης, υποστηρίζεται πως το ερωτικό συναίσθημα συνιστά ένα πεδίο διακυβέρνησης του βιοπολιτικού σώματος, αλλά και ταυτόχρονα ένα πεδίο αντίστασης, καταδεικνύοντας πως οι μετανάστες και οι μετανάστριες στο πλαίσιο αδυνατοτήτων του ανήκειν και ποικίλων συναισθηματικών εμπειριών ετεροποίησης, που διακυβεύουν την ανθρωπινότητα τους, ανανοηματοδούν ενδυναμωτικά ως προς την έμφυλη και εθνική τους ταυτότητα το ερωτικό συναίσθημα, υιοθετώντας συγκεκριμένες πολιτικές διαχείρισης του ερωτικού συναισθήματος, μέσω των οποίων διεκδικούν τη συμπερίληψη τους στην επικράτεια του ανθρώπινου.

Λέξεις κλειδιά: Ερωτικό συναίσθημα, μετανάστευση, Αλβανία, Βουλγαρία, κοινωνικό φύλο, δια-εθνικότητα, οδύνη, φροντίδα, νέες τεχνολογίες επικοινωνίας, βιοπολιτική, πολιτικές του συναισθήματος

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Ρίκη Βαν Μπούσχοτεν, Καθηγήτρια, Κοινωνική Ανθρωπολογία και Προφορική Ιστορία, Τμήμα Ιστορίας, Αρχαιολογίας και Κοινωνικής Ανθρωπολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας (*επιβλέπουσα*)

Ελένη Παπαγαρουφάλη, Καθηγήτρια, Κοινωνική Ανθρωπολογία, Τμήμα Κοινωνικής Ανθρωπολογίας του Πάντειου Πανεπιστημίου Κοινωνικών και Πολιτικών Επιστημών

Αθηνά Αθανασίου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Κοινωνική Ανθρωπολογία, Τμήμα Κοινωνικής Ανθρωπολογίας του Πάντειου Πανεπιστημίου Κοινωνικών και Πολιτικών Επιστημών

Alexandra Siotou

Love, gendered identities and power relationships: examining migrant's transnational lives

Summary

The thesis drawing on an ethnographic research conducted in Volos examines the erotic experiences of Albanian and Bulgarian men and women, who came to Greece as migrants. Migration studies have tended to focus on the economic aspects of migration phenomena (costs, benefits and working lives of migrants) and failed to recognize the role of emotions, feelings and affect in the motivation and experience of migration. From this perspective, this ethnography approaches and investigates an underresearched

dimension of migratory experience within a theoretical framework that seeks to further our understanding of emotions. Following contemporary anthropological work on emotions, which illustrate that they should not be regarded as pre-social, pre-discursive, universal biological and individual states, this thesis indicates that emotions are socially and historically constructed and tied to cultural practices and political processes. More specifically, the study and analysis of migrants' experiences and reinterpretations of love under the given conditions of their daily lives in the context of their transnational mobility offers an understanding of the complex relation between power, subjectivity and emotion.

Each chapter, which focuses on different aspects of migrants' erotic lives, discusses how migrants (re)constitute their subjectivity in the context of multiple interweaving emotional experiences and transnational relations of power. This analysis provides a glimpse onto the complex interconnections between love, care, fear, suffering and precarity. Moreover, each chapter critically analyzing the politics of emotions in migrations studies suggests an alternative approach of care-work, family, sexuality, that attempts to dismantle monolithic constructions of migrants' gendered identities.

The first chapter examines migrants' narratives about desirable partners and the "appropriate" places where they could trace them. The ethnographic data show that the transnational emotional contacts and, in particular, the political economy of host and home country redefine migrants' memories, imaginations, gender values and reshape their erotic expectations, which reflect their desire to regain their social and gendered status in between "here" and "there". The second chapter focuses on Albanian and Bulgarian women's experiences of domestic work and explores how various kinds of care performances intersect with love. How the care of the Other affects their representations of love and their emotional values? How they renegotiate their gendered and ethnic identities through everyday performances of care work? The third chapter refers to traumatic experiences of love and points to the connections of social and political asymmetries with subjective experiences of loneliness and depression. Even though migrants' narratives and healing practices (like magic spells) reflect and reproduce women's precarity, the ethnographic data demonstrate that women convert pain into a site of empowerment and contestation of the established power relations. The fourth chapter turns to migrants' "virtual" loves. It suggests that the consumption of new transnational matchmaking services (dating sites) and of new technologies of communication (facebook, sms) offers migrants the possibility to participate in new communities of belonging, in which they redefine their ethnic and gendered identity constructing and showing off a loveable Self.

Taken together, these chapters address the right to love. Thus, placing love at the heart of this study my aim is to discuss and analyze the gendered, sexual, ethnic, racial and emotional norms that define specific bodies as loveable. The fifth chapter, approaching love as a normative ideal that regulates and recognizes who is considered as human, examines how migrants counter their exclusion from love because of their stigmatised gendered and ethnic identity. In this theoretical framework, I argue that migrants exercise their agency through their renegotiations and reinterpretations of love claiming a sense of humanity.

Key words: Love, Emotions, Migration, Albania, Bulgaria, gender, transnationalism, care, suffering, new technologies of communication, biopolitics, politics of emotion

Three - Member Supervisory Committee

Riki Van Boeschoten, Professor, Social Anthropology and Oral History, Department of History, Archaeology & Social Anthropology, University of Thessaly, Greece *(supervisor)*

Eleni Papagaroufali, Professor, Social Anthropology, Department of Social Anthropology, Panteion University of Social and Political Sciences, Athens, Greece

Athena Athanasiou, Professor, Social Anthropology, Department of Social Anthropology, Panteion University of Social and Political Sciences, Athens, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ»
Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Κεφάλαια σε συλλογικά έργα

1. **Σιώτου, Α.** (υπό έκδοση).«Κόβε, ράβε, ξήλωνε»: ενδυματολογικές διαπραγματεύσεις της έμφυλης ταυτότητας των Αλβανών μεταναστών. Στο Ρ. Βαν Μπούσχοτεν, Ι. Λαλιώτου (Επιμ.), *Έμφυλοι λόγοι μετανάστευσης στη Νοτιοανατολική Ευρώπη*. Αθήνα: Εκδόσεις Νεφέλη.

Siotou A. (Forthcoming). "Cut up and Sew": Fashioning Albanian migrant's gendered identities. In R. Van Boeschoten and I. Laliotou (Eds), *Gendered narratives of migration in Southeastern Europe*. Athens: Nefeli.

2. **Σιώτου, Α.** (υπό έκδοση). Το πάρκο των «ανεπιθύμητων εραστών»: αναγνώσεις του δημόσιου χώρου μέσα από την συναισθηματική καθημερινότητα των Βουλγάρων μεταναστριών. Αθήνα: Εκδόσεις Πλέθρον.

   Siotou A. (Forthcoming). "The park of undesirable lovers": exploring the public space through Bulgarian migrant women's daily lives. Athens: Plethron

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες Presentations in scientific conferences and workshops

1. **Σιώτου, Α.** (2014, Μάρτιος). Χαρτογραφώντας τις συναισθηματικές καθημερινότητες των Βουλγάρων μεταναστριών στο Βόλο. Προφορική ανακοίνωση στο Δεύτερο Συνέδριο Προφορικής Ιστορίας: *Η Μνήμη Αφηγείται την Πόλη. Προφορικές μαρτυρίες για το παρελθόν και παρόν του αστικού χώρου*, Αθήνα.

   Siotou, A. (2014, March). *Cartographing Bulgarian migrant women's emotional daily lives in Volos*. Paper presented at Second International Conference on Oral History: Memory narrates the city- Oral testimonies on the past and present of urban place, Athens, Greece.
2. **Siotou A.** (2013, January). *Borders of love: the case of young Albanian migrants in Greece*. Paper presented at Second Eastbordnet Conference, Relocating Borders: a comparative approach, Berlin,Germany. Conference's website: http://www.eastbordnet.org/working_papers/open/relocatingborders/SiotouBordersoflove130111.pdf
3. **Σιώτου, Α.** (2012, Ιούνιος). *Ερωτικό συναίσθημα, Έμφυλες Ταυτότητες και Σχέσεις εξουσίας στο πλαίσιο της διεθνικής κινητικότητας των μεταναστών: Ερευνητικά Ερωτήματα και Μεθοδολογικές Προσεγγίσεις*. Προφορική ανακοίνωση στην Ημερίδα «Ερευνητική Θεματολογία και Πρόοδος των Διδακτορικών Διατριβών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στο πλαίσιο του «Ηράκλειτου ΙΙ», Βόλος.

   Siotou, A. (2012, June). *Love, gendered identities and relations of power in the context of transnational migration: Research Questions and Methodological Approach*. Oral presentation at the Event: Research Thematology and Progress of the Ph.d Theses at University of Thessaly, Heraclitus II, Volos, Greece.

Άλλες παρουσιάσεις - Other Presentations

1. **Σιώτου Α.** (2014, Μάιος). *Μεταναστευτικές ιστορίες του έρωτα*. Παρουσίαση στο μάθημα «Σύγχρονα ψυχολογικά αδιέξοδα και οι απαντήσεις της φιλοσοφίας» της κοινωνικής ανθρωπολόγου Ελπίδας Ρίκου, Ακαδημία Πλάτωνος, Αθήνα.

   Siotou, A. (2014, May). *Immigrant stories of love*. Presentation in the Course "Contemporary psychological dead-ends and philosophy", Professor Elpida Rikou, Akadimia Platonos, Athens, Greece.
2. **Σιώτου, Α.** (2014, Απρίλιος). «*Καρδιά σα γροθιά*»: *Κινητικότητα και ιστορίες πόνου των Βουλγάρων μεταναστριών*. Διάλεξη στο Τμήμα ΙΑΚΑ, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.

   Siotou, A. (2014, April). *«Force of Heart»: Mobility and erotic trauma of Bulgarian migrant women*. Lecture at Department of History, Archaeology and Social Anthropology, University of Thessaly, Volos, Greece.
3. **Σιώτου, Α.** (2014, Μάρτιος). *Οι φιγούρες του καφέ: Αναγνώσεις του ερωτικού πόνου των Βουλγάρων μεταναστριών*. Ανακοίνωση στο πλαίσιο του Κύκλου συζητήσεων με θέμα «Ανθρωπολογικές και διεπιστημονικές προσεγγίσεις των αισθήσεων και των συναισθημάτων», Ελληνική Εταιρεία Εθνολογίας, Αθήνα.

   Siotou, A. (2014, March). *Coffee Figures: Reading Bulgarian migrant women's traumatic erotic experiences*. Presentation within Lectures on "Anthropological and interdisciplinary approaches to senses and emotions", Greek society for Ethnology, Athens, Greece.
4. **Siotou, A.** (2012, May-June). *Engendering and Embodying Love: Theoretical and Methodological Issues*. Presentation in the Feminist Critical Analysis Course: Science, Bodies and New Materialism, organized by the Center for Gender and Politics (University of Belgrade), Women's and Gender Studies Department (Rutgers University) Gender Studies Department (Central European University), Dubrovnik, Croatia.
5. **Σιώτου, Α.** (2011, Δεκέμβριος). Διάλεξη παρουσίασης της διατριβής στο Τμήμα ΙΑΚΑ, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.

   Siotou, A. (2011, December). Presentation of Ph.d Thesis, Department of History, Archaeology and Social Anthropology, University of Thessaly, Volos, Greece.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Αλεξάνδρα Σιώτου** σπούδασε Κοινωνική Ανθρωπολογία στο Τμήμα Ιστορίας, Αρχαιολογίας, Κοινωνικής Ανθρωπολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και πραγματοποίησε μεταπτυχιακές σπουδές στην Πολιτισμική Πολιτική, Διοίκηση και Επικοινωνία στο Τμήμα Επικοινωνίας, Μέσων και Πολιτισμού του Πάντειου Πανεπιστημίου Κοινωνικών και Πολιτικών Επιστημών.

Συμμετείχε ως ερευνήτρια στο πρόγραμμα «Σχεδιασμός και πιλοτική εφαρμογή ειδικών μαθημάτων ελληνικής γλώσσας για μετανάστες/τριες, γονείς με παιδιά στην υποχρεωτική εκπαίδευση» (Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, επιστημονικός υπεύθυνος: Ανδρουλάκης Γιώργος) και στο πρόγραμμα «Πυθαγόρας» (ΕΠΕΑΕΚ ΙΙ) με θέμα τις «Έμφυλες Διαστάσεις της Μετανάστευσης στην Νοτιοανατολική Ευρώπη» (Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, επιστημονικά υπεύθυνη: Ρίκη Βαν Μπούσχοτεν). Επίσης, συμμετείχε ως ειδική συνεργάτιδα στο ερευνητικό πρόγραμμα «Ένταξη των Τσιγγανοπαίδων στο Σχολείο» το διάστημα 2002-2004 (Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, επιστημονικός υπεύθυνος: Παναγιώτης Παπακωνσταντίνου) και το διάστημα 2006-2008 (Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, επιστημονικός υπεύθυνος: Ναπολέων Μήτσης). Έχει εργαστεί ως εκπαιδευτικός σε Ινστιτούτο Επαγγελματικής Κατάρτισης του Οργανισμού Απασχόλησης Εργατικού Δυναμικού στην ειδικότητα «Κοινωνιολόγος». Τα ερευνητικά της ενδιαφέροντα εντάσσονται στην ανθρωπολογία της μετανάστευσης, του φύλου, του σώματος, της σεξουαλικότητας και των συναισθημάτων.

Ολοκλήρωσε τη διδακτορική της διατριβή, με τίτλο "Ερωτικό συναίσθημα, έμφυλες ταυτότητες και σχέσεις εξουσίας στο πλαίσιο της διεθνικής κινητικότητας των μεταναστών", στο Τμήμα Ιστορίας, Αρχαιολογίας, Κοινωνικής Ανθρωπολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, με υποτροφία "Ηράκλειτος ΙΙ".

Short CV

Alexandra Siotou studied Social Anthropology in the Department of History, Archaeology and Social Anthropology at the University of Thessaly. She holds a Master's Degree in Cultural Policy, Management and Communication from the Department of Communication, Media and Culture at Panteion University of Athens.

She has participated as a researcher in the project Puthagoras (EPEAEK II)"Gendered Aspects of Migration in Southeastern Europe (University of Thessaly, research supervisor: Riki Van Boeschoten), in the programme "Elmego: Greek for Immigrant Parents" (University of Thessaly, research supervisor: Giorgos Androulakis) and in the programme "Education of Roma Children" (University of Ioannina, research supervisor: Panagiotis Papakonstantinou, Univerisity of Thessaly, research supervisor: Napoleon Mitsis).

Her research interests include the anthropology of migration, gender and sexuality, emotions and body politics. She completed her doctoral thesis, titled "Love, gendered identities and power relationships: examining migrant's transnational lives" in the Department of History, Archaeology and Social Anthropology of the University of Thessaly, with a "Heraclitus II" PhD scholarship.

Λαμπρινή Στύλιου

Ζητήματα νεανικής κουλτούρας και ταυτοτήτων της δεύτερης γενιάς μεταναστών. Η περίπτωση της εγχώριας αλβανικής χιπ χοπ σκηνής στην Ελλάδα

Περίληψη

Η διδακτορική διατριβή εξετάζει την κατασκευή, άρθρωση και διαχείριση ταυτοτήτων και υποκειμενικοτήτων ανάμεσα σε νεαρούς αλβανικής καταγωγής που ζουν στην Αθήνα και παράγουν ραπ μουσική. Η έρευνα εστιάζει στο παράδειγμα ενός συγκεκριμένου ραπ σχήματος και στα σχέδια, τις επιθυμίες, τις στρατηγικές και τις αφηγήσεις - μουσικές και μη - των νεαρών ανδρών που το συγκροτούν, επιδιώκοντας μια ανάγνωση της 'δεύτερης γενιάς' που κινείται πέρα από δείκτες ένταξης, εκπαιδευτικής ενσωμάτωσης και κοινωνικής κινητικότητας.

Από τις αρχές της δεκαετίας του '90 η Ελλάδα άρχισε να δέχεται αυξημένες ροές μεταναστών, με το μεγαλύτερο ποσοστό αυτών να προέρχονται από τη γειτονική χώρα της Αλβανίας, που βίωνε τις συνέπειες της κατάρρευσης του επί σαράντα πέντε χρόνια κομμουνιστικού καθεστώτος διακυβέρνησης. Την ίδια δεκαετία, τόσο στην Ελλάδα όσο και στην Αλβανία, σημειώνονται οι πρώτες απόπειρες οικειοποίησης της ραπ μουσικής και χιπ χοπ κουλτούρας από νεαρούς που, μιμούμενοι τους Αφρο-Αμερικανούς συνομηλίκους τους, ραπάρουν στη μητρική τους γλώσσα. Τις τελευταίες δύο περίπου δεκαετίες λαμβάνει χώρα ένα δυναμικό ρεύμα οικειοποίησης της μουσικής αυτής έκφρασης από νέους και νέες σε όλο τον κόσμο: από τη Γαλλία και τη Γερμανία μέχρι την Ιαπωνία, τη Νέα Ζηλανδία και χώρες της Λατινικής Αμερικής. Στο ταξίδι της αυτό, μεταλλάσσεται γλωσσικά και μουσικά αντανακλώντας κάθε φορά εντόπιες κατηγορίες και χαρακτηριστικά, ενώ συμβολισμοί, έννοιες και ιδεολογικά σχήματα που παραδοσιακά συγκροτούν τον αξιακό κώδικα της χιπ χοπ κουλτούρας επενδύονται με νέα νοήματα.

Η ραπ μουσική ως έκφραση της χιπ χοπ κουλτούρας έχει ιστορικά εκλάβει χαρακτηριστικά 'αντισυμβατικότητας', με μια ουσία ανατρεπτική και επαναστατική που εγγράφεται σε μηνύματα αντίστασης και αντί-λογου απέναντι σε ηγεμονικά συστήματα και αναπαραστάσεις. Εξαιτίας αυτού του πρόσημου αλλά και λόγω των ευκολιών που παρέχει ως είδος, πολύ συχνά υιοθετείται από μετανάστες και παιδιά μεταναστών σε διάφορες χώρες ως μέσο δημιουργικής έκφρασης και αφήγησης των εμπειριών τους. Είναι γεγονός ότι, σε πολλές περιπτώσεις, το ραπ αφήγημα μεταναστών γίνεται έκφραση θυμού και διαμαρτυρίας για τις συνθήκες ρατσισμού, άνισης μεταχείρισης και αποκλεισμών που συχνά βιώνουν στις χώρες υποδοχής ή/και υπεράσπισης της εθνοτικής τους ταυτότητας σε συνθήκες μετανάστευσης. Ωστόσο, η στερεοτυπική σχεδόν εστίαση πολλών μελετών στην ανίχνευση μόνο τέτοιων νοημάτων, θεωρώ ότι αποκλείει την ανάδειξη εναλλακτικών ιστοριών και λόγων 'αντίστασης', καθώς και διαδικασιών διαμόρφωσης νέων θέσεων υποκειμένου που εγγράφονται στις ραπ επιτελέσεις μεταναστών.

Η διατριβή αυτή μελετά εθνογραφικά στίχους, ήχους, λόγους και διαδρομές μιας συγκεκριμένης ραπ συλλογικότητας, με σκοπό να κατανοήσει τους σύνθετους τρόπους με τους οποίους τα μέλη της παράγουν νέα πεδία κοινωνικής κριτικής με βάση τα πολλαπλά πλαίσια στα οποία ενεργούν και τα οποία δεν ορίζονται μόνο από τη δυαδική σχέση των μεταναστών με τη χώρα υποδοχής. Αν για τους πρώτους εκφραστές της χιπ χοπ κουλτούρας το ραπ αφήγημά τους εκτυλισσόταν με φόντο τις συνθήκες που επικρατούσαν στα γκέτο της Νέας Υόρκης την εποχή της αποβιομηχάνισης, το ραπ αφήγημα των πληροφορητών μου εντάσσεται και συνομιλεί διαρκώς με το σύγχρονο κοινωνικό-πολιτικό τοπίο της Αλβανίας, όπως αυτό διαμορφώθηκε στη μετά το 1990 εποχή. Οι υποκειμενικότητες που συγκροτούν ως μετανάστες στην Ελλάδα και σχηματοποιούνται επιτελεστικά και λογοθετικά στη ραπ μουσική τους, υποστηρίζω ότι παράγονται στο πλαίσιο αυτής της διεθνικής συνθήκης.

Λέξεις κλειδιά: αλβανική μετανάστευση, Αθήνα, νεολαία, ραπ μουσική, χιπ χοπ κουλτούρα, ταυτότητες, υποκειμενικότητες, διεθνισμός

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Ρίκη Βαν Μπούσχοτεν, Καθηγήτρια, Κοινωνική Ανθρωπολογία και Προφορική Ιστορία, Τμήμα Ιστορίας, Αρχαιολογίας & Κοινωνικής Ανθρωπολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Πηνελόπη Παπαηλία, Επίκουρη Καθηγήτρια Ιστορικής Ανθρωπολογίας, Τμήμα Ιστορίας, Αρχαιολογίας, Κοινωνικής Ανθρωπολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Κωνσταντίνος Γιαννακόπουλος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Κοινωνική Ανθρωπολογία, Τμήμα Ιστορίας και Κοινωνικής Ανθρωπολογίας, Πανεπιστήμιο Αιγαίου

Lambrini Stiliou

Issues of youth culture and identity formation of the second generation migrants: the case of the Albanian hip hop scene in Greece

Abstract

The thesis studies the construction, articulation and negotiation of identities and subjectivities of young men of Albanian descent who live in Athens and make rap music. The research uses as its case study a particular rap collective and focuses on the plans, desires, strategies and narrations –musical and non musical – of its members, in the context of a study of 'second generation' migrant youth that goes beyond estimations on integration, social mobility and education attainment.

Since the early 1990s large numbers of immigrants arrived in Greece, turning it from an emigration into an immigration country. The majority were Albanians leaving their country after the collapse of the communist regime and due to its aftermath consequences. In the same decade, both in Greece and in Albania, rap music and hip hop culture started becoming popular among youngsters and so the first 'crews' rapping in their native languages were formed. During the last two decades rap music and hip hop culture have evolved to a global phenomenon, with youths creatively adapting it in locales as varied as France, Germany, Japan, New Zealand and Latin America. In its global mobility rap is being linguistically and musically transformed, reflecting native categories, features and contexts. Moreover, symbols, codes and values forming part of the genre's ideology and imagery are invested with new meanings depending on local knowledge, conditions and sensibilities.

Rap music as part of hip hop culture has historically developed an unconventional character, with a subversive and revolutionary substance inscribed in resistant and counter-discourse narratives against hegemonic representation and power regimes. Due to this fact and its malleability as a musical genre, it has been especially popular among migrants and migrant youths all over the world as a means of artistic creativity and articulation of their experiences. It is true that in many cases their rap narrative takes the form of anger or protest against conditions of racism, inequality and exclusion often experienced in the host countries; or/ and of an empowered ethnic identity in conditions of migrancy. However, focusing only on that aspect and treating migrant rappers merely as agents of de facto resistance on the margins of their host society, deprives them of other possible agencies and subjectivities produced in rap practice.

The thesis studies the lyrics, sounds, narrations and routes of a particular rap collective, in order to ethnographically understand the complex ways in which its members produce new fields of social critique, stemming not just from the binary relation to the host country but from the multiple contexts in which they operate. While the postindustrial condition of the inner-city ghettos of New York formed the background for the first rap productions, my informants' rap narrative unfolds in relation to Albania's socio-political condition in the post-1990 era. I argue that it is within this transnational condition lived by these young migrants in Greece, that they form the subjectivities discursively and performatively produced in their rap music.

Key words: Albanian migration, Athens, youth, rap music, hip hop culture, identities, subjectivities, transnationalism

Three - Member Supervisory Committee

Riki Van Boeschoten, Professor, Social Anthropology and Oral History, Department of History,Archaeology & Social Anthropology, University of Thessaly, Greece

Penelope Papailias, Assistant Professor, Historical Anthropology, Department of History, Archaeology & Social Anthropology, University of Thessaly, Greece

Konstantinos Giannakopoulos, Associate Professor, Social Anthropology, Department of History and Social Anthropology, University of Aegean, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος « Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Κεφάλαια σε συλλογικά έργα

1. **Styliou, L.** (υπό έκδοση/forthcoming). «'Leviz mo la'! Albanian rap music made in Athens». In D. Tragaki (Ed.) *Made in Greece. Studies in Popular Music in Greece*, London and New York: Routledge.

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και σε ημερίδες
Presentations in scientific conferences and meetings - workshops

1. **Styliou, L.** (2013, October). *'Ne levizje' [On the move]: Albanian rap made in Athens*. Paper presented at 10th Annual Conference of the Romanian Society for Social and Cultural Anthropology "'Cultures of Mobility and Immobility', Sibiu.
2. **Στύλιου, Λ.** (2010, Ιούνιος). *"Une jam burri me rr": Επιτέλεση του ανδρισμού στην αλβανική χιπ χοπ σκηνή της Αθήνας*. Ανακοίνωση στη Διημερίδα «(Αρσενικοί και Μη) Ανδρισμοί», Πανεπιστήμιο Αιγαίου, Τμήμα Κοινωνικής Ανθρωπολογίας και Ιστορίας, Μυτιλήνη.

   Styliou, L. (2010, June). "*Une jam burri me rr": Performing masculinity in the Albanian hip hop scene of Athens*. Paper presented at the Meeting "(Masculine and other) Masculinities", University of Aegean, Department of History and Social Anthropology, Mytilene, Greece.
3. **Στύλιου, Λ.** (2009, Ιούνιος). *Μουσική παραγωγή νεαρών μεταναστών και ζητήματα ταυτοτήτων: η περίπτωση της hip hop μουσικής κουλτούρας*. Ανακοίνωση στο Συνέδριο στο πλαίσιο του Puzzle Festival με θέμα την καλλιτεχνική παραγωγή μεταναστών, Αθήνα.

   Styliou, L. (2009, June). *Music making of young migrants and issues of identity: the case of hip hop music culture*. Paper presented at Puzzle Festival and Conference on the Artistic Work of Immigrants, Athens, Greece.

Άλλες παρουσιάσεις/ Other presentations

1. **Στύλιου, Λ.** (2014, Δεκέμβριος). Παρουσίαση της διατριβής στο πλαίσιο του σεμιναριακού μαθήματος «Σύγχρονες προβληματικές στην ανθρωπολογία της μουσικής» (διδάσκουσα Δάφνη Τραγάκη), Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα «Διεπιστημονικές προσεγγίσεις στην Ιστορία, την Αρχαιολογία και την Κοινωνική Ανθρωπολογία», Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.

   Styliou, L. (2014, December). Lecture based on the thesis' findings delivered as part of the postgraduate seminar "Current issues in music anthropology" (lecturer Daphne Tragaki), MA Programme "Intercultural approaches in History, Archaeology and Social Anthropology", University of Thessaly, Volos, Greece.
2. **Στύλιου, Λ.** (2012, Ιούνιος). *'Ανήκω στη γενιά του '90 που μεγάλωσε στη μετάβαση': Νέοι αλβανικής καταγωγής και χιπ χοπ μουσική στην Αθήνα*. Διάλεξη στην ημερίδα παρουσίασης της ερευνητικής θεματολογίας και της προόδου των διδακτορικών διατριβών, που εκπονούνται στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ», στη Σχολή Επιστημών του Ανθρώπου του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.

   Styliou, L. (2012, June). *"I represent the generation of the 1990s who grew up in transition": Albanian youth and hip hop music in Athens*. Lecture at the presentation event of the research thematology and progress of the PhD works, funded by the program "Heraclitus II" in the School of Humanities of the University of Thessaly, University of Thessaly, Volos, Greece.
3. **Στύλιου, Λ.** (2011, Δεκέμβριος). *Νέοι αλβανικής καταγωγής και χιπ χοπ μουσική στην Αθήνα.* Διάλεξη παρουσίασης της διατριβής στο Τμήμα Ιστορίας-Αρχαιολογίας-Κοινωνικής Ανθρωπολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.

   Styliou, L. (2011, December). *Albanian youth and hip hop music in Athens.* Lecture at the Department of History, Archaeology and Social Anthropology, University of Thessaly, Volos, Greece.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Λαμπρινή Στύλιου** γεννήθηκε στα Ιωάννινα το 1980. Είναι κοινωνική ανθρωπολόγος και υποψήφια Διδάκτωρ στο Τμήμα Ιστορίας, Αρχαιολογίας και Κοινωνικής Ανθρωπολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Σπούδασε Κοινωνική Ανθρωπολογία στο ίδιο τμήμα (1998-2002) και είναι κάτοχος μεταπτυχιακού τίτλου σπουδών από το Πανεπιστήμιο του Άμστερνταμ (Master of Arts in Migration and Ethnic Studies, 2004).

Από το 2004 ως το 2007, ήταν μέλος της ερευνητικής ομάδας του προγράμματος «Έμφυλες διαστάσεις της μετανάστευσης στη Νοτιοανατολική Ευρώπη: ένταξη, εργασία και διαπολιτισμική επικοινωνία» (Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Πυθαγόρας Ι), ενώ έχει επίσης συμμετάσχει σε ερευνητικά προγράμματα με θέμα την ένταξη τσιγγανοπαίδων στην εκπαίδευση και τη μελέτη διεθνικών σχέσεων σε επίπεδο γειτονιάς στα σύγχρονα αστικά κέντρα. Ως ανθρωπολόγος έχει πραγματοποιήσει εθνογραφική έρευνα σε Ελλάδα και Αλβανία. Παράλληλα, εργάστηκε στη Διεύθυνση Νεώτερης Πολιτιστικής Κληρονομιάς του Υπουργείου Πολιτισμού, καθώς και σε μονάδα ψυχοκοινωνικής αποκατάστασης, στο πλαίσιο του προγράμματος 'Ψυχαργώς' του Υπουργείου Υγείας. Έχει μεταφράσει κείμενα για το συλλογικό τόμο «Εισαγωγή στην Εθνομουσικολογία» (εκδόσεις Ασίνη, 2013) κι έχει επιμεληθεί την αγγλική έκδοση της ιστοσελίδας του ερευνητικού προγράμματος GAME (http://gendermigration.ha.uth.gr/en/intro.asp).

Έχει συμμετάσχει με ανακοινώσεις της σε διεθνή και ελληνικά συνέδρια κι επιστημονικές συναντήσεις. Γνωρίζει αγγλικά, γαλλικά και αλβανικά. Στα ερευνητικά της ενδιαφέροντα περιλαμβάνονται η ανθρωπολογία της μετανάστευσης, η διεθνικότητα, η ανθρωπολογία της μουσικής, ζητήματα πολιτικών της ταυτότητας, υποκειμενικότητας και φαντασίας, καθώς και εθνογραφικής μελέτης της Αλβανίας στη μετασοσιαλιστική εποχή.

Short CV

Lambrini Styliou was born in Ioannina in 1980. She is a social anthropologist and a PhD candidate in the Department of History, Archaeology and Social Anthropology of the University of Thessaly. She holds a Bachelor's degree in Social Anthropology from the same Department (2002) and a Master's degree in Migration and Ethnic Studies from the University of Amsterdam (2004).

She has been member of the research team of the project "Gendered Dimensions of Migration in Southeast Europe: Labor, Integration and Intercultural Communication" (University of Thessaly, 2004-2007). She has also participated in research projects concerning the promotion of Roma inclusion in education and the study of interethnic tolerance and neighborhood integration in urban spaces. As an anthropologist she has conducted extensive fieldwork research both in Greece and Albania. She has also worked for the Directorate of Modern Cultural Heritage in the Greek Ministry of Culture, as well as in mental health rehabilitation services of the 'Psychargos' reform programme developed by the Greek Ministry of Health. She has translated, in Greek, chapters for the edited volume "Introduction to Ethnomusicology" (Asini, 2013) and has edited the English version of the web page of the research project GAME (http://gendermigration.ha.uth.gr/en/intro.asp).

She has presented her work in international and Greek conferences and meetings. She speaks English, French and Albanian. Her current research interests include migration, transnationalism, the politics of identity, the anthropology of music, issues of subjectivity and imagination and the ethnographic study of post-socialist Albania.

Τμήμα Οικονομικών Επιστημών
Department of Economics

Δήμητρα Κίτσου

Εκτίμηση συναρτήσεων ζημιάς και ελέγχου ρυπαντών για καθορισμό αποτελεσμάτων πολιτικών επίλυσης περιβαλλοντικών προβλημάτων

Περίληψη

Στις μέρες μας, η ρύπανση του περιβάλλοντος αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα κοινωνικά και οικονομικά προβλήματα. Οι αποτυχίες της αγοράς, όπως η ύπαρξη δημοσίων αγαθών και εξωτερικοτήτων επιβάλλουν τη χρήση οικονομικών μέσων για τη βελτίωση της ποιότητας του περιβάλλοντος. Η σύγχρονη Οικονομική του Περιβάλλοντος αντιμετωπίζει τη μείωση της ρύπανσης ή την αποκατάσταση της ποιότητας του περιβάλλοντος ως μια οικονομική δραστηριότητα που χρησιμοποιεί παραγωγικούς πόρους προκειμένου να παράγει το αγαθό “ποιότητα του περιβάλλοντος”. Το όφελος που προκύπτει από την προστασία του περιβάλλοντος είναι η μείωση των ζημιών που προκαλεί η ρύπανση αυτή.

Από την άλλη πλευρά, η μείωση της ρύπανσης επιτυγχάνεται με τη χρήση αντιρρυπαντικών τεχνολογιών, με την υποκατάσταση ρυπογόνων τεχνολογιών παραγωγής, με τεχνολογίες που εκπέμπουν μικρότερες ποσότητες ρύπων, με τη χρήση λιγότερων ρυπογόνων καυσίμων, με μεθόδους ανακύκλωσης και άλλα. Ο προσδιορισμός του “αρίστου” επιπέδου προστασίας του περιβάλλοντος βασίζεται στην αρχή της μεγιστοποίησης του καθαρού οφέλους (όφελος από τη μείωση των ζημιών μείον το κόστος ελέγχου της ρύπανσης), που προκύπτει από τον περιορισμό ή την εξάλειψη της ρύπανσης.

Για το σωστό προσδιορισμό του επιπέδου προστασίας του περιβάλλοντος, οι ζημιές που προκαλεί η ρύπανση πρέπει να προσδιοριστούν με πληρότητα, ώστε να εκτιμηθεί με επάρκεια το όφελος. Στόχος πάντα είναι η επίτευξη μιας άριστης λύσης κατά Pareto.

Έχουν γραφτεί πολλά πρόσφατα για το μέγεθος των διαπραγματεύσεων και συμφωνιών σχετικά με την επίλυση περιβαλλοντικών προβλημάτων. Οι διαπραγματεύσεις και οι συμφωνίες τοποθετούνται ανάμεσα στους υπευθύνους λήψης αποφάσεων που προσπαθούν να συμβιβάσουν αντιμαχόμενες πολιτικές σχετικά με τη χρήση της γης, την ενέργεια και την ποιότητα του αέρα.

Το κύριο πρόβλημα στην προώθηση διεθνών συνεργασιών είναι η απουσία μιας πειστικής επιστημονικής έκβασης. Οι οικονομολόγοι του περιβάλλοντος αναγνωρίζουν ότι η αβεβαιότητα η οποία προκύπτει από τη φύση της συνάρτησης του οριακού κόστους ελέγχου (marginal abatement cost, MAC) και την οριακή συνάρτηση ζημίας (marginal damage function, MD) είναι καθοριστικής σημασίας προκειμένου να καταλήξουμε στην κατά Pareto αποτελεσματική πολιτική.

Η αβεβαιότητα διεισδύει στις ‘επιλογές’ του ενδιαφερόμενου ανάμεσα στον υπολογισμό του οριακού κόστους ελέγχου (MAC) και του οριακού κόστους ζημίας (MDC). Η αβεβαιότητα στην επιχείρηση δημιουργείται λόγω της ύπαρξης της συνάρτησης του MAC και λόγω της αβεβαιότητας που προέρχεται από τις διαφορετικές επιδράσεις. Η αβεβαιότητα σχετικά με τη συνάρτηση MAC της επιχείρησης δημιουργείται κυρίως, λόγω της τεχνολογίας επειδή η παρουσία της τεχνολογίας μπορεί να είναι σχετικά πρόσφατη και να μην έχει ακόμα εδραιωθεί, ενώ ταυτόχρονα δημιουργείται οικονομική αβεβαιότητα από τη συγκέντρωση του κόστους που απεικονίζεται μέσω της καμπύλης αποτελεσματικότητας.

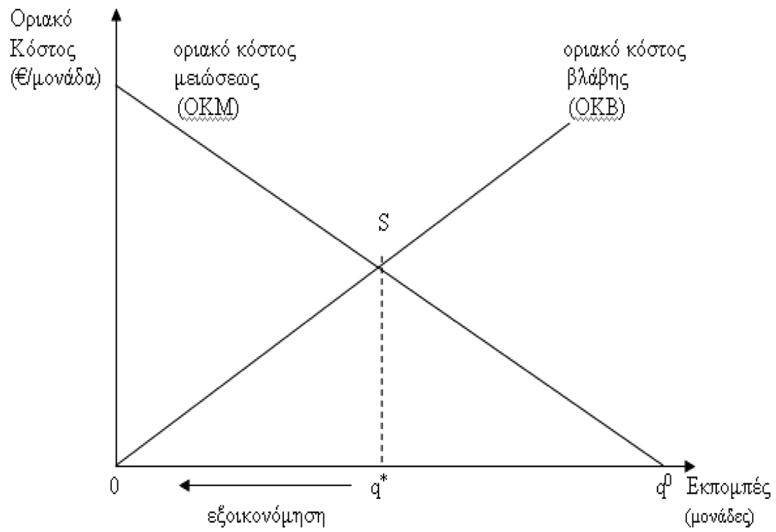
Επιπλέον, η αβεβαιότητα σχετικά με τις μελλοντικές τιμές των εισαγωγών, συνεπάγεται μια επιπλέον αβεβαιότητα στην επιχείρηση, στη συνάρτηση του οριακού κόστους ελέγχου (MAC). Από την άλλη πλευρά, οι αλλαγές στα περιβαλλοντικά δεδομένα ή στην τιμή των φόρων ή στα αποτελέσματα της άδειας εκπομπής αερίων, μπορεί να δημιουργήσει επιπλέον συγκρούσεις. Η αβεβαιότητα στο πλαίσιο του περιβαλλοντικού ελέγχου δημιουργεί παρόμοια φαινόμενα με αυτά που αντιμετωπίζει μια επιχείρηση, όπως είναι η αβεβαιότητα της επιχείρησης για την καμπύλη του οριακού κόστους της, το οποίο με τη σειρά του δημιουργεί αβεβαιότητα σχετικά με την καμπύλη συνολικού οριακού κόστους ελέγχου που αντιμετωπίζει η κοινωνία.

Παρόλο που η πολιτική του περιβάλλοντος είναι πιθανόν απαλλαγμένη από την αβεβαιότητα που διακατέχει μια επιχείρηση – ως αποτέλεσμα των επιλογών της – έχει να αντιμετωπίσει δύο ακόμα πηγές αβεβαιότητας. Η πρώτη αφορά το γεγονός ότι η περιβαλλοντική πολιτική ελέγχου μπορεί να έχει μόνο ασαφή εκτίμηση της κοινωνικής συνάρτησης

της οριακής ζημίας, καθώς το μέγεθος του σφάλματος που υπολογίζουμε σχετικά με το κόστος της υγείας και τη ρύπανση του αέρα είναι μεγάλο. Από την άλλη πλευρά, ακόμα και αν μια επιχείρηση γνωρίζει τη συνάρτηση MAC, η καμπύλη του οριακού κόστους της μπορεί να παραμένει άγνωστη.

Με την εκπόνηση αυτής της διδακτορικής διατριβής, θα προσπαθήσουμε να καθορίσουμε το βέλτιστο επίπεδο ρύπανσης κάτω από τις υποθέσεις των γραμμικών, δευτεροβάθμιων και εκθετικών συνάρτησης του κόστους ζημίας και ελέγχου. Η δημιουργία επιπέδων με υπερβολικές περιβαλλοντικές καταστροφές συνδέεται με την αδυναμία υπολογισμού του κοινωνικού κόστους. Αυτή η αδυναμία δείχνει την αποτυχία της αγοράς η οποία απαιτεί τη μεσολάβηση νέων πολιτικών προκειμένου να διορθωθεί.

Πριν καταλήξουμε λοιπόν σε οποιαδήποτε απόφαση, θα πρέπει να βάλουμε ως στόχο μια νέα περιβαλλοντική πολιτική, η οποία θα έχει σκοπό το βέλτιστο επίπεδο της περιβαλλοντικής ρύπανσης. Στη συνέχεια, απαιτείται να γίνει σύγκριση του κόστους ζημίας με το κόστος ελέγχου. Οι οικονομικές θεωρίες προτείνουν πως το βέλτιστο επίπεδο ρύπανσης πραγματοποιείται όταν το οριακό κόστος ζημίας είναι ίσο με το οριακό κόστος ελέγχου, όπως φαίνεται στο σχήμα που ακολουθεί.



Προκειμένου λοιπόν να βρούμε το άριστο επίπεδο ρύπανσης, θα χρησιμοποιήσουμε δυο καμπύλες οι οποίες θα προσδιορίζουν το κόστος ελέγχου και τη συνάρτηση κέρδους (ή ζημίας) αντίστοιχα μιας χώρας ή μιας επαρχιακής πόλης ή ενός δήμου. Το σημείο της τομής τους θα αντιπροσωπεύει το άριστο επίπεδο. Θα υποθέσουμε ότι οι καμπύλες αλληλεπιδρούν, δημιουργώντας την περιοχή, που θα την ονομάσουμε ‘άριστη’. Θα αποδείξουμε ότι αυτή η αλληλεπίδραση δεν είναι πάντα αποδεκτή, χρησιμοποιώντας τρεις περιπτώσεις ανά συνάρτηση οριακού κόστους και ζημίας καθώς και τους συνδυασμούς τους:

α) Γραμμικές καμπύλες,
β) Δευτεροβάθμιες καμπύλες και
γ) εκθετικές καμπύλες

Θα εξετάσουμε επίσης πώς αυτή η σημαντική περιοχή μπορεί να αξιολογηθεί, χρησιμοποιώντας έναν δείκτη, σε περίπτωση που διαφορετικές περιοχές προστεθούν, υιοθετώντας διαφορετικά ανταγωνιστικά μοντέλα και πολιτικές από εκείνα που εκφράζονται από τις καμπύλες κόστους και κέρδους.

Η τυπική προσέγγιση που καθορίζει το άριστο επίπεδο ρύπανσης προκύπτει από τον έλεγχο της οριακής ζημίας από μια επιπλέον μονάδα ρύπανσης με το αντίστοιχο οριακό κόστος ελέγχου. Σε αυτή την προσπάθεια, θα διενεργηθούν ενέργειες προκειμένου να καθοριστεί το άριστο επίπεδο ρύπανσης κάτω από διαφορετικές υποθέσεις σχετικά με τη συνάρτηση κόστους ελέγχου. Τι γίνεται δηλαδή στην περίπτωση της γραμμικής, δευτεροβάθμιας και εκθετικής συνάρτησης καθώς επίσης και ποιος είναι ο ρόλος της βαριάς βιομηχανίας για το βαθμό ρύπανσης και πόσο επηρεάζονται τα διάφορα επίπεδα ρύπανσης από τη γεωγραφική θέση της εκάστοτε χώρας.

Έτσι θα εξάγουμε τα κόστη ελέγχου και ζημίας για ένα αριθμό χωρών για κάποια από τα σημα-

ντικότερα περιβαλλοντικά προβλήματα. Η οικονομική θεωρία, μας δείχνει πως ο άριστος φορολογικός συντελεστής επιτυγχάνεται στο σημείο όπου το οριακό κόστος ελέγχου (marginal abatement cost, MAC) ισούται με το οριακό κόστος ζημίας (marginal damage cost, MD) της ρύπανσης που πρέπει να μειωθεί. Προτείνεται λοιπόν ένας νέος φόρος ο οποίος αποτελεί μια άλλη οπτική στη διαφοροποιημένη φορολογία και βασίζεται στη γενίκευση του διαφοροποιημένου φόρου. Ο φόρος αυτός διαφοροποιείται ανάλογα με το «μέγεθος της απόστασης» από το κέντρο της ρύπανσης και ονομάζεται 'σταθμισμένος διαφοροποιημένος φόρος απόστασης'.

Λέξεις κλειδιά: Περιοχή ωφέλειας, κόστος ζημίας, κόστος ελέγχου, ρύπανση

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Γεώργιος Χάλκος, Καθηγητής Οικονομικής των Φυσικών Πόρων, Διευθυντής του Εργαστηρίου Επιχειρησιακών Ερευνών, Τμήμα Οικονομικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας *(επιβλέπων)*

Βασιλεία Νιννή, Καθηγήτρια Τεχνολογίας, Τμήμα Οργάνωσης και Διοίκησης Επιχειρήσεων, Οικονομικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Κωνσταντίνος Μπίθας, Καθηγητής Οικονομικής Περιβάλλοντος και Φυσικών Πόρων- Βιώσιμη Ανάπτυξη, Τμήμα Οικονομικής και Περιφερειακής Ανάπτυξης, Πάντειο Πανεπιστήμιο

Dimitra Kitsou

Estimation of damage and cost functions: Identifying policies for optimal pollution levels

Abstract

As there is no international or multinational 'government' that can enforce international environmental policy, environmental problems must be solved by voluntary agreements among the countries concerned. The problem is that of finding some institutional structure that will facilitate the appropriate agreements. Such a structure must be one that makes all parties (countries) better off. Otherwise, any agreement is unlikely. We thus seek structures that promise a Pareto-efficient outcome.

But the main problem for promoting international cooperation is the unconvincing scientific evidence. Environmental economists recognize that uncertainty concerning the nature of the marginal abatement cost function and the marginal damage function is an important determinant of adopting Pareto-efficient policies. Uncertainty pervades the decision-maker in terms of calculating marginal abatement and marginal damage costs.

Economic theory suggests that the optimal pollution level occurs when the marginal damage cost equals the marginal abatement cost. Graphically the optimal pollution level is presented in Figure 1.

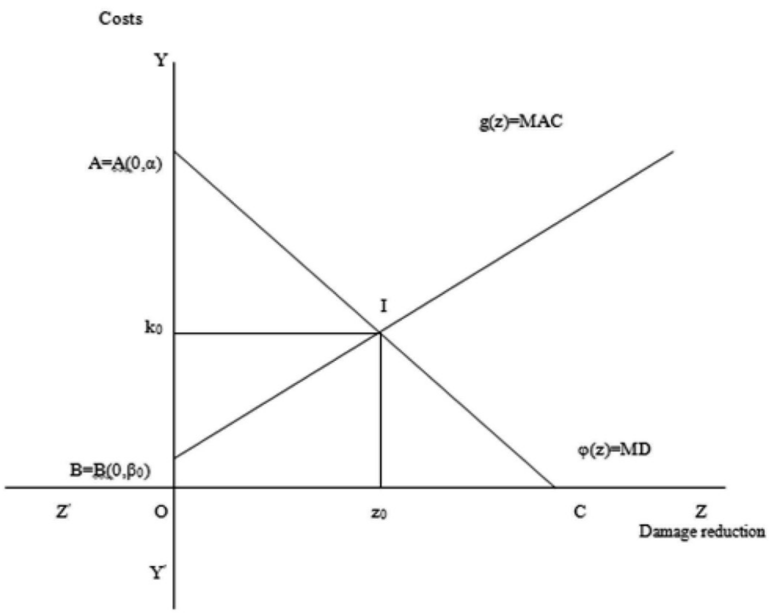


Figure 1: Graphical presentation of the optimal polution level (general case)

Rationality in the formulation and applicability of environmental policies depends on careful consideration of their consequences on the nature and on the society. For this reason it is important to quantify the costs and benefits in the most accurate way. But the validity of any cost benefit analysis (hereafter CBA) is ambiguous as the results may have large uncertainties. Uncertainty is present in all environmental problems and this makes clear the need for thoughtful policy design and evaluation. We may have uncertainty over the underlying physical or ecological processes, as well as over the economic consequences of the change in environmental quality.

Uncertainty is obvious not only in the parameters' estimation, but also in the case of uncertainty over the shapes and forms of the non-linear damage and abatement cost functions, i.e. uncertainty on the choice of the appropriate model that "fits" the problem. To make this uncertainty of the parameters clearer, we may think in terms of the Regression Analysis: the fitted model, assumed for the damage and abatement curves, "lies" between the upper and the lower bound of a 95% confidence interval. That is there are two curves creating an interval of values for the fitted model. That is uncertainty due to the variation of the estimated coefficients. A similar picture is realized when referring to abatement costs, which may be less uncertain, compared to damage costs, but they are quite severe. The main problem in this case is related to technological change which may be essentially difficult to predict or sometimes even to characterize.

These sources of uncertainty and their impact on policy formulation may be represented by the non-linear nature of the damage and abatement cost functions. Damage or external costs can be estimated by an analysis of the chain of pollution emissions, their dispersion and "transportation" (in cases of trans boundary pollution like the acid rain problem), their effect measured among others with a dose-response function and their final (if feasible) monetary valuation.

As uncertainty may be due to the lack of appropriate abatement and damage cost data, in this PhD thesis we apply a method of calibrating non-existing damage cost estimates relying on individual country abatement cost functions (Hutton and Halkos, 1995; Halkos and Kitsos, 2005). In this way a calibrated benefit area (BA^c) is estimated. Specifically, we try to identify the optimal pollution level under the assumptions of linear, quadratic and exponential abatement and damage cost functions. As far as the parameters are concerned, the first two are linear while the third is a non-linear function. That is we improve the work of Halkos and Kitsos (2005) by extending the number of different model approximations of marginal abatement and damage cost functions.

The corresponding optimal level of environmental policy is evaluated, with analytical forms in the linear and quadratic case, while in the exponential case, these values are obtained approximately. We show that, in principle, its existence obeys to certain restrictions, which are investigated here. The evaluation of the benefit area is discussed and analytical forms for this particular area are calculated. The positive point, at least from a theoretical point of view, is that both the quadratic and the exponential case obey to the same form of evaluating the benefit area. These benefit area evaluations can be used as indexes, between different rival policies and certainly the policy which produces the maximum area is the beneficial policy.

Subsequently, we introduce the weighted location differential tax method. Relying on Pigou's view, environmental taxes increase the costs of polluting activities reflecting in this way the true social cost imposed to society by the caused environmental damage by these activities. The total pollution cost (TPC) is defined by adding up the marginal abatement (MAC) and the marginal damage (MD) costs. That is the random variable TPC includes the social costs associated with pollution. We relate this with contaminated locations and propose a weighted location differentiated tax and a corresponding index that adjusts taxation to the damages caused. It is clear that the value of the expected total pollution (social) cost, E(TPC) would be of interest and therefore we proceed to the evaluation through the use of the γ-order Generalized Normal. The value of the variance, Var(TPC) is also evaluated and we provide a generalized form of the E(TPC) as far (i) the form of TPC and (ii) the probability density function.

Specifically, in this PhD thesis we show the application of the γ-ordered generalized Normal provides to the researcher the option to choose among three distributions: The Uniform, Normal and Laplace. That is among no-tails, normal tails and fat tails. The decision is also based on the value of δ (is the scale parameter) we choose at the first step – 'how far' from the 'origin of pollution' we go.

The question of what is the shape of the distribution to be followed is important. That is why the expected value of the total pollution cost, E(TPC), can be related to the appropriately calculated variance, Var(TPC), so that approximate .95 confidence interval of the $E(TSC) \pm 2\sqrt{Var(TPC)}$ form to be evaluated, while for a .99 approximate confidence interval the factor 2 is replaced by 3. As the TPC includes the social cost related to pollution the greater expected value has to be associated with higher taxation under the weighted location tax while the larger the variance the larger the area polluted and affected socially. Therefore the taxation system should take into consideration these issues.

Key words: weighted-location adjusted differential tax, pollution related social cost, expected value, technology, probability density function

Three - Member Supervisory Committee

George Halkos, Professor in Economics of Natural Resourses, Director of the Operations Research Laboratory, Department of Economics, University of Thessaly, Greece *(supervisor)*

Vasilia Ninni, Professor of Technology, Department of Business Administration, Economical University of Athens, Greece

Kostas Bithas, Professor, Environmental and natural resources economics, Panteion University, Athens, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Halkos, G. E.**, & Kitsou, D. C. (2013). Uncertainty in optimal pollution levels: modelling and evaluating the benefit area. *Journal of Environmental Planning and Management*, *55*(4), 678-700. DOI : 10.1080/09640568. 2014.881333.

Άρθρα – δοκίμια σε διεθνείς βάσεις / Working papers in international archives

1. Halkos, G. E*., &* **Kitsou, D. C**. (2014). *A weighted location differential tax method in environmental problems*. Άρθρο προς συζήτηση (Discussion Paper) στη διεθνή βάση των Οικονομολόγων **MPRA Paper 59502**, University Library of Munich, Germany. Πρόσβαση στη διεύθυνση: https://ideas.repec.org/p/pra/mprapa/59502.html
2. Halkos, G. E., & **Kitsou, D.** (2013). *Uncertainty in optimal pollution levels: Modelling the benefit area*. Άρθρο προς συζήτηση (Discussion Paper) στη διεθνή βάση των Οικονομολόγων **MPRA Paper 47763**, University Library of Munich, Germany. Προσβάσιμη στη διεύθυνση: https://ideas.repec.org/p/pra/mprapa/47768.html

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων–βιβλία περιλήψεων Publications in conference proceedings – books of abstracts

1. Halkos, G.E., & **Kitsou, D.C.** (2015). Risk Problems Identifying the Optimal Pollution Level. Theory and Practice of Risk Assessment. In C.P. Kitsos, T. A. Oliveira, A.Rigas, S.Gulatis (Eds.), *Springer Proceedings in Mathematics & Statistics*, *ICRA 5* (pp.199-208), Tomar, Portugal.
2. Χάλκος, Γ. Ε., & **Κίτσου, Δ. Χ.** (2014). Generalizing Total Pollution Cost.Στο Γ. Ε. Χάλκος (Επιμ.), *1ο Πανελλήνιο Συνέδριο στην Οικονομική των Φυσικών Πόρων και του Περιβάλλοντος: Κλιματική Αλλαγή* (σελ. 75 - 84). Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος: Εργαστήριο Επιχειρησιακών Ερευνών του Τμήματος Οικονομικών Επιστημών της Σχολής Ανθρωπιστικών και Κοινωνικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

   Halkos, G. E., & **Kitsou, D.C.** (2014). Generalizing Total Pollution Cost. In G. E. Halkos (Ed.)*, 1st National Conference on the Economics of Natural Resources and Environment: Climate Change* (pp. 75-84). University of Thessaly, Volos, Greece: Laboratory of Operations Research, Department of Economics, University of Thessaly, Greece.
3. Χάλκος, Γ. Ε., & **Κίτσου, Δ. Χ.** (2013). Προσδιορισμός άριστου επιπέδου ρύπανσης και οι συνθήκες εξαγωγής της περιοχής ωφέλειας. *26ο Πανελλήνιο Συνέδριο Στατιστικής με θέμα: Στατιστική στον Αναλογισμό, τα Χρηματοοικονομικά και τη Διοικητική Κινδύνου* (σελ. 242-251).Πανεπιστήμιο Πειραιώς: Ελληνικό Στατιστικό Ινστιτούτο.

   Halkos, G. E., & **Kitsou, D. C.** (2013). Determining pollution level and the Benefit Area. *26th National Conference of Statistic on the subject Statistics on Actuarial, Finance and Risk Management* (pp. 242-251).University of Piraeus: Greek Statistical Institute

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες
Presentations in scientific conferences and meetings - workshops

1. Χάλκος, Γ. Ε., & **Κίτσου, Δ. Χ.** (2014, Μάιος). *Generalizing Total Pollution Cost*. Προφορική ανακοίνωση μελέτης στο 1ο Πανελλήνιο Συνέδριο στην Οικονομική των Φυσικών Πόρων και του Περιβάλλοντος: Κλιματική Αλλαγή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.

   Halkos, G.E., & **Kitsou, D.C.** (2014, May). *Generalizing Total Pollution Cost*. Paper presented at 1st National Conference on Economics of Natural Resources and Environment: Climate Change, University of Thessaly, Volos, Greece.

2. Halkos, G. E., & **Kitsou, D.C.** (2013, May - June). *Risk Problems Identifying the Optimal Pollution Level*. Paper presented at 5th International Conference on Risk Analysis (Biomedicine, Environmetrics, Economics, Finance & Reliability) at Polytechnic Institute of Tomar, Portugal.

3. Χάλκος, Γ.Ε., & **Κίτσου Δ.Χ.** (2013, Μάιος). *Προσδιορισμός άριστου επιπέδου ρύπανσης και οι συνθήκες εξαγωγής της περιοχής ωφέλειας*. Προφορική ανακοίνωση μελέτης στο 26ο Πανελλήνιο Συνέδριο Στατιστικής με θέμα: «Στατιστική στον Αναλογισμό, τα Χρηματοοικονομικά και τη Διοικητική Κινδύνου», που οργανώθηκε από το Ελληνικό Στατιστικό Ινστιτούτο στο Πανεπιστήμιο Πειραιώς.

   Halkos, G.E., & **Kitsou, D.C.** (2013, May). *Determining optimal pollution level and the Benefit Area*. Paper presented at 26th National Conference on Statistics in the field: «Statistics in Actuarial, Finance and Risk Management», organized by the Greek Statistical Institute at the University of Piraeus, Greece..

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Δήμητρα Κίτσου** είναι απόφοιτος του Τμήματος Οικονομικών Επιστημών του Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Είναι κάτοχος Μάστερ στο Περιβάλλον από την Ιατρική Σχολή Αθηνών στο πεδίο της υγείας. Επίσης, το Φεβρουάριο του 2015, απέκτησε το Διδακτορικό της Δίπλωμα από το Τμήμα Οικονομικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στο πεδίο των Οικονομικών του Περιβάλλοντος.

Τα έτη 2005-2008, διετέλεσε στέλεχος διαχείρισης καινοτομίας και μεταφοράς τεχνολογίας στο Γραφείο Διαμεσολάβησης του Α-ΤΕΙ Αθήνας. Υπήρξε υπεύθυνη οικονομικής διαχείρισης του γραφείου και αρμόδια για την περάτωση των παραδοτέων και την οργάνωση ημερίδων. Παράλληλα, δίδαξε ως ωρομίσθια καθηγήτρια σε διάφορα δημόσια ΙΕΚ της Αθήνας, τα μαθήματα : Αρχές Πολιτικής Οικονομίας, Δημόσιες Σχέσεις, Μάρκετινγκ και Πωλήσεις.

Το 2009, έλαβε την υποτροφία του προγράμματος Ηράκλειτος ΙΙ για την εκπόνηση της διδακτορικής της διατριβής.

Συμμετείχε στο 26ο Πανελλήνιο Συνέδριο Στατιστικής με θέμα : "Στατιστική στον Αναλογισμό, τα Χρηματοοικονομικά και τη Διοικητική Κινδύνου", στο Πανεπιστήμιο Πειραιά (8-11 Μαΐου 2013). Το θέμα της παρουσίασης της ήταν "Προσδιορισμός άριστου επιπέδου ρύπανσης και οι συνθήκες εξαγωγής της περιοχής ωφέλειας".

Επίσης παρουσίασε την εργασία "Risk Problems Identifying the Optimal Pollution Level" στο 5th International Conference on Risk Analysis (Biomedicine, Environ metrics, Economics, Finance & Reliability) στο Polytechnic Institute, στο Tomar της Πορτογαλίας, τον Ιούνιο του 2013.

Τέλος, συμμετείχε στο συνέδριο του διεθνούς οργανισμού ASTP (Association of European Science & Technology Transfer Professionals) στην Χαιδελβέργη της Γερμανίας, από 30 Μαΐου έως 1 Ιουνίου 2007, με θέμα «Best Practices In Transfer of Science and technology» .

Short CV

Dimitra Kitsou is an economist who has graduated from the Department of Economics at the University of Athens, Greece. She holds a M.Sc. in Environment from the Medical School of the University of Athens. Also, in February 2015, she got her PhD from the Department of Economics at the University of Thessaly, on the field of Environmental Economics.

The years 2005-2008, she had been an executive management innovation and technology transfer at the Liaison Office of TEI-A. She was responsible for the financial management of the office and for the completion of deliverables and organizing workshops. She taught as a professor at various hourly public Institutions of Athens the subjects: Principles of Political Economy, Public Relations, Marketing and Sales.

In 2009, she received a Heraclitus II scholarship for preparing her PhD thesis.

She participated in the 26th National Conference on Statistics: «Statistics in Actuarial, Finance and Risk Management at the University of Piraeus, from 8 to 11 May 2013. The theme of the presentation was "Determining optimal pollution level and the Benefit Area".

Also, she presented the work "Risk Problems Identifying the Optimal Pollution Level" at 5th International Conference on Risk Analysis (Biomedicine, Environ metrics, Economics, Finance & Reliability) at the Polytechnic Institute of Tomar, in Portugal, in June 2013.

Finally, she participated in the conference of the international organization ASTP (Association of European Science & Technology Transfer Professionals) in Heidelberg, Germany, from May 30th to June 1st 2007, entitled «Best Practices In Transfer of Science and technology».

Επαμεινώνδας Παϊζάνος

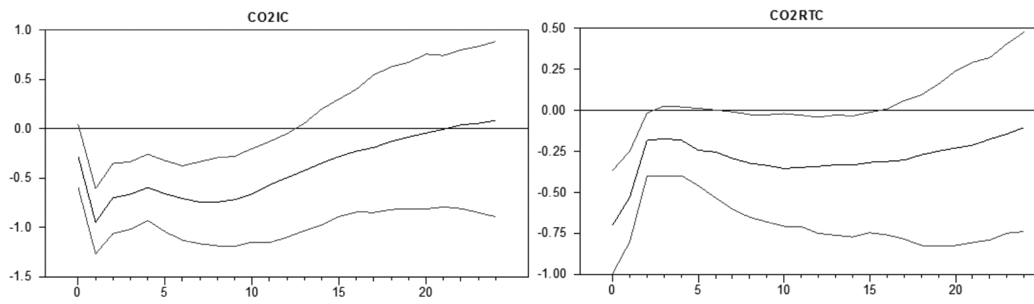
Οι Επιπτώσεις της Δημοσιονομικής Πολιτικής και ο Ρόλος της Περιβαλλοντικής Πολιτικής

Περίληψη

Οι κυβερνητικές δαπάνες αυξήθηκαν σε πολλές χώρες για να μετριάσουν τις αρνητικές συνέπειες της οικονομικής κρίσης της περιόδου 2008-2009. Σημαντικό μέρος του ΑΕΠ των χωρών δαπανάται από τις κυβερνήσεις επηρεάζοντας ένα μεγάλο αριθμό οικονομικών δεικτών και την ευημερία γενικότερα. Εξάλλου μία σειρά πρόσφατων μελετών ανέδειξε τις κυβερνητικές δαπάνες ως σημαντικό προσδιοριστικό παράγοντα της ποιότητας του περιβάλλοντος. Ο μηχανισμός βάσει του οποίου οι δημόσιες δαπάνες και το περιβάλλον αλληλεπιδρούν αναλύεται σε μια σειρά από θεωρητικές μελέτες. Παρ'όλη όμως τη σπουδαιότητα της επίδρασης των δημοσίων δαπανών στο περιβάλλον, αυτή η σχέση δεν έχει μελετηθεί εκτενώς στη βιβλιογραφία.

Το πρώτο μέρος της διατριβής εξετάζει την επίδραση της μακροοικονομικής πολιτικής στην ποιότητα του περιβάλλοντος, χρησιμοποιώντας τριμηνιαία στοιχεία για τις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής, για την περίοδο 1973-2013. Πιο συγκεκριμένα, εξετάζουμε τόσο τις βραχυχρόνιες όσο και τις μακροχρόνιες αλληλεπιδράσεις μεταξύ της δημοσιονομικής και νομισματικής πολιτικής και των εκπομπών διοξειδίου του άνθρακα (CO_2) στην ατμόσφαιρα, χρησιμοποιώντας μεθόδους ανάλυσης Χρονολογικών Σειρών όπως η Συνολοκλήρωση, Ελέγχους αιτιότητας κατά Granger και Υποδείγματα Διανυσματικών Αυτοπαλινδρομήσεων. Προκειμένου να εξεταστούν οι πιθανές διαφορές στην επίδραση της οικονομικής πολιτικής σε διαφορετικούς τύπους ρύπων, χρησιμοποιούμε στην ανάλυση εκπομπές CO_2 που προέρχονται από την παραγωγική διαδικασία και εναλλακτικά από τη χρήση ενέργειας από τα νοικοκυριά. Επιπρόσθετα, κατασκευάζουμε τις συναρτήσεις αιφνίδιων διαταραχών για τρεις γραμμικούς συνδυασμούς των δημοσίων δαπανών, που αντικατοπτρίζουν τα τρία διαφορετικά σενάρια: α) αύξηση δαπανών που χρηματοδοτούνται από δημοσιονομικό έλλειμμα β) περικοπή φόρων που χρηματοδοτούνται από δημοσιονομικό έλλειμμα και γ) αύξηση δαπανών με ισοσκελισμένο προϋπολογισμό. Οι προτάσεις πολιτικής που απορρέουν από την ανάλυση διαφοροποιούνται ανάλογα με την πηγή των εκπομπών CO_2.

Διάγραμμα 1: *Το σενάριο ισοσκελισμένου προϋπολογισμού όπου οι κυβερνητικές δαπάνες αυξάνονται κατά 1% για ένα έτος και αντίστοιχα τα κυβερνητικά έσοδα αυξάνονται κατά το ίδιο ποσό.*



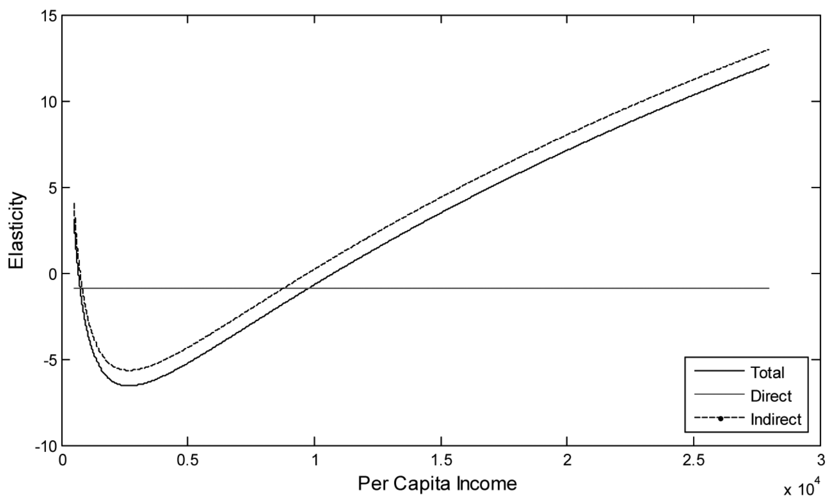
Τα αποτελέσματα της παραπάνω ανάλυσης αποκτούν ιδιαίτερη βαρύτητα αν αναλογιστεί κανείς την έμφαση στην επεκτατική μακροοικονομική πολιτική που έχει υιοθετηθεί από πολλές χώρες, προκειμένου να αμβλυνθούν οι αρνητικές συνέπειες της πρόσφατης οικονομικής κρίσης. Οι κυβερνήσεις πολλών κρατών, συμπεριλαμβανομένων των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής, ακολουθούν προγράμματα σημαντικής αύξησης των κυβερνητικών δαπανών, πολλές φορές συνδυαζόμενα με μεγαλύτερη έμφαση αυτών των δαπανών σε τομείς δημοσίων αγαθών όπως η εκπαίδευση, η υγεία και η προστασία του περιβάλλοντος. Η μελέτη δείχνει ότι η αύξηση των δημοσίων δαπανών μπορεί να οδηγήσει σε ένα απρόβλεπτα θετικό αποτέλεσμα, ήτοι να οδηγήσει στη μείωση της περιβαλλοντικής ρύπανσης με τρόπο αποτελεσματικότερο από αυτόν που αρχικά θα ήταν αναμενόμενο. Αυτή η προοπτική είναι σημαντική καθώς η χρήση μεθόδων ανάλυσης ευστάθειας των αποτελεσμάτων αποδεικνύει ότι η επίδραση των κυβερνητικών δαπανών στην ποιότητα του περιβάλλοντος δεν εξαρτάται από τις ρυθμίσεις και τους κανονισμούς που υιοθετούνται για το περιβάλλον. Αυτό συνεπάγεται ότι ακόμα και στην περίπτωση που η περιβαλλοντική πολιτική παραμένει σταθερή, οι μεταβολές στο ύψος και στη διάρθρωση των κυβερνητικών δαπανών εί-

ναι πιθανό να οδηγούν σε μείωση των εκπομπών ρύπων που προέρχονται κυρίως από την παραγωγική διαδικασία αλλά και από την κατανάλωση. Αντίθετα, αν ακολουθηθεί δημοσιονομική πολιτική μείωσης των φόρων ή επεκτατική νομισματική πολιτική κρίνεται απαραίτητο αυτές να συνοδεύονται από κατάλληλες περιβαλλοντικές ρυθμίσεις, ιδίως όσον αφορά τους ρύπους που προέρχονται από την παραγωγή.

Στο επόμενο κεφάλαιο της διατριβής, εξετάζονται οι περιβαλλοντικές επιπτώσεις της οικονομικής μεγέθυνσης και των κυβερνητικών δαπανών, χρησιμοποιώντας δεδομένα panel για 71 χώρες και για την περίοδο 1970-2008. Συγκεκριμένα, πραγματοποιείται έλεγχος της υπόθεσης ύπαρξης σχέσης μεταξύ οικονομικής ανάπτυξης και περιβάλλοντος, που μπορεί να αναπαρασταθεί με ένα σχήμα αντεστραμμένου U, καθώς και της υπόθεσης ότι το άμεσο αποτέλεσμα μιας αύξησης των κυβερνητικών δαπανών στο περιβάλλον είναι η μείωση των ρύπων. Εξαιτίας του γεγονότος ότι οι περιβαλλοντικές επιπτώσεις του εισοδήματος και της κυβερνητικής πολιτικής εμφανίζονται συνήθως με υστέρηση, λόγω τεχνολογικών και θεσμικών παραγόντων, χρησιμοποιούμε κατάλληλες δυναμικές οικονομετρικές μεθόδους, όπως το υπόδειγμα κατανεμημένων χρονικών υστερήσεων κατά Koyck. Τέλος, παρατίθενται οι εκτιμήσεις του υποδείγματος για τη βραχυχρόνια και μακροχρόνια περίοδο για τις εκπομπές SO_2 και CO_2, παρουσιάζοντας τα αποτελέσματα για διάφορες κατηγορίες οικονομικής ανάπτυξης. Οι προτάσεις οικονομικής πολιτικής που προκύπτουν από την ανάλυση εξαρτώνται από το επίπεδο του εισοδήματος της κατά περίπτωση, υπό μελέτη χώρας.

Στο τελευταίο κεφάλαιο της διατριβής, εξετάζεται η υπόθεση ότι οι επιπτώσεις των κυβερνητικών δαπανών στο περιβάλλον δύναται να διαχωριστούν μεταξύ άμεσων και έμμεσων αποτελεσμάτων. Η πολιτική υψηλών κυβερνητικών δαπανών είναι πιθανότερο να περιλαμβάνει ανακατανομή του εισοδήματος που οδηγεί σε μεγαλύτερη ισότητα των εισοδημάτων και κατ' επέκταση σε υψηλότερη ζήτηση για βελτίωση της ποιότητας του περιβάλλοντος. Επιπρόσθετα, αν η ποιότητα του περιβάλλοντος θεωρηθεί ως αγαθό πολυτελείας, είναι πιθανότερο ότι η ζήτηση για αυτή θα εμφανίζεται όταν έχει ήδη ικανοποιηθεί η ζήτηση άλλων δημοσίων αγαθών, δηλαδή σε υψηλά επίπεδα κυβερνητικών δαπανών. Στη βιβλιογραφία παρουσιάζονται τέσσερεις μηχανισμοί μέσω των οποίων το μέγεθος και η σύνθεση των κυβερνητικών δαπανών δύνανται να επηρεάσουν την περιβαλλοντική ρύπανση, ήτοι, το αποτέλεσμα κλίμακας (όπου η οικονομική μεγέθυνση οδηγεί σε μεγαλύτερές περιβαλλοντικές πιέσεις), το αποτέλεσμα σύνθεσης (σύμφωνα με το οποίο γίνεται αυξημένη χρήση δραστηριοτήτων εντάσεως ανθρωπίνου κεφαλαίου αντί αυτών φυσικού κεφαλαίου που επιβαρύνουν περισσότερο το περιβάλλον), το τεχνολογικό αποτέλεσμα (λόγω της υψηλότερης αποτελεσματικότητας της εργασίας) και το αποτέλεσμα εισοδήματος (σύμφωνα με το οποίο τα υψηλότερα εισοδήματα οδηγούν σε μεγαλύτερη ζήτηση για βελτίωση της ποιότητας του περιβάλλοντος). Εξάλλου, έχει παρατηρηθεί ότι αύξηση των κυβερνητικών δαπανών προκαλεί μείωση του εισοδήματος, η οποία με τη σειρά της μπορεί να οδηγήσει σε μικρότερη ρύπανση για κάποια επίπεδα εισοδήματος και σε μεγαλύτερη ρύπανση για άλλα

Διάγραμμα 2: *Οι επιπτώσεις των κυβερνητικών δαπανών στις κατά κεφαλήν εκπομπές SO_2*



επίπεδα εισοδήματος, αντικατοπτρίζοντας τη μορφή της Περιβαλλοντικής Καμπύλης Kuznets (EKC). Από τα ανωτέρω γίνεται αντιληπτό ότι η συνολική επίδραση των κυβερνητικών δαπανών στο περιβάλλον δεν είναι δυνατό να προσδιοριστεί a priori.

Σε αυτό το μέρος της διατριβής, μελετούμε την άμεση και έμμεση επίδραση των κυβερνητικών δαπανών στο περιβάλλον, χρησιμοποιώντας δεδομένα panel για 77 χώρες, για την περίοδο 1980-2000. Η δυναμική διάσταση του υποδείγματος καθώς και η πιθανή ενδογένεια μεταξύ των εξεταζόμενων μεταβλητών αντιμετωπίζονται με τη χρήση κατάλληλων οικονομετρικών μεθόδων. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η αύξηση των κυβερνητικών δαπανών οδηγεί άμεσα σε μείωση των εκπομπών SO_2, ενώ η επίδραση είναι μη στατιστικά σημαντική στην περίπτωση των εκπομπών CO_2. Η έμμεση επίδραση στις εκπομπές SO_2 είναι αρνητική, για χαμηλά επίπεδα εισοδήματος και μεταβάλλεται σε θετική καθώς αυξάνει το εισόδημα, ενώ παραμένει αρνητική για όλα τα εισοδήματα στην περίπτωση του CO_2. Η συνολική επίδραση ακολουθεί την πορεία των έμμεσων αποτελεσμάτων, τα οποία υπερισχύουν σε απόλυτες τιμές των άμεσων επιδράσεων για κάθε εξεταζόμενο ρύπο.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ανάλυσης, προκειμένου να αποφευχθεί η υποβάθμιση της ποιότητας του περιβάλλοντος, η μείωση των κυβερνητικών δαπανών στις αναπτυσσόμενες χώρες θα πρέπει να συνοδεύεται από την κατάλληλη περιβαλλοντική πολιτική καθώς και από την υιοθέτηση διεθνών περιβαλλοντικών συνθηκών. Αντίθετα, σε χώρες με υψηλότερα εισοδήματα η μείωση των κυβερνητικών δαπανών οδηγεί σε αύξηση των εισοδημάτων και ταυτόχρονα σε βελτίωση της περιβαλλοντικής ποιότητας.

Λέξεις κλειδιά: Οικονομική ανάπτυξη, δημοσιονομική πολιτική, κυβερνητικές δαπάνες, νομισματική πολιτική, περιβάλλον, ρύπανση, άμεση επίδραση, έμμεση επίδραση, δυναμικά υποδείγματα

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Γεώργιος Χάλκος, Καθηγητής Οικονομικής των Φυσικών Πόρων, Τμήμα Οικονομικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας (*επιβλέπων*).

Ευθύμιος Τσιώνας, Καθηγητής Οικονομικής Θεωρίας με έμφαση στη Χρηματοοικονομική Ανάλυση και Οικονομετρία, Τμήμα Οικονομικής Επιστήμης, Οικονομικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Κωνσταντίνος Μπίθας, Καθηγητής Οικονομικής Περιβάλλοντος και Φυσικών Πόρων – Βιώσιμη Ανάπτυξη, Τμήμα Οικονομικής και Περιφερειακής Ανάπτυξης, Πάντειο Πανεπιστήμιο.

Epameinondas Paizanos

The Effects of Fiscal Policy and the role of Environmental Policy

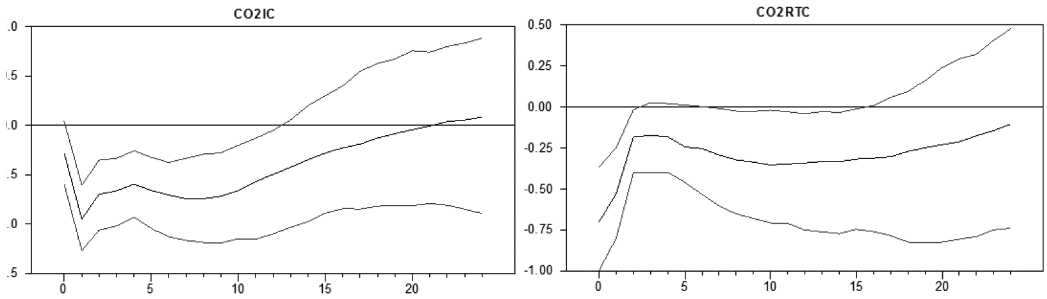
Abstract

Government expenditure has recently expanded in many countries to alleviate the adverse effects of the 2008-2009 economic crisis. A large fraction of GDP is spent by governments affecting a variety of economic variables and prosperity in particular. Recent studies suggest that government expenditure is also an important determinant of environmental quality. The mechanisms through which prosperity, government expenditure and environment interact with each other are investigated in theoretical papers. However, despite the important influence that public spending may have on the environment, this relationship has not been studied extensively in the literature.

The focus of the first part of the dissertation is the examination of the effect of economic policy on air quality using US quarterly data from 1973 to 2013. In particular, we analyze the short-run as well as the long-run interactions between fiscal and monetary policy with CO_2 emissions, employing time series techniques of co-integration, Granger multivariate causality and vector error-correction modelling. To take into account possible variations of the effect of economic policy according to the sources of pollution, we distinguish between industrial and residential inflicted CO_2 emissions. In addition, we construct the impulse responses to three linear combinations of fiscal shocks, corresponding to the three scenarios of deficit-spending, deficit-financed tax cuts and a balanced budget spending expansion. Policy implications from the results vary depending on the source of CO_2 emissions.

These results may have important implications given the current emphasis on expansionary macroeconomic policy as a means to alleviate the adverse effects of economic crisis. Many countries, including the US, started programs that not only dramatically increase government spending but also increase the emphasis in public goods expansion and social spending in education, health care and environmental protection. Given

Figure 1: *The balanced budget policy scenario where government spending is raised by 1% for four quarters and government revenues raised so that the increased revenue matches the increased spending.*



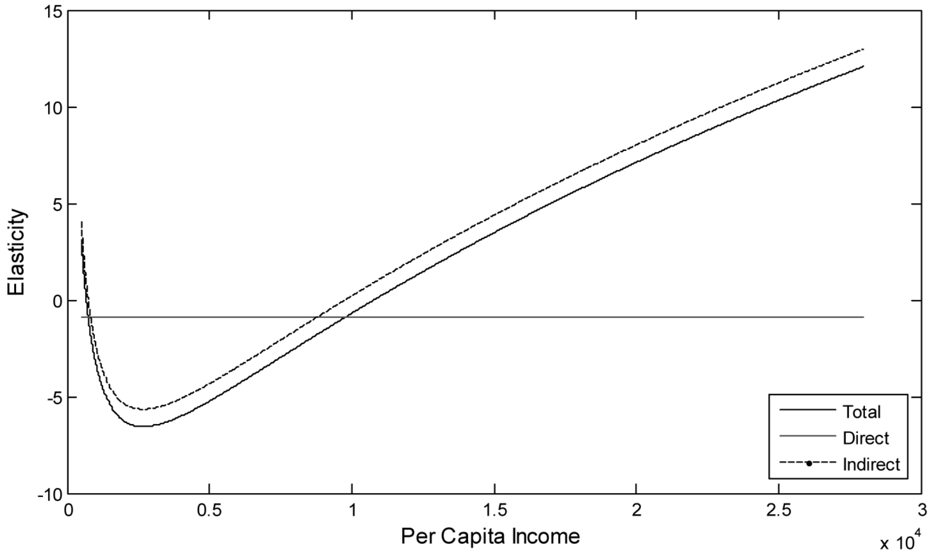
our results, the expansion of fiscal spending may have an unexpected effect: it could make reducing pollution easier to achieve entailing much lower costs than what is usually assumed. This implication is particularly important because the source of the effect of government spending composition on pollution is not likely to be related to environmental regulation as shown by robustness checks of the results to time-varying omitted variables. Thus, even if environmental regulation remains unchanged, the change in the size and composition of government spending towards public goods is likely to reduce mainly production- but also consumption-generated pollution. On the other hand, if tax-cuts and expansionary monetary policy are to be followed, they should be accompanied by appropriate environmental regulation, particularly for production-generated pollution.

The effect of economic growth and government spending on the environment is examined in the next part employing a panel of 71 countries for the time period 1970-2008. In particular, the hypothesis of the existence of an inverted U-shaped relationship between economic performance and pollution, as well as the hypothesis of a negative direct relationship between fiscal spending and pollution are tested. To take into account that environmental degradation may respond to changes in income and government spending with a time lag, due to technological and institutional reasons, we apply appropriate dynamic econometric methods. We report the estimates for both the short and the long-run effects on two different air pollutants, namely SO_2 and CO_2, distinguishing the results for different levels of economic development. Policy implications vary depending on the level of income of the considered countries.

Finally, in the last section of the dissertation, we take into account that the effect of government spending on the environment may be distinguished between direct and indirect effects. On the one hand, higher government expenditure is more likely to include redistributive transfers, which result to increased income equality and thus to higher demand for environmental quality. Moreover, if the environment is considered to be a luxury public good, it is likely that it will only be demanded when the demand for other public goods has been satisfied, i.e. at large levels of government size. The literature identifies four mechanisms by which the level and composition of fiscal spending may affect pollution levels, namely the scale (increased environmental pressures due to more economic growth), composition (increased human capital intensive activities instead of physical capital intensive industries that harm the environment more), technique (due to higher labour efficiency) and income (where increased income raises the demand for improved environmental quality) effects. On the other hand, government size has been found to reduce prosperity which may in turn lead to lower pollution at some levels and to higher pollution at others, depending on the shape of the Environmental Kuznets Curve (EKC). Therefore, the total effect of government expenditure on the environment cannot be determined a priori.

In that section we examine the impact of government spending on the environment using a panel of 77 countries for the time period 1980-2000. We estimate both the direct and indirect effects of government spending on pollution. The indirect effect in particular operates through the impact of government spending on income and the subsequent effect of the income level on pollution. To take into account the dynamic nature and the potential endogeneity in the relationships examined,

Figure 2: *The effect of government share on SO_2/c*



appropriate econometric methods are used. For SO_2, government spending is estimated to have a negative direct impact on per capita emissions, while the direct effect is insignificant on CO_2 pollution. The indirect effect on SO_2 is negative for low income levels and becomes positive as income increases, while it remains negative for CO_2 for the most part of the sample range. The resultant total effects follow the patterns of the indirect effects, which dominate their respective direct ones for each pollutant.

The results suggest that cutting government expenditure in developing countries should be accompanied by appropriate environmental regulation along with the establishment of international environmental treaties. On the other hand, in countries with higher income level we find that cutting government expenditures leads to improvements in both income and environmental quality.

Key words: Economic development, fiscal policy, government expenditure, monetary policy, environment, pollution, direct effects, indirect effects, dynamics

Three - Member Supervisory Committee

George Halkos, Professor in Economics of Natural Resources, Department of Economics, University of Thessaly, Greece *(supervisor)*

Mike Tsionas, Professor in Economic Theory with emphasis in Financial Analysis and Econometrics, Department of Economics, Athens University of Economics and Business, Greece

Konstantinos Bithas, Professor in Environmental and Natural Resources Economics, Department of Economic and Regional Development, Panteion University of Social and Political Sciences, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within "Heraclitus II" programme

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. Halkos G., & **Paizanos, E.** (2015). The effects of fiscal policy on CO2 emissions: Evidence from the U.S.A. *Energy Policy* (pending acceptance).
2. Halkos, G., & **Paizanos, E.** (2015). The channels of the effect of government expenditure on the environment: evidence using dynamic panels. *Journal of Environmental Planning and Management* (pending acceptance).
3. Halkos, G., & **Paizanos, E.** (2013). The effect of government expenditure on the environment: *An empirical investigation*. Ecological Economics, 91, 48-56.

Άρθρα-δοκίμια σε διεθνείς βάσεις
Working papers in international archives

1. Halkos, G., & **Paizanos, E.** (2015). *Effects of Macroeconomic Policy on Air Quality: Evidence from the US*. MPRA Paper, University Library of Munich, Germany.
2. Halkos, G., & **Paizanos, E.** (2014). *Exploring the effect of economic growth and government expenditure on the environment*. MPRA Paper 56084, University Library of Munich, Germany.
3. Halkos, G., & **Paizanos, E.** (2012). *The impact of government expenditure on the environment: An empirical investigation*. MPRA Paper 39957, University Library of Munich, Germany.

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων – βιβλία περιλήψεων
Publications in conference proceedings – books of abstracts

1. Χάλκος, Γ. & **Παϊζάνος, Ε.**(2014). Επιπτώσεις της Οικονομικής Πολιτικής στην Ποιότητα του Περιβάλλοντος: Η Περίπτωση των ΗΠΑ. *2ο Πανελλήνιο Επιστημονικό Συνέδριο στην Οικονομική των Φυσικών Πόρων και του Περιβάλλοντος: Κλιματική Αλλαγή* (σελ. 176 -188). Βόλος: Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Οικονομικών Επιστημών.

   Halkos, G. E., & **Paizanos, E. A.** (2014).Effects of macroeconomic policy on air quality: Evidence from the US. *2nd PanHellenic Conference on Environmental and Natural Resource Economics with emphasis to Climate Change*, (pp.176 -188). Volos, Greece: University of Thessaly, Department of Economics.
2. Halkos G., & **Paizanos, E.** (2014). The effect of economic growth and government expenditure on the environment: evidence using distributed lag models. *1st PanHellenic Conference on Environmental and Natural Resource Economics with emphasis to Climate Change* (pp. 85-98), Volos, Greece: Department of Economics, University of Thessaly.
3. Halkos, G. & **Paizanos, E.** (2013). The impact of government expenditure on the environment. *6th International Scientific Conference on Energy and Climate Change* (Proceedings Day 2, pp. 40 -49). Athens, Greece: National and Kapodistrian University of Athens

Σύντομο Βιογραφικό

Ο **Επαμεινώνδας Παϊζάνος** είναι αριστούχος απόφοιτος του Τμήματος Οικονομικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (βαθμός πτυχίου 9,64). Είναι κάτοχος Μάστερ Επιστημών στην Οικονομική Επιστήμη (M.Sc. in Economics, 2008) από την Οικονομική Σχολή του Λονδίνου (London School of Economics) του Πανεπιστημίου του Λονδίνου κι έχει παρακολουθήσει επιτυχώς το θερινό πρόγραμμα του Πανεπιστημίου του Trento (Ιταλία) στη θεματική ενότητα «Macroeconomics and Financial Crises» (2010). Από τον Απρίλιο του 2010 είναι υποψήφιος Διδάκτορας στο Τμήμα Οικονομικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στο πεδίο των Οικονομικών του Περιβάλλοντος με επιβλέποντα τον Καθηγητή κ. Γεώργιο Χάλκο. Η διδακτορική του διατριβή με τίτλο «Οι Επιπτώσεις της Δημοσιονομικής Πολιτικής και ο Ρόλος της Περιβαλλοντικής Πολιτικής» χρηματοδοτήθηκε από το Ερευνητικό Έργο «Ηράκλειτος ΙΙ».

Έχει λάβει τρεις φορές υποτροφία από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών (ΙΚΥ) για την καλύτερη επίδοση κατά τα 2ο, 3ο και 4ο έτη των προπτυχιακών του σπουδών, καθώς και υποτροφία από την Επιτροπή Ερευνών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για τη συνολικά καλύτερη επίδοση του προπτυχιακού προγράμματος σπουδών για τα έτη 2003-2007.

Το 2005-2006 συμμετείχε ως βοηθός στο πρόγραμμα ‘Consolidation of Romanian Statistical System Europe Aid/ 119795/D/SV/RO’. Από το 2008 έχει πραγματοποιήσει σειρά φροντιστηριακών μαθημάτων στο Τμήμα Οικονομικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, σε προπτυχιακό και μεταπτυχιακό επίπεδο, στα αντικείμενα της Οικονομετρίας, Μικροοικονομίας και των Οικονομικών του Περιβάλλοντος.

Τα ερευνητικά του ενδιαφέροντα εστιάζονται στην Εφαρμοσμένη Στατιστική και Οικονομετρία, στα Οικονομικά του Περιβάλλοντος και στην Εφαρμοσμένη Μακροοικονομική.

Short CV

Epameinondas Paizanos has graduated with a first class honours Degree (grade 9.64) from the Department of Economics of the University of Thessaly. He holds a M.Sc. in Economics from the London School of Economics (2008). Furthermore, he has successfully participated in the summer school of the University of Trento (Italy) on the subject of ‘Macroeconomics and Financial Crises’ (2010). Since April 2010, he is a PhD candidate at the Department of Economics of the University of Thessaly on the field of Environmental Economics, under the supervision of Professor George Halkos. His dissertation titled “The Effects of Fiscal Policy and the Role of Environmental Policy” is financed by the Research Funding Programme Heraclitus II.

He has been awarded three scholarships from the Greek State Scholarship Foundation (IKY) for the best performance during his postgraduate studies and a scholarship from the Research Committee of the University of Thessaly for the overall best performance during the postgraduate programme 2003-2007.

In 2005-2006, he contributed to the Research Programme ‘Consolidation of Romanian Statistical System Europe Aid/ 119795/D/SV/RO’. Since 2008, he has been teaching assistant classes on the subjects of Econometrics, Microeconomics and Environmental Economics, on both the undergraduate and postgraduate level.

His research interests are in the fields of Applied Statistics and Econometrics, Environmental Economics and Applied Macroeconomics.

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
SCHOOL OF AGRICULTURAL SCIENCES

Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος
Department of Agriculture Crop Production and Rural Environment

Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος
Department of Icthyology and Aquatic Environment

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ - SCHOOL OF AGRICULTURAL SCIENCES

Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος
Department of Agriculture Crop Production and Rural Environment

Δημήτριος Δημάκας

Εφαρμογή των επεξεργασμένων στερεών αστικών αποβλήτων στη γεωργία. Επίδραση στην άρδευση, στην ανάπτυξη των φυτών και στο περιβάλλον.

Περίληψη

Είναι γεγονός ότι τουλάχιστον το 70% των διαθέσιμων υδατικών πόρων παγκοσμίως προορίζονται για αρδεύσεις. Στην Ελλάδα, αυτό το ποσοστό ανέρχεται περίπου στο 87,4%, ποσοστό αρκετά σημαντικό σε σχέση με το υπόλοιπο 12,6% που διατίθεται για αστική και βιομηχανική χρήση. Ανάλογα με τις επικρατούσες εδαφικές και κλιματικές συνθήκες, οι ανάγκες σε νερό άρδευσης μπορεί να είναι μεγαλύτερες από τους διαθέσιμους υδατικούς πόρους και να δημιουργείται πρόβλημα, όχι μόνο στον αγροτικό τομέα αλλά και σε άλλους χρήστες. Η μείωση της απώλειας του νερού, έστω και σε μικρό ποσοστό, θα εξοικονομήσει σημαντικές ποσότητες υδάτων, οι οποίες μπορούν να αξιοποιηθούν στην ικανοποίηση άλλων αναγκών πρώτης προτεραιότητας ή στη βελτίωση του υδατικού ισοζυγίου μιας περιοχής.

Οι ευεργετικές ιδιότητες των επεξεργασμένων στερεών αστικών αποβλήτων (βιοστερεών) σαν εδαφοβελτιωτικά είναι γενικότερα αναγνωρισμένες. Με την προσθήκη βιοστερεών στο έδαφος βελτιώνεται η δομή του καθώς και πολλά φυσικά χαρακτηριστικά του. Επίσης, τα φυτά μπορούν να δεσμεύσουν από το έδαφος πιο εύκολα τα θρεπτικά στοιχεία και το νερό, ενώ σε πολλές περιπτώσεις αυξάνεται η παραγωγή και η ποιότητα των φυτών. Τα βιοστερεά αποτελούν σημαντική πηγή θρεπτικών στοιχείων για τις καλλιέργειες. Τα μακροθρεπτικά στοιχεία όπως το άζωτο (N) και ο φώσφορος (P), που είναι απαραίτητα για τις καλλιέργειες, βρίσκονται σε ικανοποιητικές ποσότητες στα βιοστερεά, ενώ το τρίτο στοιχείο, το κάλιο (K), βρίσκεται σε χαμηλές ποσότητες. Τα βιοστερεά μπορούν να αποτελέσουν επίσης πηγή μικροθρεπτικών στοιχείων, όπως ο σίδηρος (Fe), το βόριο (B), ο χαλκός (Cu) και το νικέλιο (Ni), καθώς και άλλων στοιχείων που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη των φυτών.

Τα τελευταία 60 χρόνια, γίνεται μια εντατική προσπάθεια της επιστημονικής κοινότητας να εμβαθύνει στα αποτελέσματα της χρήσης των βιοστερεών στο έδαφος και κυρίως στις βλαβερές ουσίες που μπορούν να περιέχουν. Παράλληλα, την τελευταία δεκαετία, η επιστημονική κοινότητα άρχισε να ενδιαφέρεται για τις ανανεώσιμες πηγές ενέργειας όπως το βιοντήζελ και η βιοαιθανόλη, σε μια προσπάθεια να αντικατασταθούν τα παραδοσιακά καύσιμα και να μειωθούν οι εκπομπές του διοξειδίου του άνθρακα.

Θεωρώντας το γλυκό σόργο ως πιθανή μελλοντική καλλιέργεια για την παραγωγή βιομάζας και βιοαιθανόλης στην Ελλάδα, στόχος της έρευνας αυτής ήταν η μελέτη σε πραγματικές συνθήκες των πλεονεκτημάτων της εφαρμογής επεξεργασμένων στερεών αστικών αποβλήτων στη γεωργία και ειδικότερα η μελέτη της επίδρασής τους στη βελτίωση της αποδοτικότητας του νερού άρδευσης, στη βελτίωση των χαρακτηριστικών ανάπτυξης και παραγωγικότητας των φυτών και στην επίδραση της εφαρμογής τους στο περιβάλλον.

Η έρευνα διεξήχθη κατά τα συναπτά έτη 2009-2011 στο αγρόκτημα του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στο Βελεστίνο και στο Εργαστήριο Γεωργικής Υδραυλικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Εννέα μεταχειρίσεις σε τρεις επαναλήψεις οργανώθηκαν σε σχέδιο τυχαιοποιημένων πλήρων ομάδων: α) Εφαρμογή βιοστερεών (500kg/στρ.) στο έδαφος με τρεις διαφορετικές δόσεις άρδευσης (100%, 80% και 60% της ημερήσιας εξατμισοδιαπνοής της καλλιέργειας) β) Εφαρμογή ανόργανης λίπανσης (ίδιες ποσότητες αζώτου (N), φωσφόρου (P) και καλίου (K) με τα βιοστερεά) με τρεις διαφορετικές δόσεις άρδευσης (100%, 80% και 60% της ημερήσιας εξατμισοδιαπνοής της καλλιέργειας) και γ) Μάρτυρας (χωρίς εφαρμογή βιοστερεών ή ανόργανης λίπανσης) με τρεις διαφορετικές δόσεις άρδευσης (100%, 80% και 60% της ημερήσιας εξατμισοδιαπνοής της καλλιέργειας). Παράλληλα, σε παρακείμενο τεμάχιο, οργανώθηκαν τρεις μεταχειρίσεις (βιοστερεά, λίπανση, μάρτυρας) σε τρεις επαναλήψεις οι οποίες αρδεύονταν με δόση άρδευσης που κάλυπτε το 100% των αναγκών της καλλιέργειας και ορίζονταν από το

επίπεδο της εδαφικής υγρασίας. Η εδαφική υγρασία προσδιοριζόταν με αισθητήρα υγρασίας εδάφους. Η μέθοδος άρδευσης σε όλες τις μεταχειρίσεις ήταν η επιφανειακή στάγδην άρδευση.

Τα επεξεργασμένα στερεά αστικά απόβλητα ή αλλιώς βιοστερεά, που εφαρμόστηκαν στις αντίστοιχες μεταχειρίσεις, προήλθαν από τη μονάδα επεξεργασίας λυμάτων του Δήμου Βόλου. Μετά από την αερόβια και αναερόβια επεξεργασία των αστικών αποβλήτων, την πάχυνσή τους και το πέρασμά τους από την ταινιοφιλτροπρέσα, η ιλύς αποστειρωνόταν και αποξηραινόταν, με τη μέθοδο της υπέρυθρης ακτινοθερμικής επεξεργασίας. Η υπέρυθρη ακτινοθερμική επεξεργασία είναι μια μέθοδος που επιτυγχάνει άμεση θερμική διείσδυση και έχει την ικανότητα να μεταφέρει μεγάλα ποσά θερμικής ενέργειας στο ακτινοβολούμενο προϊόν. Η ακτινοβολία αυτή αφαιρεί την υγρασία και καταστρέφει τα παθογόνα που έχει η ιλύς. Η επεξεργασία γινόταν σε πρότυπο ειδικό επεξεργαστή υπέρυθρης ακτινοβολίας που βρίσκεται στη ΔΕΥΑΜΒ. Τα βιοστερεά που παράγονταν με το συγκεκριμένο τρόπο είχαν τη μορφή μικρών κόκκων (2-4 mm), υγρασία λιγότερο από 10% και μη ανιχνεύσιμους παθογόνους μικροοργανισμούς.

Προσδιορίστηκαν οι εδαφικές, κλιματικές παράμετροι και παράμετροι των βιοστερεών, μετρήθηκαν τα χαρακτηριστικά ανάπτυξης και παραγωγής των φυτών, ενώ υπολογίστηκε η αποδοτικότητα χρήσης νερού της καλλιέργειας καθώς και η θεωρητική παραγωγή βιοαιθανόλης. Παράλληλα, έγινε σύγκριση της άρδευσης βάσει της εδαφικής υγρασίας (100% των αναγκών της καλλιέργειας) και της άρδευσης με δόση ίση με το 100% της ημερήσιας εξατμισοδιαπνοής (ETc) της καλλιέργειας.

Βάσει των αποτελεσμάτων της έρευνας μπορούμε να καταλήξουμε στο ευρύτερο συμπέρασμα πως η εφαρμογή βιοστερεών μπορεί να αντικαταστήσει την εφαρμογή ανόργανης λίπανσης στις καλλιέργειες ενεργειακών φυτών, με αύξηση στην παραγωγή βιομάζας και βιοαιθανόλης, χωρίς η αντικατάσταση αυτή να επιβαρύνει σημαντικά το περιβάλλον. Η παραγωγή των ανόργανων λιπασμάτων, ως γνωστόν, καταναλώνει τεράστια ποσά ενέργειας τα οποία θα μπορούσαν να εξοικονομηθούν με τη χρήση των βιοστερεών.

Παράλληλα με την εφαρμογή των βιοστερεών μπορεί να εξοικονομηθεί σε πολλές περιπτώσεις αρδευτικό νερό, χωρίς να μειωθεί η αποδοτικότητα της καλλιέργειας του γλυκού σόργου. Το ποσοστό εξοικονόμησης του αρδευτικού νερού υπερβαίνει σε πολλές περιπτώσεις το 31%. Συνεπώς, αν αυτή η ποσότητα του αρδευτικού νερού εξοικονομούνταν θα υπήρχε όχι μόνο εξοικονόμηση σε επίπεδο υδατικών πόρων αλλά και σε πολύτιμη ενέργεια.

Δεδομένου ότι τα βιοστερεά μπορούν να εφαρμοστούν με τον υπάρχοντα γεωργικό εξοπλισμό στο έδαφος (δεν απαιτείται αγορά πρόσθετου εξοπλισμού) και δεδομένου ότι το κόστος των βιοστερεών και του αντίστοιχου ανόργανου λιπάσματος είναι το ίδιο, προκύπτει οικονομικό όφελος για τον παραγωγό τόσο από την αύξηση της παραγωγής, όσο και από την εξοικονόμηση του αρδευτικού νερού.

Το γλυκό σόργο φαίνεται να είναι μια εναλλακτική καλλιέργεια για την παραγωγή βιομάζας και την παραγωγή ενέργειας στην Ελλάδα. Η εφαρμογή βιοστερεών στην καλλιέργεια του γλυκού σόργου μπορεί να ενισχύσει την αποδοτικότητά της και να επιφέρει εξοικονόμηση πόρων και ενέργειας.

Λέξεις - κλειδιά: άρδευση, βιοστερεά, βιοαιθανόλη, γλυκό σόργο, βιομάζα, αποδοτικότητα χρήσης νερού

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Μαρία Σακελλαρίου - Μακραντωνάκη, Καθηγήτρια, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
Γνωστικό Αντικείμενο: Αρδεύσεις, Στραγγίσεις, Υδραυλική (*επιβλέπουσα*)

Ανθούλα Δημήρκου, Καθηγήτρια, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
Γνωστικό Αντικείμενο: Εδαφολογία με Έμφαση στη Χημεία Εδάφους

Ιωάννης Αλεξίου, Αναπληρωτής Ερευνητής, Ινστιτούτο Χαρτογράφησης και Ταξινόμησης Εδαφών Λάρισας, Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας
Γνωστικό Αντικείμενο: Διαχείριση Εδαφικών και Υδατικών Πόρων

Dimitrios Dimakas

Application of processed municipal solid waste in agriculture. Effects on irrigation, in plant development and on the environment.

Abstract

It is well known that at least 70% of the available water resources, worldwide, are reserved for irrigation purposes. In Greece, this rate is around 87.4%, which is quite important in relation to the

remaining 12.6% available for residential and industrial use. Depending on the prevailing soil and climatic conditions, the need for irrigation water may be greater than the available water resources, causing problems not only in agriculture but also in other users. The reduction of water losses, even at small percentage, will save significant amounts of water, which can be used to satisfy other more urgent needs or to improve the water balance of an area.

The beneficial properties of processed municipal solid waste (biosolids) as a fertilizer is generally recognized. With the addition of biosolids the soil structure is improved along with other physical properties. Plants are also able to utilize soil's nutrients and water more easily. In many cases the production and the quality of the plants is increased. Biosolids are also an important source of nutrients that are essential for crops. The macronutrients nitrogen (N) and phosphorus (P), which are necessary for crops, are in satisfactory quantities in biosolids, while the third nutrient, potassium (K), is present at low amounts. Biosolids can also be a source of micronutrients, such as iron (Fe), boron (B), copper (Cu) and nickel (Ni), as well as of other nutrients necessary for plant growth.

During the last 60 years, there has been an intense effort by the scientific community to deepen in the results of the biosolids application in the soil and especially to investigate the harmful substances that they contain. Moreover, the scientific community has also become interested in renewable energy sources such as biodiesel and bioethanol, in an attempt to replace traditional fuels and reduce the emissions of carbon dioxide.

Considering the sweet sorghum as a possible future crop for biomass and bioethanol production in Greece, the aim of this investigation was to study, in real conditions, the advantages of the application of treated municipal solid waste in agriculture. Specifically, the aim was to study their impact on improving the efficiency of irrigation water, growth characteristics and productivity of plants as well as their effect on the environment.

The survey was conducted in three consecutive years 2009 - 2011 at the farm of the University of Thessaly in Velestino, Greece and in the Agricultural Hydraulics Laboratory of the University of Thessaly. Nine treatments with three replications were organized in a randomized complete block design as follows: a) Biosolids application at a rate of 5 Mg/ha with three different irrigation doses (100%, 80% and 60% of the daily crop evapotranspiration) b) Inorganic fertilizer application (containing the same amount of total nitrogen, phosphorus and potassium as the applied biosolids) with three different irrigation doses (100%, 80% and 60% of the daily crop evapotranspiration) and c) Untreated Control (no application of fertilizer or biosolids) with three different irrigation doses (100%, 80% and 60% of the daily crop evapotranspiration). Alongside, three treatments (biosolids, fertilizer, control) with three replications were organized nearby. These treatments were irrigated with the 100% of the crop's total needs and by the soil moisture level, which was determined by a soil moisture sensor. The surface drip irrigation method was used for all treatments.

Treated municipal solid waste or otherwise biosolids, applied to the respective treatments, emerged from the water treatment plant of the Municipality of Volos. After the aerobic and anaerobic treatment of municipal waste, fattening and their passage through the belt filter press, the sludge was sterilized and dried by the method of infrared radiation processing. The infrared radiation processing is a method which achieves direct thermal penetration and has the ability to carry large amounts of thermal energy in the irradiated product. This radiation dehumidifies and destroys pathogens having the slurry. The processing was done in standard special processor infrared located in DEYAMV. The biosolids produced in this way had the form of small granules (2-4 mm), moisture content less than 10% and no detectable pathogens.

Soil, climate and biosolids parameters were determined as long as with the growth and productivity characteristics of the crop. Water use efficiency and theoretical ethanol production of the sweet sorghum crop were also estimated.

The results of this research showed that biosolids application can replace inorganic fertilizer application to energy crops with an increase in biomass and ethanol production without harming the environment. The production of commercial fertilizers consumes great amount of energy that could be saved by the application of biosolids.

Application of biosolids can save valuable irrigation water at a percentage that reaches 31%, without reducing the productivity of the crop. Consequently, by the application of biosolids this water could be saved from irrigation and thus, energy and valuable water resources could be saved.

Since biosolids can be applied with the existing farm equipment on the soil (no purchase is required for additional equipment) and since the cost of biosolids and commercial mineral fertilizer is the same, there is a clear economic benefit to the farmer that comes both from the increase in production and by the reduction in irrigation water.

Sweet sorghum appears to be an alternative crop for biomass and energy production in Greece. The application of biosolids in sweet sorghum crop can enhance efficiency and save valuable energy resources.

Key words: irrigation, biosolids, sweet sorghum, drip irrigation, biomass, water use efficiency, ethanol

Three - Member Supervisory Committee

Maria Sakellariou-Makrantonaki, Professor, Department of Agriculture Crop Production and Rural Environment, School of Agricultural Sciences, University of Thessaly
Disciplines: Irrigation and Drainage, Hydraulics *(advisor)*

Anthoula Dimirkou, Professor, Department of Agriculture Crop Production and Rural Environment, School of Agricultural Sciences, University of Thessaly
Disciplines: Soil Science, Soil Chemistry

Ioannis Aleksiou, Associate Researcher, Institute of Soil Mapping and Classification, National Agricultural Research Foundation
Disciplines: Soil and water resources management

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within "Heraclitus II" programme

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. Sakellariou-Makrantonaki, M., & **Dimakas, D**. (2013). Effects of biosolids application on sweet sorghum biomass, water use efficiency and ethanol production. *Fresenius Environmental Bulletin*, *22*(3A), 914-921.

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων - βιβλία περιλήψεων Publications in conference proceedings - books of abstracts

1. Σακελλαρίου-Μακραντωνάκη, Μ., Νάκας, Χ., & **Δημάκας, Δ.** (2013). Εφαρμογή βιοστερεών σε συνδυασμό με ελλειμματική άρδευση σε καλλιέργεια ενεργειακού φυτού. Στο Δ. Κατέρης & Ν. Κατσούλας (Επιμ.), *8ο Πανελλήνιο Συνέδριο της Εταιρείας Γεωργικών Μηχανικών Ελλάδας* (σσ. 92-96). Βόλος, Εταιρεία Γεωργικών Μηχανικών Ελλάδας.

   Sakellariou - Makrantonaki, M., Nakas, C., & **Dimakas, D.** (2013). Biosolids application combined with deficit irrigation on energy crop. In D. Kateris & N. Katsoulas (Eds.), *8th Conference of the Hellenic Society of Agricultural Engineers* (pp.92-96). Volos, Greece: Hellenic Society of Agricultural Engineers.

2. Sakellariou-Makrantonaki, M., & **Dimakas, D.** (2012). Effects of biosolids application to sweet sorghum crop under deficit irrigation and energy saving. In K. L. Katsifarakis, N. Theodossiou, C. Christodoulatos, A. Koutsospyros & Z. Mallios (Eds.), *11th International Conference Protection and Restoration of the Environment* (pp. 72-78). Thessaloniki, Greece: Departments of Civil Engineering & Planning and Regional Development of the University of Thessaly and the Stevens Institute of Technology, USA.

3. Σακελλαρίου - Μακραντωνάκη, Μ., & **Δημάκας, Δ.** (2012). Εφαρμογή επεξεργασμένων στερεών αστικών αποβλήτων σε καλλιέργεια γλυκού σόργου και εξοικονόμηση νερού και ενέργειας. Στο Α. Κούγκολος, Ο. Χριστοπούλου & Χ. Λασπίδου (Επιμ.), *1ο Περιβαλλοντικό Συνέδριο Θεσσαλίας* (σσ.278-283). Σκιάθος, Ελλάδα: Τμήμα Μηχανικών Χωροταξίας, Πολεοδομίας και Περιφερειακής Ανάπτυξης και Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας & Περιφέρεια Θεσσαλίας.

   Sakellariou-Makrantonaki, M., & **Dimakas, D.** (2012). Application of municipal solid waste to sweet sorghum crop and water and energy saving. In A. Kougolos, O. Christopoulou & X. Laspidou (Eds.), *1st Environmental Conference of Thessaly* (pp. 278-283). Skiathos, Greece: Departments of Planning and Regional Development & Civil Engineering of the University of Thessaly and the Region of Thessaly.

4. Σακελλαρίου-Μακραντωνάκη, Μ., & **Δημάκας, Δ.** (2011). Εξοικονόμηση ενέργειας από την εφαρμογή βιοστερεών σε καλλιέργεια γλυκού σόργου σε συνδυασμό με ελλειμματική άρδευση. *7ο Πανελλήνιο Συνέδριο της Εταιρείας Γεωργικών Μηχανικών Ελλάδας* (4-9-55) [CD]. Αθήνα, Ελλάδα: Εταιρεία Γεωργικών Μηχανικών Ελλάδας.

Sakellariou-Makrantonaki, M., & **Dimakas, D.** (2011). Energy saving by the application of biosolids to sweet sorghum crop under deficit irrigation. *7th Conference of the Hellenic Society of Agricultural Engineers* (4-9-55) [CD]. Athens, Greece: Hellenic Society of Agricultural Engineers.

5. Sakellariou-Makrantonaki, M.A., & **Dimakas, D.S.** (2011). Biosolids application combined with deficit irrigation on sweet sorghum crop. In T. D. Lekkas (Ed.), *12th International Conference on Environmental Science and Technology* (pp.1593-1599). Rhodes, Greece: Global network for environmental science and technology and the Departments of Environmental Studies & Statistics & Actuarial-Financial Mathematics of the Aegean University.

6. Sakellariou-Makrantonaki, M.A., & **Dimakas, D.S.** (2011). Energy saving by the application of biosolids to sweet sorghum crop under deficit irrigation. In A. Kungolos, A. Karagiannidis, K. Aravossis, P. Samaras & K. W. Schramm (Eds.), *3rd International CEMEPE & SECOTOX Conference* (pp. 449-454). Skiathos, Greece: Department of Planning and Regional Development of the University of Thessaly, Department of Mechanical Engineering of the Aristotle University of Thessaloniki and the International Society of Ecotoxicology and Environmental Safety.

7. Sakellariou-Makrantonaki, M.A., & **Dimakas, D.S.** (2010). Effects of sewage sludge application in sweet sorghum crop and energy saving. In K. Lasaridi, T. Manios, W. Bidlingmaier, K. Abeliotis, M. Bertoldi, L. F. Diaz & E. I. Stentiford (Eds.), *7th International ORBIT 2010 Conference Heraklion* (pp. 756-761). Crete, Greece: Hellenic Solid Waste Management Association, ORBIT Association and European Compost Network.

Σύντομο Βιογραφικό

Ο Δημήτριος Δημάκας γεννήθηκε στην Αθήνα, το έτος 1979. Είναι απόφοιτος του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και κάτοχος Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης από το ίδιο Τμήμα, με τίτλο «Αυτοματισμοί στις Αρδεύσεις, τις Γεωργικές Κατασκευές και στην Εκμηχάνιση της Γεωργίας». Αναγορεύτηκε Διδάκτορας της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας το έτος 2014.

Για την εκπλήρωση των διδακτορικών του σπουδών έλαβε την υποτροφία «Ηράκλειτος ΙΙ». Ακόμη έλαβε δυο υποτροφίες από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών για την εκπλήρωση των προπτυχιακών του σπουδών. Έχει επίσης βραβευτεί δυο φορές από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών.

Είναι μέλος του Γεωτεχνικού Επιμελητηρίου Ελλάδος και της εταιρείας Γεωργικών Μηχανικών.

Γνωρίζει άπταιστα την αγγλική γλώσσα και τους ηλεκτρονικούς υπολογιστές. Έχει εμπειρία εφαρμογών και χειρισμού διαφόρων εργαστηριακών τεχνικών και οργάνων ανάλυσης που αφορούν τον προσδιορισμό διαφόρων ρυπογόνων στοιχείων τόσο σε ύδατα όσο και σε εδάφη.

Συμμετείχε σε διάφορα εθνικά και ευρωπαϊκά ερευνητικά προγράμματα τα οποία είχαν ως αντικείμενο κυρίως την επαναχρησιμοποίηση των υγρών και στερεών αποβλήτων και την άρδευση ενεργειακών φυτών.

Οι δημοσιεύσεις του και τα ερευνητικά του ενδιαφέροντα επικεντρώνονται κυρίως στην επαναχρησιμοποίηση των στερεών και υγρών αποβλήτων στη γεωργία, στα σύγχρονα συστήματα άρδευσης, στην ποιότητα του νερού και στην εξοικονόμηση νερού.

Short CV

Dimitrios Dimakas was born in, Athens in 1979. He graduated from the Department of Agriculture Crop Production and Rural Environment of the University of Thessaly and earned his MSc Degree from the same Department, entitled ”Automation in irrigation, in agricultural constructions and in the mechanization of agriculture”. In 2014, he earned his Doctorate in Agricultural Sciences from the School of Agricultural Sciences of the University of Thessaly.

He received the “Heraclitus II” scholarship to fulfill his doctoral studies. He had received two scholarships from the State Scholarships Foundation to complete his graduate studies. He has also been awarded twice for excellence by the State Scholarships Foundation.

He is a member of the Geotechnical Chamber of Greece and the Hellenic Agricultural Engineers Society.

He speaks English fluently and has excellent knowledge of computers. He has experience in various laboratory analytical procedures and instruments and especially in the determination of soil and water pollutants.

He participated in several national and European research programmes which were focused on the reuse of liquid and solid waste as well as on energy crops’ irrigation. His publications and research interests focus mainly on the reuse of solid and liquid waste in agriculture, in modern irrigation systems, water quality and water conservation.

Νικόλαος Ρηγάκης

Θεωρητική και Πειραματική Διερεύνηση του Μικροκλίματος των Διχτυοκηπίων

Περίληψη

Τα διχτυοκήπια συνεχώς επεκτείνονται ως τεχνική καλλιέργειας σε μεσογειακές περιοχές και κυρίως στο Ισραήλ, στις νότιες περιοχές της Ισπανίας, στην Ιταλία και στην Ελλάδα. Τα δίχτυα επηρεάζουν το μικροκλίμα των διχτυοκηπίων και προάγουν την παραγωγικότητα και την ποιότητα της παραγωγής των υπό κάλυψη καλλιεργειών.

Στην εργασία αυτή, μελετάται, θεωρητικά και πειραματικά, η επίδραση τριών διαφορετικών διχτυών κάλυψης, με διαφορετικό συντελεστή σκίασης και διαφορετικό πορώδες στο μικροκλίμα των διχτυοκηπίων και στην επίδοση καλλιέργειας γλυκιάς πιπεριάς. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν από το Μάιο έως και τον Οκτώβριο δυο διαδοχικών ετών, στο πειραματικό αγρόκτημα του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, στο Βελεστίνο (κεντρική Ελλάδα). Σπορόφυτα γλυκιάς πιπεριάς μεταφυτεύτηκαν το Μάιο εντός των διχτυοκηπίων και στον ανοικτό αγρό. Τα τρία διχτυοκήπια (έκτασης 200 m^2) καλύφθηκαν με τα εξής δίχτυα: (α) εντομοστεγανό, 50-mesh, διάφανο, με συντελεστή σκίασης περίπου 13% (IP-13), (β) εντομοστεγανό, 50-mesh, λευκό, με συντελεστή σκίασης περίπου 34% (IP-34) και (γ) πράσινο δίχτυ σκίασης με συντελεστή σκίασης περίπου 36% (S-36). Οι συντελεστές σκίασης υπολογίστηκαν βάσει εργαστηριακών μετρήσεων με τη χρήση ενός φασματοφωτομέτρου και μιας σφαίρας ολοκλήρωσης. Τα δίχτυα (α) και (β) είχαν ίδιο πορώδες αλλά διαφορετικό συντελεστή σκίασης, ενώ τα δίχτυα (β) και (γ) είχαν ίδιο συντελεστή σκίασης αλλά διαφορετικό πορώδες (0,46 και 0,63) για το IP-34 και S-36, αντίστοιχα.

Κατα τη διάρκεια των πειραμάτων, μετρήθηκαν οι εξής παράμετροι του μικροκλίματος, εντός των διχτυοκήπίων και στον ανοικτό αγρό: ηλιακή ακτινοβολία, θερμοκρασία και σχετική υγρασία του αέρα, θερμοκρασία καλλιέργειας, ρυθμός διαπνοής καλλιεργειών και ταχύτητα και διεύθυνση ανέμου. Η προσπίπτουσα στην καλλιέργεια ηλιακή ακτινοβολία μειώθηκε αναλογικά με το συντελεστή σκίασης που προσδιορίστηκε εργαστηριακά. Ωστόσο, παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ της περατότητας των διχτυών στο εργαστήριο και εκείνης των κατασκευών στον πειραματικό αγρό (αύξηση των *in situ* περατοτήτων) και αποδόθηκαν στη διάχυτη ηλιακή ακτινοβολία η οποία δεν υπήρχε στο εργαστήριο, στη γωνία πρόσπτωσης της ηλιακής ακτινοβολίας η οποία οφείλεται στο αζιμούθιο και στο ύψος του ηλίου, σε αντίθεση με την κάθετη πρόσπτωση της ακτίνας της φωτεινής πηγής στο εργαστήριο, στο σκελετό των κατασκευών ο οποίος εμποδίζει μέρος της ηλιακής ακτινοβολίας να εισέλθει στο εσωτερικό τους, μειώνοντας τη συνολική περατότητα των διχτυοκηπίων και στη συσσωρευτική επικάθιση σκόνης στην επιφάνεια των διχτυών. Τα υλικά κάλυψης αύξησαν τη διάχυτη ηλιακή ακτινοβολία εντός των κατασκευών ανάλογα με το πορώδες τους και το χρώμα τους (φωτεινότητα). Η διάχυτη ακτινοβολία ήταν περισσότερη εντός του IP-13, ενώ εντός του S-36 ήταν περίπου η μισή εκείνης των εντομοστεγανών (IPs) διχτυοκηπίων. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε ανάλυση της φασματικής κατανομής της ηλιακής ακτινοβολίας (άμεση, διάχυτη κα συνολική) εντός των διχτυοκηπίων. Η θερμοκρασία και το έλλειμμα κορεσμού υδρατμών του αέρα εντός των κατασκευών ήταν παρόμοια με εκείνα του ανοικτού αγρού. Η θερμοκρασία καλλιέργειας ήταν μικρότερη εντός των διχτυοκηπίων σε σχέση με εκείνη του ανοικτού αγρού, ενώ το έλλειμμα κορεσμού υδρατμών καλλιέργειας-αέρα, ήταν υψηλότερο στον ανοικτό αγρό. Ο ρυθμός διαπνοής εντός του IP-13 και των υψηλής σκίασης διχτυοκηπίων (IP-34 και S-36) ήταν 25% και 45% μικρότερος σε σχέση με εκείνον της καλλιέργειας του ανοικτού αγρού. Η παρουσία του διχτυού μείωσε τόσο το κλάσμα της διαπνοής που οφείλεται στην ακτινοβολία αλλά και εκείνο που οφείλεται στη μεταφορά, λόγω της μείωσης της ταχύτητας του αέρα στο εσωτερικό των διχτυοκηπίων. Η στοματική αγωγιμότητα των καλλιεργειών ήταν αυξημένη ή παρόμοια εντός των κατασκευών σε σχέση με εκείνη του ανοικτού αγρού.

Ένας άλλος στόχος της εργασίας αυτής ήταν η μελέτη και η προσομοίωση του ρυθμού αερισμού των διχτυοκηπίων. Τα εντομοστεγανά δίχτυα μείωσαν κατά το ίδιο ποσοστό την ταχύτητα του αέρα στο εσωτερικό των κατασκευών, λόγω των ίδιων γεωμετρικών χαρακτηριστικών που είχαν. Η ταχύτητα του αέρα στο εσωτερικό των εντομοστεγανών και του διχτυοκηπίου S-36 ήταν περίπου το 20% και το

44% της ταχύτητας του εξωτερικού ανέμου. Ο ρυθμός αλλαγής του αέρα και ο ρυθμός αύξησής του σε σχέση με την ταχύτητα του εξωτερικού ανέμου, αυξάνονταν με την αύξηση του πορώδους του διχτύου. Επιπλέον, το μέγεθος των κατασκευών επηρεάζει την απόδοση του αερισμού τους, όπως αποδείχθηκε συγκρίνοντας το ρυθμό αερισμού των διχτυοκηπίων της εργασίας αυτής με τον αντίστοιχο μεγάλων εμπορικών διχτυοκηπίων. Τα δεδομένα του ρυθμού αερισμού των διχτυοκηπίων της συγκεκριμένης εργασίας χρησιμοποιήθηκαν για την βαθμονόμηση προσπομοιώματος που υπολογίζει το ρυθμό αερισμού των κατασκευών λαμβάνοντας υπόψιν τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά των διχτύων κάλυψης και την ταχύτητα του ανέμου στο εξωτερικό. Επιπλέον, υπολογίστηκαν ο διπλός συντελεστής $C_d\sqrt{C_w}$ των διχτυοκηπίων και ο συντελεστής που σχετίζεται με τον άνεμο Cw και συγκρίθηκαν με τους αντίστοιχους διχτυοκηπίων μεγάλης κλίμακας, οι οποίοι επίσης υπολογίστηκαν στην εργασία αυτή.

Στο πλαίσιο της εργασίας, μελετήθηκε (πειραματικά και θεωρητικά) και η επίδραση των τριών διαφορετικών διχτυών στην επίδοση καλλιέργειας γλυκιάς πιπεριάς και συγκρίθηκε με εκείνη του ανοικτού αγρού. Για το σκοπό αυτό, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις αύξησης, ανάπτυξης, παραγωγικότητας και ποιότητας παραγωγής καθώς και μετρήσεις του χρησιμοποιούμενου νερού άρδευσης. Οι καλλιέργειες εντός των IP-13 και S-36 παρήγαγαν περισσότερο νωπό βάρος καρπών κατά μέσο όρο και τις δυο χρονιές 66% και 17%, αντίστοιχα, σε σχέση με εκείνες του ανοικτού αγρού. Το μέτριας σκίασης διχτυοκήπιο (≈20-25%; IP-13) προήγαγε την αύξηση της παραγωγής κατά 21%, σε σχέση με το πυκνότερης σκίασης διχτυοκήπιο IP-34 ενώ η παραγωγή στο τελευταίο ήταν αυξημένη κατά 17 % σε σχέση με το αντίστοιχης σκίασης διχτυοκήπιο S-36. Το τελευταίο προάγει έναν σκεπτικισμό σχετικά με την αποτελεσματικότητα πράσινων διχτυών έναντι αντίστοιχης σκίασης ουδέτερου χρώματος (διάφανα ή λευκά). Η υψηλότερη παραγωγή και ο υψηλότερος αριθμός καρπών παρατηρήθηκε εντός του IP-13 (6.3 kgm^{-2} κατά μέσο όρο για τις δυο περιόδους). Η εμπορεύσιμη παραγωγή εντός των διχτυοκηπίων ήταν το 90% της συνολικής παραγωγής έναντι 60% εκείνης του ανοικτού αγρού. Οι συγκομισμένοι καρποί των υπό κάλυψη καλλιεργειών ήταν μεγαλύτερων διαστάσεων και βάρους σε σχέση με εκείνους του ανοικτού αγρού. Τα ηλιακά εγκαύματα σχεδόν εξαλείφθηκαν, η εμφάνιση BER μειώθηκε σημαντικά και οι προσβολές εντόμων περιορίστηκαν σε μεγάλο βαθμό, κυρίως στα εντομοστεγανά διχτυοκήπια. Οι καλλιέργειες εντός των διχτυοκηπίων κατανάλωσαν 20-40% λιγότερο αρδευτικό νερό σε σχέση με εκείνες του ανοικτού αγρού, αυξάνοντας την Αποτελεσματικότητα Χρήσης Αρδευτικού Νερού (IWUE) κατά 132% και 93% εντός των εντομοστεγανών διχτυοκηπίων και του S-36, αντίστοιχα, σε σχέση με εκείνη του ανοικτού αγρού. Η αύξηση των καλλιεργειών επηρεάστηκε θετικά εντός των εντομοστεγανών διχτυοκηπίων, σε αντίθεση με την αντίστοιχη εντός του διχτυοκηπίου S-36. Επιπλέον, η αύξηση των καλλιεργειών προσομοιώθηκε με τη χρήση προσομοιώματος που προβλέπει την παραγωγή ξηράς ουσίας λαμβάνοντας υπόψιν αθροιστική προσλαμβάνουσα PAR από την καλλιέργεια και ταυτοχρόνως υπολογίστηκε και η Αποτελεσματικότητα Χρήσης Ακτινοβολίας από τις καλλιέργειες κάθε μεταχείρισης. Η IWUE και η RUE συσχετίστηκαν ισχυρά με τα οπτικά χαρακτηριστικά των διχτύων κάλυψης, δηλαδή με την ποσότητα και την ποιότητα (φασματική) της άμεσης και της διάχυτης ηλιακής ακτινοβολίας στο εσωτερικό των διχτυοκηπίων.

Λέξεις κλειδιά: Δίχτυ, Σκίαση, Εντομοστεγανό, Πορώδες, Διάχυτη ακτινοβολία, Θερμοκρασία καλλιέργειας, Αγωγιμότητα κόμης καλλιέργειας, Διαπνοή, Αερισμός, Συντελεστής παροχής, Συντελεστής επίδρασης ανέμου, παραγωγή πιπεριάς, ποιότητα παραγωγής, Αποτελεσματικότητα Χρήσης Αρδευτικού Νερού, Αποτελεσματικότητα Χρήσης Ακτινοβολίας

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Κωνσταντίνος Κίττας, Καθηγητής, Γεωργικές Κατασκευές, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας *(επιβλέπων)*

Thierry Boulard, Ερευνητής, Βιοκλιματολογία, Εθνικό Ινστιτούτο Αγροτικής Έρευνας Γαλλίας

Νικόλαος Κατσούλας, Επίκουρος Καθηγητής, Γεωργικές Κατασκευές, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Figure 1. *External view of the experimental screenhouses at the experimental station of University of Thessaly in Velestino (central continental Greece).*

Figure 2. *Interior of an insect proof screenhouse (IP-13) at the end of experiment on 2012.*

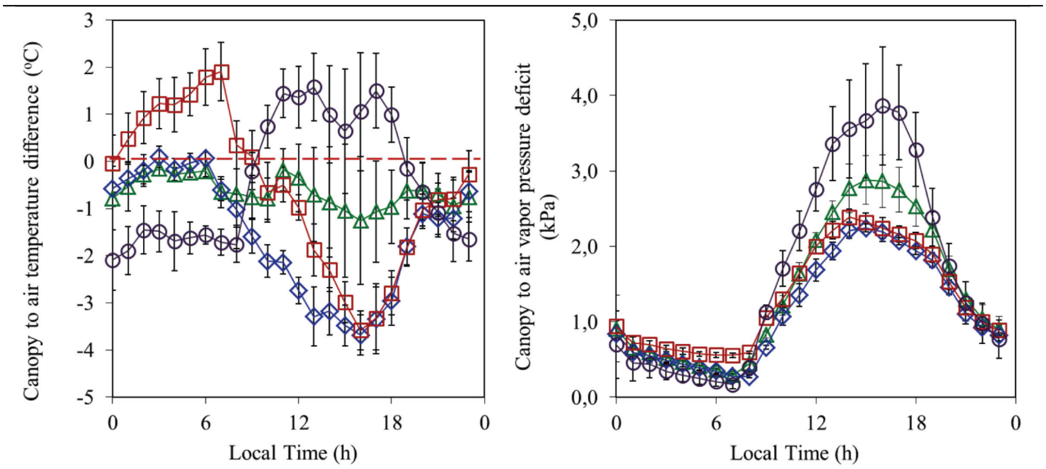


Figure 3. *Daily (24 h) evolution of (i) canopy-to-air temperature difference (left; $\delta T_{c\text{-}air}$; °C) and (ii) canopy to air vapour pressure deficit (right; $D_{c\text{-}air}$; kPa) inside screenhouses (IP-13: squares; IP-34: diamonds; S-36: triangles) and at the open field treatment (Cont, circles). Vertical bars stand for the 95% confidence intervals.*

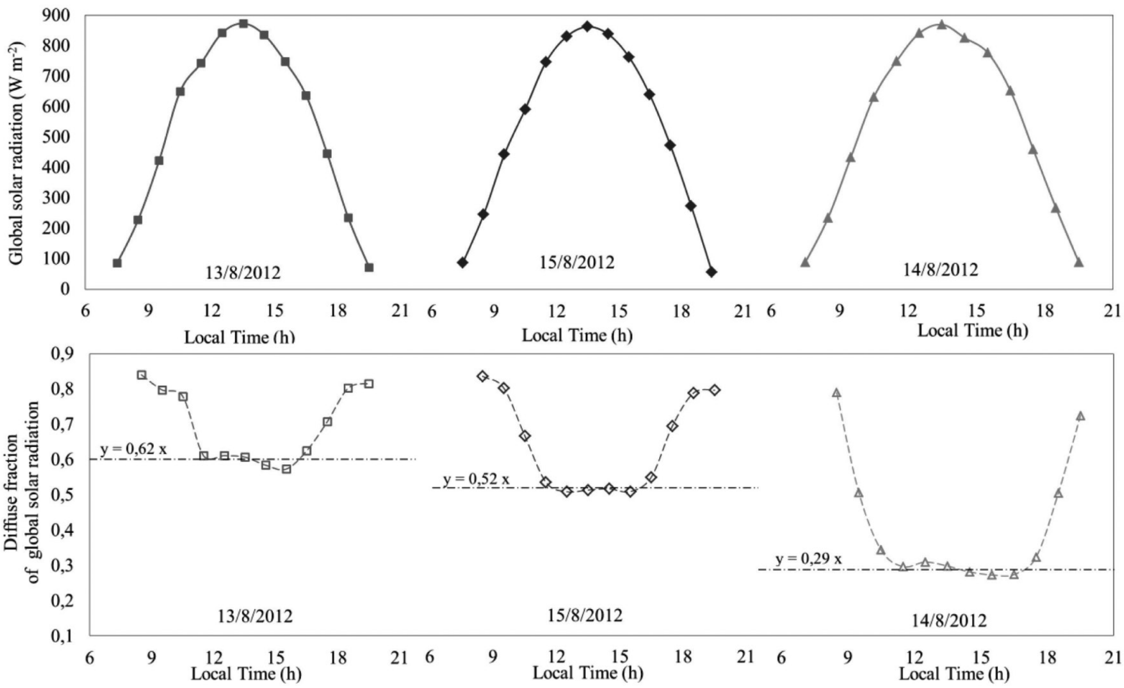


Figure 4. *Upper row: Global solar radiation (R_G; W m^{-2}) at the open field (solid lines and solid symbols; 310-2800nm). Lower row: Diffuse fraction of global solar radiation (f-$R_{G,dif}$) (dashed lines and open symbols; 310-2800nm) inside screenhouses (IP-13: squares; IP-34: diamonds and S-36: triangles). The presented values are from measurements during three representative summer clear sky days of August 2012; 13th for IP-13, 14th for S-36 and 15th of August for and IP-34. Dashed-dotted lines represent the best fitted regression line for a local time period for each day between 11:30 and 16:30.*

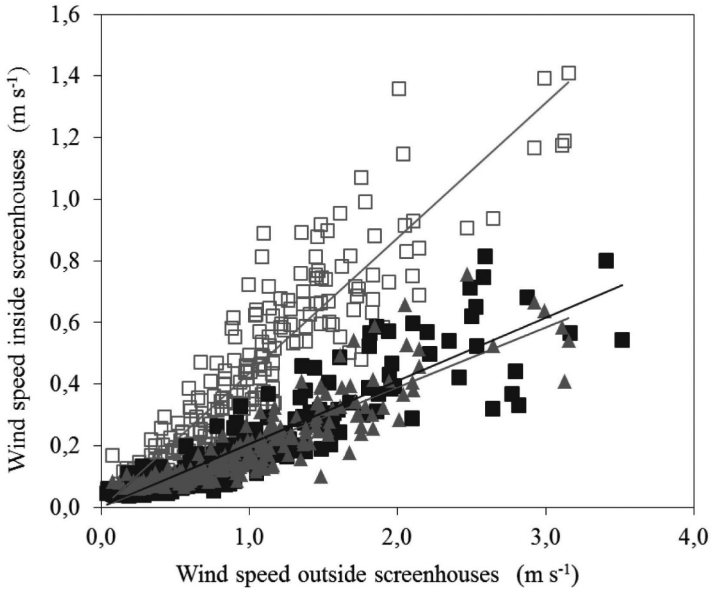


Figure 5. *Wind speed inside the screenhouses as a function of the external wind speed. The figure presents data points from August 25 until 31, 2012, for screenhouses IP-13 (triangles) and S-36 (open squares). For IP-34 (closed square), data points represent measurement values from October 26 until November 5, 2012. Solid lines present the best fit regression line.*

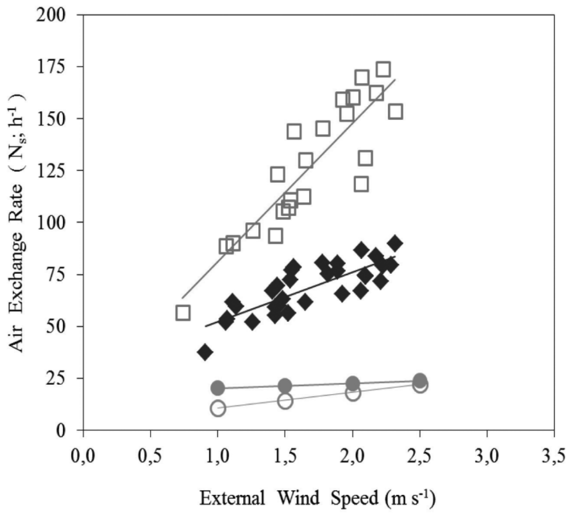


Figure 6. *Screenhouse air exchange rate (h^{-1}) as a function of measured external wind speed, during August 30 until 31, 2012. Diamond: pooled data IP-13 and IP-34; squares: S-36; closed circle: 8 ha banana screenhouse and open circle: 0.66 ha pepper screenhouse. Solid lines present the best fit regression line.*

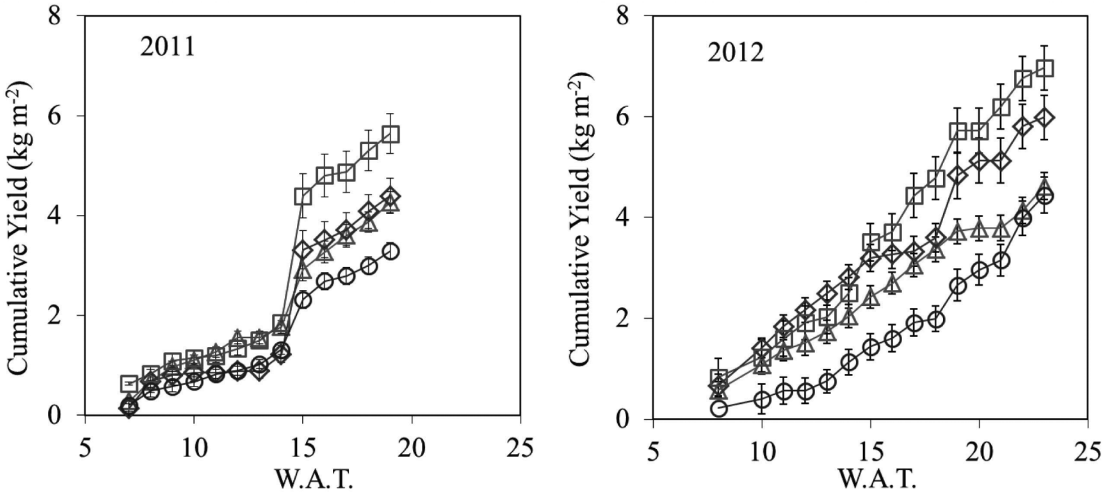


Figure 7. *Commutative yield (kg m^{-2}) during the two cropping periods 2011 (left column) and 2012 (right column). Cont (circles), IP-13 (squares), IP-34 (diamonds) and S-36 (triangles).*

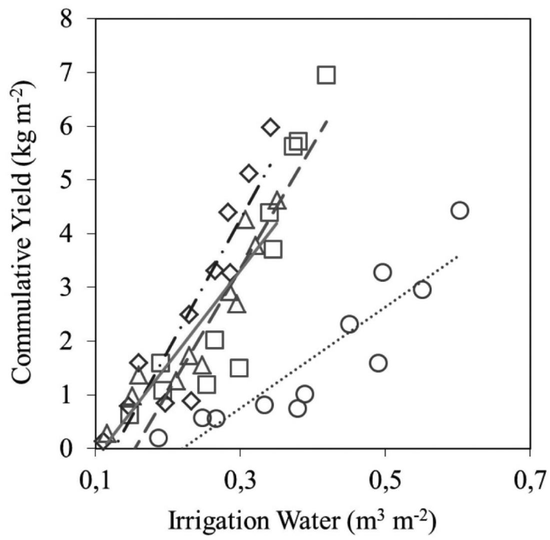


Figure 8. *Cumulative yield ($Y_{c,}$; kg m^{-2}) against irrigation water (W_{irr}; m^3 m^{-2}) for the open field (Cont; circles) and the screenhouses (IP-13; squares, IP-34; diamonds and S-36; triangles) pooled for the two experimental periods (2011 & 2012). The lines represent the best fit regression line for each group of data; Cont: dotted line, IP-13: red-dashed line, IP-34: blue-dash-dotted line and S-36: green-solid line. The slope of these lines is the Irrigation Water Use Efficiency (kg m^{-3}) of each respective treatment.*

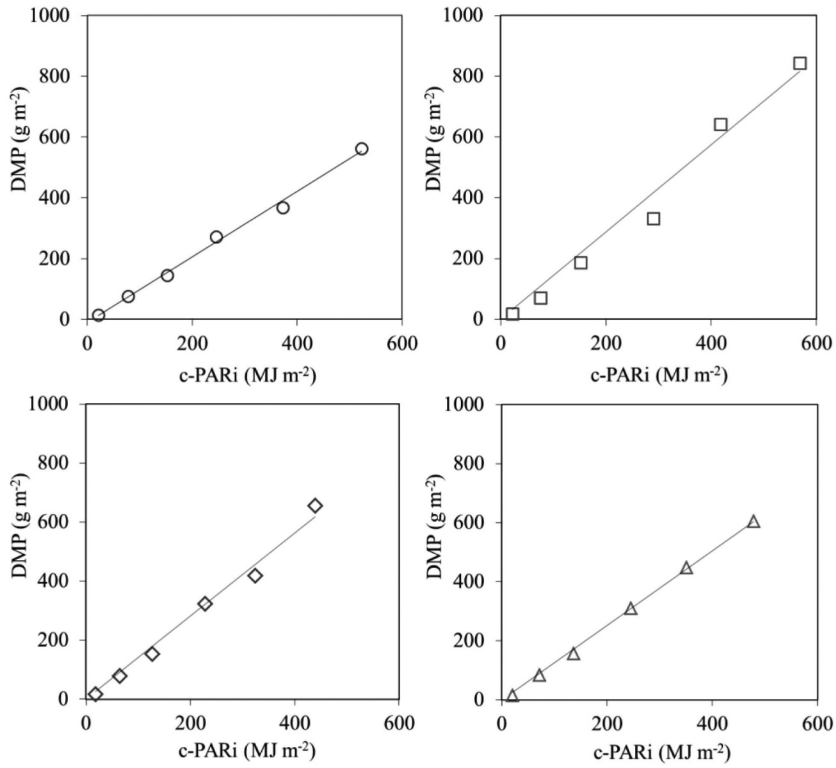


Figure 9. *Dry matter production (DMP; g m^{-2}) against cumulative intercepted PAR (c-PARi; MJ m^{-2}) for the crops inside screenhouses (IP-13: squares; IP-34: diamonds; S-36: triangles) and at the open field (Cont: circles) during calibration period (2011). The straight lines stand for the best fit regression line for the group of data DMP and c-PARi of each treatment. The slope of these lines is the Radiation Use Efficiency (g MJ^{-1}) of each respective treatment.*

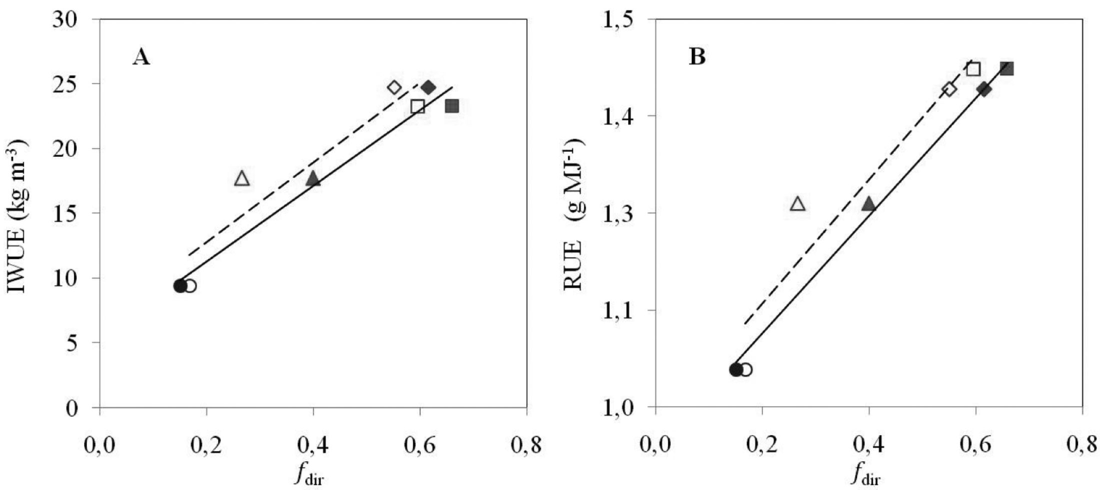


Figure 10. *A) Irrigation Water Use Efficiency (IWUE; kg m^{-3}) and B) Radiation Use Efficiency (RUE; g MJ^{-1}) against the diffuse fraction (f_{dif}) of solar radiation; global (closed symbols) and T (350-1100 nm; open symbols)*

Nikolaos Rigakis

Theoretical and Experimental Investigation of Screenhouses Microclimate

Abstract

Screenhouses are steadily spreading around Mediterranean regions and especially in Israel, southern regions of Spain, Italy and Greece. Using screens to protect horticultural crops affects the microclimate, promoting crop productivity and fruit quality of the covered crops.In this study, the influence of three different covering screens with different shading intensity and porosity on the screenhouse crop microclimate and pepper crop performance was experimentally and theoretically investigated. The experiments were carried out from May until the end of October on two consecutive years, 2011 and 2012, in the experimental farm of the University of Thessaly in Velestino, Central Greece. Seedlings of sweet pepper plants were transplanted on May inside three screenhouses and outside. The three screenhouses (floor area 200 m^2) were covered by the following nets: (a) an anti-thrip insect proof, 50-mesh, clear net with shading intensity of about 13% (IP-13) (b) an anti-thrip insect proof, 50-mesh, white net with shading intensity of about 34% (IP-34) and (c) a green shading net with shading intensity of about 36% (S-36). The shading intensities were determined in the laboratory by means of a spectroradiometer and an integral sphere. Screens (a) and (b) had same porosity but different shading intensity, while screens (b) and (c) had similar shading intensity but different porosity (0.46 and 0.63 for IP-34 and S-36, respectively).

The following microclimatic parameters were recorded regularly inside the three screenhouses and at the open field: solar radiation, air temperature and relative humidity, crop temperature, crop transpiration rate, wind speed and direction. The reduction of solar radiation above the crop was proportional to the shading intensity of the screen, as determined in the laboratory. However, an increase of *in situ* shading factor was observed as opposed to that determined in the laboratory and attributed to the diffuse component of the solar radiation (unlike the laboratory beam radiation) to the sun's inclination towards the covering screens depending on sun's azimuth and elevation (unlike the perpendicular light source of laboratory tests), to the frames of the supporting construction which reduce the overall transmittance of the construction and to the dust accumulated on screens surface. The covering screens increased the diffuse fraction of solar radiation of the enclosures with respect to their porosity and colour (brightness). The diffused radiation was greater inside IP-13 while the shade net scattered the incoming solar radiation in a lower rate (about half) as compared to the insect proof screens (IPs). Analysis of the spectral distribution of the light (direct, diffuse and total) of each treatment was conducted. The internal air temperature and vapour pressure deficit were similar to the ambient. The crop temperature under screenhouse conditions was lower than that of the open field crop.The canopy-to-air temperature difference was higher in the open field than under screenhouse conditions, with the lowest values observed under the screenhouse IP-34. In addition, the canopy-to-air vapour pressure deficit was significantly lower in the crop grown under shading than in the open field. The crop transpiration rate observed under the IP-13 and the heavy shade screenhouses (IP-34 and S-36) was lower by about 25% and 45%, respectively, than at the open field. Furthermore, the presence of the screen material decreased not only the radiative but also the advective part of crop transpiration, something that is attributed to the reduction of air velocity inside the screenhouse. The crop stomatal conductance under screenhouse conditions was similar or higher than the values observed for the open field crop.

Another objective of this work was to study and model the ventilation rate in screenhouses. The IPs screens reduced at the same rate the inside screenhouse air velocity, since they had the same geometrical characteristics. The internal air velocity in the IPs and the shading screenhouses was about 20% and 44%, respectively, of that measured outside. The air exchange rate and its rate of increase with respect to the external wind speed, both increased with the increase of screen porosity. Also, the size of the constructions influenced their ventilation performance, as revealed by comparing their ventilation rate to the respective of large commercial screenhouses. The obtained ventilation rate data were used to calibrate a model that can be used for the prediction of ventilation rate in screenhouses, taking into account the geometrical characteristics of the screens used and of the screenhouse and the outside wind speed. The values of the dual coefficient $C_d\sqrt{C_w}$ of the screenhouses and of the wind related coefficient C_w, were also estimated and compared to the respective coefficients of large scale screenhouses that were also here estimated.

Additionally, in this study, the effect of the three different shading and IPs screens on pepper crop performance was investigated; measurements of crop growth, development, yield and its quality were performed along with irrigation water monitoring. Screenhouses IP-13 and S-36 produced, on average on both periods, 66% and 17%, respectively, more fresh fruit weight than the open field crop, rising a susceptibility about the effectiveness of green nets. The moderate shade (≈20-25%; IP-13) increased the production by 21% (mean for both periods) as compared to the heavy shade of the IP-34 screenhouse, while the crops inside IP-34 screenhouse produced more by about 17% as compared to the S-36 screenhouse. The highest fruit number and total fruit yield were observed under the 13% shading insect proof screen (about 6.3 kg m^{-2}; mean of both periods). Marketable fruit yield for all screenhouses was more than 90% of the total yield, while for the open field crop the marketable fruit production was about 60% of the total. Fruits harvested from screenhouse crops were larger (dimensions) and heavier than the open field fruits. Pepper fruit sunscald was nearly eliminated, while BER and defects from pests were significantly reduced mainly under the IPs screens.Screenhouse crops consumed from about 20-40% less water than the open field crop; the Irrigation Water Use Efficiency (IWUE) was increased by 132% and 93%, respectively, inside IPs and S-36 screenhouses of their covered crops, as compared to that of the open field crops. Crop growth (total dry matter) was enhanced inside the IPs screenhouses, unlike the S-36 screenhouse. The crop growth was simulated by means of a model that predicts the dry matter production using as input only the cumulative intercepted PAR by the crops and the radiation use efficiency (RUE) was estimated for the crop of each treatment. The IWUE and the RUE were tightly correlated to the optical characteristics of the screens i.e., to the quantity and quality of the direct and diffuse solar radiation of the enclosures.

Key words: Screen, Shading, Insect proof, Porosity, Diffuse radiation, Canopy temperature, Canopy conductance, Transpiration, Ventilation, Discharge coefficient, Wind effect coefficient, pepper yield, yield quality, Water use efficiency, Radiation use efficiency

Three - Member Supervisory Committee

Constantinos Kittas, Professor, Agricultural Constructions, Department of Agriculture Crop Production and Rural Environment, University of Thessaly, Greece *(supervisor)*

Thierry Boulard, Researcher, Bioclimatology, French National Institute for Agricultural Research

Nikolaos Katsoulas, Assistant Professor, Agricultural Constructions, Department of Agriculture Crop Production and Rural Environment, University of Thessaly, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the program "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά / Articles in journals

1. **N. Rigakis**, N. Katsoulas, M. Teitel, T. Bartzanas, C. Kittas (2015). A simple model for ventilation rate determination in screenhouses, *Energy and Buildings*, 87, 293-301 http://dx.doi.org/10.1016/j.enbuild.2014.11.057

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων - βιβλία περιλήψεων Publications in conference proceedings - books of abstracts

1. **Ν. Ρηγάκης**, Ν. Κατσούλας, Θ. Μπαρτζάνας, Κ. Κίττας (2015, Οκτώβριος). Προσομοίωση παραγωγής καλλιέργειας πιπεριάς σε διχτυοκήπιο. *9ο Εθνικό Συνέδριο Γεωργικής Μηχανικής (ΕΓΜΕ)*: «*Καινοτομία και Νέες Τεχνολογίες στη Γ. Μηχανική και τη Διαχείριση Φυσικών Πόρων*», Θεσσαλονίκη, Ελλάδα. (αποδοχή της υποβληθείσας εργασίας, υπό έκδοση)

   N. Rigakis, N. Katsoulas, T. Bartzanas, C. Kittas (2015, October). Modelling screenhouse sweet pepper crop production. *9th National Conference of Agricultural Engineering (HelAgEng)*: "*Innovation and New Technologies in Agricultural Engineering and Natural Resources Management*", Thessaloniki, Greece. (paper accepted, to be published)

2. **Rigakis, N.**, Katsoulas, N., Belitsiotis, P., Kittas, C., & Bartzanas, T. (2014). Pepper crop production under shading and insect proof screenhouses. In J. E. Son, I.B. Lee, M. M. Oh (Eds), *International Symposium on New Technologies for Environment Control, Energy-*

Saving and Crop Production in Greenhouse and Plant Factory - GreenSys 2013, Acta Hort. (ISHS):1037:599-604. Jeju, China: International Society for Horticultural Science (ISHS) http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.2014.1037.76

3. Katsoulas, **N., Rigakis**, N., Kitta, E., & Baille, A. (2014). Transpiration and canopy conductance of a pepper crop under screens with different porosity and shading intensity. In J.E. Son, I.B. Lee, M.M. Oh (Eds), *International Symposium on New Technologies for Environment Control, Energy-Saving and Crop Production in Greenhouse and Plant Factory - Greensys* 2013 Acta Hort. (ISHS) 1037:547-553. Jeju, China: International Society for Horticultural Science (ISHS). http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.2014.1037.68

4. Κ. Κίττας, Ν. Κατσούλας, Χ. Νικολάου, & **Ν. Ρηγάκης** (2013). Διερεύνηση της παραγωγικότητας και αποτελεσματικότητας χρήσης νερού καλλιέργειας πιπεριάς σε διχτυοκήπιο. *26ο Πανελλήνιο Συνέδριο της ΕΕΕΟ: «Η Παραγωγή των Οπωροκηπευτικών ως Μοχλός Εξόδου της Χώρας από την Οικονομική Κρίση»*, Καλαμάτα, Ελλάδα: Ελληνική Εταιρεία της Επιστήμης των Οπωροκηπευτικών (ΕΕΕΟ).(υπό έκδοση)

   C. Kittas, N. Katsoulas, C. Nikolaou, & **N. Rigakis**, (2013). Productivity and water use efficiency of screenhouse sweet pepper crop. *26th National Conference of Greek Society of Horticultural Science: Horticultural production as a lever for exiting of Greece from the Economic Crisis*. Kalamata, Greece: Greek Society of Horticultural Science (GSHS).(to be published)

5. **Ν. Ρηγάκης**, Ν. Κατσούλας, Π. Μπελιτσιώτης, Θ. Μπαρτζάνας, Κ. Κίττας, (2013). Επίδραση διχτυοκηπίων στο μικροκλίμα και στην παραγωγικότητα καλλιέργειας γλυκιάς πιπεριάς. Στο Δ. Κατέρης, Ν. Κατσούλας (Επιμ.), *8ο Εθνικό Συνέδριο Γεωργικής Μηχανικής (ΕΓΜΕ): «Η Γεωργική Μηχανική μοχλός ανάπτυξης του αγροτικού τομέα»* (σελ. 435-439). Βόλος, Ελλάδα: Εταιρεία Γεωργικών Μηχανικών Ελλάδος (Ε.Γ.Μ.Ε.)

   N. Rigakis, N. Katsoulas, P. Belitsiotis, T. Bartzanas, C. Kittas (2013).Screenhouse effect on microclimate and productivity of a sweet pepper crop. In D. Kateris, N. Katsoulas (Eds), *8th National Conference of Agricultural Engineering (HelAgEng): Agricultural Engineering as a lever for the growth of agricultural industry* (pp. 435-439). Volos, Greece: Hellenic Society of Agricultural Engineers.

6. Katsoulas, N., **Rigakis, N.**, Kitta, E. and Baille, A. (2012). Transpiration of a sweet pepper crop under screenhouse conditions. In W. Luo, N. Bertin, E. Heuvelink (Επιμ.), *IV International Symposium on Models for Plant Growth, Environmental Control and Farm Management in Protected Cultivation – HortiModel* 2012, ActaHort. (ISHS) 957:91-97.Nanjing, China: International Society for Horticultural Science (ISHS). http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.957.9

7. **Rigakis, N.**, Katsoulas, N., Kittas, C., Kitta, E., & Bartzanas, T. (2012). Microclimate of a pepper crop under screenhouse conditions. In S. Hemming, E. Heuvelink (Eds), *VII International Symposium on Light in Horticultural Systems – LightSym* 2012, Acta Hort. (ISHS) 956:523-529. Wageningen, The Netherlands: International Society for Horticultural Science (ISHS). http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.956.62

Σύντομο Βιογραφικό

Ο **Νικόλαος Ρηγάκης** αποφοίτησε από το Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών (ΓΠΑ, Τμήμα Φυτικής Παραγωγής) το 2002 (Μάρτιος). Το 2005 (Μάρτιος), του απονεμήθηκε το Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης (ΜΔΕ) στην Κατεύθυνση «Γεωργική Μηχανική-Διαχείριση Φυσικών Πόρων» του Διατμηματικού Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών (ΔΠΜΣ) της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών (ΣΓΕ) του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Το Μάιο του 2005, δραστηριοποιήθηκε επαγγελματικά στην Αθήνα, στην παροχή υπηρεσιών αστικού πρασίνου, παρακολουθώντας παράλληλα τα μαθήματα του ΜΔΕ, στον Τομέα «Αρχιτεκτονικής Τοπίου» του ΠΜΣ του Τμήματος Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής του ΓΠΑ, λαμβάνοντας το αντίστοιχο Πτυχίο το 2007 (Οκτώβριος).

Βραβεύτηκε με υποτροφία ως πρωτεύσας υποψήφιος στις εισαγωγικές εξετάσεις του ΜΔΕ του ΓΠΑ και για την επίδοσή του στα μαθήματα του Β' εξαμήνου του ΜΔΕ του ΠΘ, ενώ ως πρωτεύσας στο τελευταίο, τιμητικά ανέγνωσε την καθομολόγηση κατά την τελετή ορκωμοσίας των μεταπτυχιακών αποφοίτων.

Το 2009 (Μάρτιος), έγινε δεκτός ως Υποψήφιος Διδάκτορας στο ΔΠΜΣ της ΣΓΕ του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για την εκπόνηση διδακτορικής έρευνας με τίτλο διατριβής «Θεωρητική και Πειραματική Διερεύνηση του Μικροκλίματος των Διχτυοκηπίων», της οποίας η υποστήριξη ενώπιον της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής πραγματοποιήθηκε τον Ιούλιο του 2015. Η έρευνα χρηματοδοτήθηκε από το Πρόγραμμα Διδακτορικών Υποτροφιών "Ηράκλειτος ΙΙ".

Τα ερευνητικά του ενδιαφέροντα εστιάζονται κυρίως στα υλικά κάλυψης και στη διαχείριση των γεωργικών κατασκευών (θερμοκήπια/διχτυοκήπια) καθώς και στη διαχείριση της άρδευσης των υπό κάλυψη καλλιεργειών. Είναι συγγραφέας 4 μονογραφιών/διατριβών και μετέχει ως 1ος συγγραφέας ή συν-συγγραφέας σε 4 εργασίες δημοσιευμένες σε έγκυρα διεθνή περιοδικά με κριτές, 5 δημοσιευμένες εργασίες σε πρακτικά διεθνών συνεδρίων με κριτές και σε 4 εργασίες δημοσιευμένες σε πρακτικά εθνικών συνεδρίων με κριτές.

Short CV

Nikolaos R. Rigakis graduated (Bsc and Msc 5 Full Time Years Studies) from the Agricultural University of Athens (AUA; Faculty of Crop Science) on 2002 (March). On 2005 (March), he received the Msc Degree in Agricultural Engineering from the School of Agricultural Sciences of the University of Thessaly (UTH). On 2005 (May),he became professional, as freelance, in urban landscaping projects, while simultaneously he attended postgraduate courses in Landscaping Architecture at the Faculty of Crop Science of the Agricultural University of Athens, receiving the respective Msc Degree on 2007 (October).

He was honored by scholarship as the 1st in rank of success candidate at the entry qualification exams (Msc-AUA) and as the top of his class on 2nd semester(Msc-UTH). He was also honored for graduating top of his class by reading the oath at the graduation ceremony (Msc-UTH).

On 2009 (March), he was accepted as PhD student by the School of Agricultural Sciences of the University of Thessaly, upon PhD research with titled dissertation "Theoretical and Experimental Investigation of Screenhouses Microclimate", that was publically supported before the examination committee, on July 2015. His research was financed by the PhD scholarship programme "Heraclitus II».

His research interests are related to the covering materials and the management of agricultural constructions (greenhouses/screenhouses) along with the irrigation management of the protected crops. He authored 4 dissertations and participated as 1st author or co-author in 4, 5 and 4 papers in peer-review journals and for international and national conferences with judges, respectively.

Αλεξάνδρα Σολωμού

Επίδραση της διαχείρισης στην εξέλιξη των οικοσυστημάτων των ελαιώνων

Περίληψη

Η διατριβή αυτή πραγματοποιήθηκε σε ελαιώνες του Νομού Μαγνησίας (Χάρτης 1), στη διαχείριση των οποίων παρατηρούνται δυο τάσεις: α) εγκατάλειψη και β) μικρού βαθμού στροφή, αλλά με αυξητική τάση, προς τη βιολογική ελαιοκαλλιέργεια. Αντικείμενο της έρευνας αποτέλεσε η διερεύνηση των μηχανισμών(π.χ. γεωργικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες κ.ά.) και η κατεύθυνση προς την οποία οι πρακτικές διαχείρισης (συμβατική, βιολογική, εγκατάλειψη) οδηγούν την εξέλιξη (μεταβολή) των οικοσυστημάτων των ελαιώνων, καθώς και οι επιπτώσεις αυτών των πρακτικών στη βιοποικιλότητα.

Οι ειδικότεροι στόχοι της έρευνας αφορούσαν τη συγκριτική μελέτη αντιπροσωπευτικών 1) συμβατικών (Εικόνα 1), 2) βιολογικών (Εικόνα 2), 3) εγκαταλειμμένων ελαιώνων (Εικόνα 3) και 4) γειτονικών φυσικών οικοσυστημάτων (μακί) (Εικόνα 4), όσον αφορά επιλεγμένα συνθετικά της βιοποικιλότητας, ήτοι α) φυτική ποικιλότητα, β) δομή, πυκνότητα και ποικιλότητα των κοινοτήτων πουλιών, των γαιοσκωλήκων, των επίγειων κολεοπτέρων, των ισοπόδων, καθώς και παραμέτρων του εδάφους, όπως α) φυσικοχημικά χαρακτηριστικά και β) εδαφική διάβρωση. Επίσης, στόχο αποτέλεσε η ανάδειξη αγροτικών και περιβαλλοντικών δεικτών του πλούτου της χλωρίδας, της πανίδας και των αποδόσεων των ελαιώνων κάτω από διαφορετικό σύστημα διαχείρισης. Επιπλέον, η έρευνα στόχευε στο να αναδείξει «είδη-δείκτες» που ευνοούνται από συγκεκριμένα συστήματα διαχείρισης των ελαιώνων, ώστε να χρησιμοποιηθούν ως εργαλεία παρακολούθησης των οικοσυστημάτων των ελαιώνων στη μελλοντική τους διαχείριση.

Η ανάλυση των δεδομένων που συγκεντρώθηκαν έδειξε ότι σε μια παραγωγική αλλά και σε μια μη παραγωγική χρονιά, οι συμβατικοί ελαιώνες απέφεραν ελαφρώς μη σημαντικά υψηλότερες κατά μέσο όρο αποδόσεις σε σχέση με τους βιολογικούς ελαιώνες, τόσο στην παραγωγή ελαιολάδου όσο και στην παραγωγή βρώσιμης ελιάς (Σχήμα 1). Αναφορικά με τη συνολική οικονομική πρόσοδο, αυτή ήταν υψηλότερη στους βιολογικούς ελαιώνες σε σχέση με τους συμβατικούς ελαιώνες της περιοχής έρευνας (Σχήμα 2).

Η επίδραση του συστήματος διαχείρισης των ελαιώνων αποδείχθηκε σημαντική σε συγκεκριμένα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του εδάφους (Ικανότητα Ανταλλαγής Κατιόντων, φώσφορος, οργανική ουσία, νιτρικά άλατα, αμμωνιακά άλατα, ολικό άζωτο, αναλογία άνθρακα προς άζωτο και φαινομενική πυκνότητα εδάφους). Η Ικανότητα Ανταλλαγής Κατιόντων, η συγκέντρωση φωσφόρου, το ποσοστό οργανικής ουσίας και η αναλογία C/N του εδάφους βρέθηκε να υπερέχουν στα μακί και στους βιολογικούς ελαιώνες, ενώ οι συγκεντρώσεις του ολικού N, των NO_3^-, των NH_4^+ και της φαινομενικής πυκνότητας του εδάφους διαπιστώθηκε να υπερέχουν στους συμβατικούς ελαιώνες.

Το είδος της διάβρωσης που παρατηρήθηκε ήταν η επιφανειακή κατά στρώσεις διάβρωση (interrill erosion) στους συμβατικούς ελαιώνες και κατά τόπους στους βιολογικούς και στους εγκαταλειμμένους ελαιώνες (Εικόνα 5). Στους συμβατικούς ελαιώνες καταγράφηκε διπλάσια ποσότητα αποσπώμενων (διαβρούμενων) υλικών από ότι στους βιολογικούς και εγκαταλειμμένους ελαιώνες και τριπλάσια σε σχέση με τα μακί. Αντίθετα, στους βιολογικούς ελαιώνες παρατηρήθηκε ίση ποσότητα διαβρούμενων υλικών με τους εγκαταλειμμένους ελαιώνες και τα μακί.

Η έρευνα ανέδειξε τη σημαντικότητα της εφαρμογής του βιολογικού συστήματος διαχείρισης στους ελαιώνες αναφορικά με την ενίσχυση της βιοποικιλότητας. Συγκεκριμένα, στους βιολογικούς ελαιώνες, διαπιστώθηκε μια τάση για αύξηση της ποικιλότητας και της πυκνότητας των εξής συνιστωσών της βιοποικιλότητας: ποώδη φυτά κατά τη χειμερινή και εαρινή περίοδο, ξυλώδη φυτά, διαχειμάζοντα και αναπαραγόμενα είδη πουλιών, ασπόνδυλα (γαιοσκώληκες, έντομα των οικογενειών Carabidae και Tenebrionidae, ισόποδα). Λόγω της τάσης αυτής, οι βιολογικοί ελαιώνες προσομοιάζουν ως ένα βαθμό, με τα γειτονικά φυσικά οικοσυστήματα (μακί).

Διαπιστώθηκε ότι η εντατικοποίηση της ελαιοκαλλιέργειας υποβαθμίζει το έδαφος με την εφαρμογή φυτοφαρμάκων και ανόργανων χημικών λιπασμάτων και μειώνει τη βιοποικιλότητα. Η σύνθεση, η δομή και η φυσιογνωμία των, τουλάχιστον για 12 έτη εγκαταλειμμένων ελαιώνων, προσομοιάζουν με αυτές των γειτονικών φυσικών οικοσυστημάτων (μακί), αν και υπάρχουν κάποιες βασικές διαφορές ως προς τη φυτική και πανιδική πυκνότητα και ποικιλότητα.

Επιπλέον, για τα μελετηθέντα συστήματα διαχείρισης ελαιώνων και τα μακί αναδείχθηκαν είδη-δείκτες των χειμερινών και εαρινών ποωδών και ξυλωδών φυτών, των γαιοσκωλήκων, των Carabidae, των Tenebrionidae, των ισοπόδων, των διαχειμαζόντων και αναπαραγόμενων ειδών πουλιών, οι οποίοι μπορούν να αποτελέσουν τη βάση για εξαγωγή χρήσιμων συμπερασμάτων και για τη λήψη αποφάσεων που θα συμβάλλουν στην αειφορική διαχείριση της ελαιοκαλλιέργειας.

Όσον αφορά στις αποδόσεις των βιολογικών ελαιώνων αυτές βρέθηκαν να αυξάνονται καθώς αυξάνεται η εφαρμογή κοπριάς και η πυκνότητα των γαιοσκωλήκων, ενώ οι αποδόσεις των συμβατικών ελαιώνων αυξάνονται με την αύξηση της οργανικής ουσίας του εδάφους και την εφαρμογή της ανόργανης λίπανσης N. Οι σχέσεις μεταξύ της πυκνότητας των παραμέτρων [ποώδη φυτά κατά τη χειμερινή και εαρινή περίοδο, ξυλώδη φυτά, διαχειμάζοντα και αναπαραγόμενα είδη πουλιών, ασπόνδυλα (γαιοσκώληκες, έντομα των οικογενειών Carabidae και Tenebrionidae, ισόποδα)] και των γεωργικών και περιβαλλοντικών παραγόντων στα συστήματα διαχείρισης των ελαιώνων και στα μακί είναι σημαντική όσον αφορά την κατανόηση των λειτουργιών αυτών των οικοσυστημάτων και τον ευρύτερο σχεδιασμό διαχειριστικών πρακτικών προστασίας της βιοποικιλότητας σε διαχειριζόμενα οικοσυστήματα.

Λέξεις-κλειδιά: ελιά, βιολογική γεωργία, συμβατική γεωργία, εγκατάλειψη, φυσικό οικοσύστημα, φυσικοχημικές παράμετροι εδάφους, διάβρωση εδάφους, ποικιλότητα, είδη δείκτες, γεωργικοί και περιβαλλοντικοί δείκτες

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Αθανάσιος Σφουγγάρης, Αναπληρωτής Καθηγητής Διαχείρισης Οικοτόπων και Βιοποικιλότητας, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας *(επιβλέπων)*

Κυριακή Καλμπουρτζή, Καθηγήτρια Γεωργικής Οικολογίας, Γεωπονική Σχολή του Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης

Γεώργιος Νάνος, Αναπληρωτής Καθηγητής Δενδροκομίας, Σχολή Γεωπονικών Επιστημών, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Alexandra Solomou

Influence of management on the evolution of olive grove ecosystems

Abstract

This study was conducted in olive groves of Magnesia Prefecture in which two trends have been observed regarding their management: a) abandonment and b) a low rate turn, but with an increasing tendency, towards organic olive-farming. The main objective of the study was to investigate the mechanisms (e.g. agricultural and environmental factors etc.) and the direction to which the evolution (change) of the ecosystems of olive groves is led by the management practices (conventional, organic, abandonment), as well as the consequences these practices may have on the biodiversity.

Specifically, the objectives of the research focused on the comparative study of the representative: 1) conventional, 2) organic, 3) abandoned olive groves and 4) the neighbouring natural ecosystems (maquis) as regards the chosen components of the biodiversity, which are a) plant diversity b) structure, density and diversity of bird communities, earthworms and earthly coleoptera and isopoda, as well as the following soil parameters: a) physiochemical characteristics and b) soil erosion. Moreover, another aim of the study was the establishment of rural and environmental indices for flora and fauna richness and for the yield of the olive groves under different management systems. Furthermore, the study aimed at establishing “species-indices” favoured by specific management systems of the olive groves so that they could be used as tools for watching ecosystems of olive groves during their future management.

Data analysis revealed that the conventional olive groves, in both productive and non productive years, produced not significantly higher average generate in relation to the organic olive groves, not only regarding the production of olive oil but also the production of edible olives. As regards the total financial income, it was higher in the organic olive groves in relation to the conventional ones, in the study area.

The effect of the management system in olive groves was proved to be significant for specific physiochemical characteristics of the soil (cation exchange capacity, phosphorous, organic matter, nitrates and ammonium salts, total nitrogen, carbon to nitrogen ratio and soil bulk density). The cation exchange capacity, the concentration of phosphorous, the organic matter ratio and C/N ratio of the soil was found to be higher in maquis and in organic olive groves, while the concentrations of total N, NO_3^-, NH_4^+ and the soil bulk density were found to be higher in conventional ones.

The type of erosion observed was superficial interrill erosion in the conventional olive groves and local in the organic and abandoned olive groves. Twofold quantity of erodible materials was recorded in conventional olive groves in comparison to the organic and abandoned ones and threefold

in comparison to the maquis. On the contrary, the quantity of erodible materials observed in the organic olive groves, was similar to that in the abandoned ones and the maquis.

The study highlighted the significance of the application of the organic management system in olive groves as regards the enhancement of the biodiversity. Specifically, a tendency for an increase in the diversity and density of the following components of biodiversity was observed in the organic olive groves: herbaceous plants during winter and spring period, woody plants, winter and breeding bird species, invertebrates (earthworms, insects in the families Carabidae and Tenebrionidae, isopoda). To some extent, due to this tendency, the organic olive groves simulate the neighboring natural ecosystems (maquis).

It was found out that the intensification of olive trees cultivation with the application of pesticides and inorganic chemical fertilizers degrades the soil and decreases the biodiversity. The composition, layout and physiognomy of the abandoned, for at least 12 years, olive groves simulate these of the adjacent natural ecosystems (maquis), though there are some basic differences regarding the plant and fauna density and diversity. Moreover, for the management systems under study and the maquis, species-indices for the winter and spring herbaceous and woody plants, worms, Carabidae, Tenebrionidae and isopoda, as well as for the hibernant and reproduced bird species were established, which can constitute the base for drawing useful conclusions and making decisions which will contribute to sustainable management of olive tree cultivation.

As regards the produce of the organic olive groves, it was found out that it increases when the manure application and the earthworm density increase, while the produce of the conventional olive groves increases when the organic matter of the soil and the application of inorganic fertilization with N increase. The relations between the richness and the density of the parameters [herbaceous plants during winter and spring period, woody plants, winter and breeding bird species, invertebrates (earthworms, insects in the families Carabidae and Tenebrionidae, isopoda)] with the rural and environmental factors, respectively, in the management systems of olive groves as well as the maquis, are significant regarding the understanding of the functions of these ecosystems and the wider planning of management practices for the protection of the biodiversity in the managed ecosystems.

Key words: Olea europaea, organic farming, conventional farming, abandonment, natural ecosystem, physicochemical parameters, soil erosion, diversity, indicator species, agricultural and environmental species

Three - Member Supervisory Committee

Athanasios Sfougaris, Associate Professor, School of Agricultural Sciences, Department of Agriculture Crop Production and Rural Environment, University of Thessaly, Greece *(supervisor)*

Kyriaki Kalburtji, Professor, School of Agriculture, Faculty of Agriculture Forestry and Natural Environment, Aristotle University of Thessaloniki, Greece

George Nanos, Associate Professor, School of Agricultural Sciences, Department of Agriculture Crop Production and Rural Environment, University of Thessaly, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within "Heraclitus II" programme

Άρθρα σε περιοδικά / Articles in journals

1. **Solomou, A.**, & Sfougaris, A.I. (2015). Determinants of woody plant species richness in abandoned olive grove ecosystems and maquis of Central Greece. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 46(sup 1), 317–325.
2. **Solomou, A.**, & Sfougaris, A.I. (2014). Bird community characteristics as indicators of sustainable management in olive grove ecosystems of Central Greece. *Journal of Natural History*, *49*(5-8), 301-325.
3. **Σολωμού, Α. Δ.**, Σφουγγάρης, Α.Ι., Καλμπουρτζή, Κ.Λ., & Νάνος, Γ. (2014). Βιοποικιλότητα σε ελαιώνες της Μαγνησίας με διαφορετικά συστήματα παραγωγής. *Γεωργία και Κτηνοτροφία*, 7, 70-75.

   Solomou, A.D., Sfougaris, A.I., Kalburtzi, K.L., & Nanos, G. (2014). Biodiversity in olive groves of Magnesia with different production systems. *Agriculture & Livestock,* 7, 70-75.
4. Sfougaris, A.I., Plexida, S.G., & **Solomou, A.D.** (2013). Assessing the effects of some environmental factors on the presence and density of three shrike species in a continental

and a coastal landscape of central Greece. *North Western Journal of Zoology*, *10(*1), 101-109.

5. **Solomou, A.D.**, Sfougaris, A.I., Kalburtji, K.L., & Nanos, G.D. (2013). Effects of organic farming on winter plant composition, cover and diversity in olive grove ecosystems in Central Greece. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *44*(1-4), 312-319.
6. **Solomou, A.D.**, & Sfougaris, A.I. (2013). Herbaceous plant diversity and identification of indicator species in olive groves in Central Greece. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *44*(1-4), 320-330.
7. **Solomou, A.D.**, Sfougaris, A.I., Vavoulidou, E.M., & Csuzdi Cs. (2013). Species richness and density of earthworms in relation to the soil factors in olive orchard production systems in Greece. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *44*(1-4), 301-311.
8. **Solomou, A.D.**, Sfougaris, A.I., Vavoulidou, E.M., & Csuzdi Cs. (2012).The effects of farming practices on earthworm's dynamics in olive groves of central Greece. *Zoology in the Middle East Supplementum*, 58(sup 4), 119-126.

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων-βιβλία περιλήψεων Publications in conference proceedings-books of abstracts

1. **Solomou, A.D.**, & Sfougaris, A.I. (2013). Management practices affect ecosystem and biodiversity components in olive grove ecosystems. In K. Metzlaff (Ed.), *7th EPSO Conference* (Abstract book, pp. 292). Porto Heli, Greece: K. Metzlaff and G. Skaracis.
2. **Solomou, A.D.**, & Sfougaris, A.I. (2013). Determinants of woody plant species richness in abandoned olive grove ecosystems and maquis of Central Greece. In W. Webber (Ed.), *13th International symposium on Soil and Plant analysis* (Abstract book, pp.114). New Zealand: R. Hill.
3. **Solomou, A.D.**, & Sfougaris, A.I. (2013). The role of birds as indicators of sustainable management in olive orchards of central Greece. In A. Legakis, P. Pafilis and A. Parmakelis (Ed.), *12th International symposium Congress on the Zoogeography, Ecology and Evolution of Southeastern Europe and the Eastern Mediterranean* (Abstract book, pp.170). Athens, Greece: Hellenic Zoological Society.
4. **Σολωμού, Α. Δ.**, & Σφουγγάρης, Α. Ι. (2012). Εφαρμογή της Ανάλυσης Κύριων Συνιστωσών (PCA) στην ποικιλότητα της ξυλώδους βλάστησης των εγκαταλειμμένων ελαιώνων και των οικοσυστημάτων αειφύλλων πλατυφύλλων. Στο Γ. Ηλιόπουλος, Ι. Κουτρουβέλης, Σ. Κουνιάς και Τ. Παπαϊωάννου (Επιμ.), *25°Πανελλήνιο Συνέδριο Στατιστικής «Στατιστική στις Βιοεπιστήμες»* (Τόμος περιλήψεων, σελ. 54). Βόλος: Ελληνικό Στατιστικό Ινστιτούτο και Τμήμα Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

   Solomou, A. D., & Sfougaris, A.I. (2012). Application of Principal Component Analysis (PCA) on the woody vegetation diversity of abandoned olive groves and evergreen broadleaved ecosystems. In G. Iliopoulos, I. Koutrouvelis, S. Kounias & T. Papaioannou (Eds), *25th National Conference of Statistics "Statistics in Biosciences"* (Abstract book, pp. 54). Volos, Greece: Greek Statistical Institute and Department of Agriculture Crop Production and Rural Environment.
5. **Solomou, A.D.**, Sfougaris, A.I., & Vavoulidou, E. (2011). Species richness and density of earthworms in relation to the soil factors in olive orchard production systems in Greece. In Q. Rund (Ed.), *12th International symposium on Soil and Plant analysis* (Abstract book, pp. 78). Crete, Greece: R. Karamanos.
6. **Solomou, A.D.**, & Sfougaris, A.I. (2011). Herbaceous plant diversity and identification of indicator species in olive groves in Central Greece. In Q. Rund (Ed.), *12th International symposium on Soil and Plant analysis* (Abstract book, pp. 79). Crete, Greece: R. Karamanos.
7. **Solomou, A.D.**, Sfougaris, A.I., Kalburtji, K., & Nanos, G. (2011). The effects of organic farming on winter plant composition, cover and diversity in olive grove ecosystems in Central Greece. In Q. Rund (Ed.), *12th International symposium on Soil and Plant analysis* (Abstract book, pp. 90). Crete, Greece: R. Karamanos.
8. **Solomou, A.D.**, Sfougaris, A.I., & Vavoulidou, E. (2011).The effects of farming practices on earthworm's dynamics in olive groves of central Greece. In Heidelberg: Kasparek (Ed.), *5th International Oligochaete Taxonomy Meeting Beatenberg* (Abstract book, pp. 47). Switzerland: University of Neuchâtel.

9. **Solomou, A.D.**, Sfougaris, A.I., & Vavoulidou, E. (2010). The effects of organic and conventional farming systems on selected soil properties of olive groves in Central Greece. In L. Cuffe (Ed.), *19th World Congress of Soil «Science Soil Solutions for a Changing World»* (Abstract book, pp. 65-68). Brisbane, Australia: Australian Society of Soil Science.

10. **Σολωμού, Α. Δ.**, & Σφουγγάρης, Α. Ι. (2010). Σύγκριση της διαχειμάζουσας ορνιθοπανίδας σε βιολογικούς και συμβατικούς ελαιώνες της Μαγνησίας. *5° Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Οικολογικής, Ζωολογικής, Βοτανικής και Φυσιολογικής Εταιρείας, «Οικολογικές διεργασίες στο χώρο και το χρόνο»* (Τόμος περιλήψεων, σελ. 197). Πάτρα: Ελληνική Οικολογική, Ζωολογική, Βοτανική και Φυσιολογική Εταιρεία.

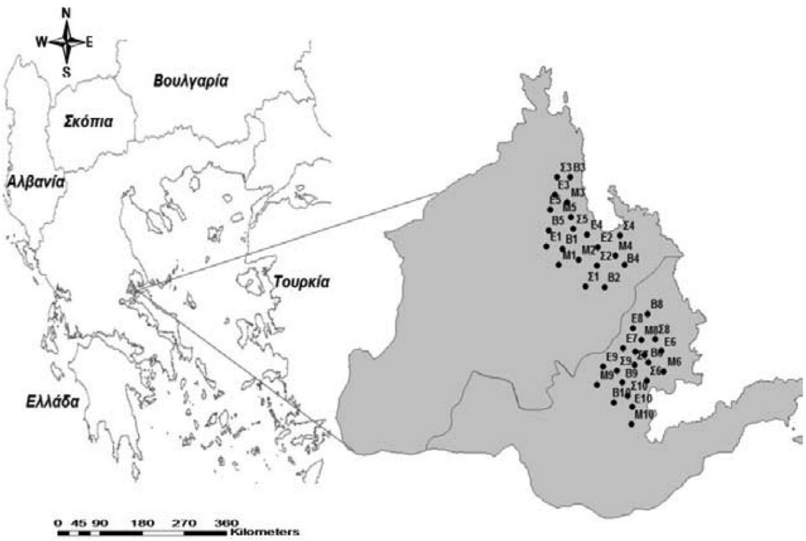
    Solomou, A.D., & Sfougaris, A.I. (2010). Comparison of wintering avifauna in organic and conventional olive groves of Magnesia. *5th National Conference Greek Ecological, Zoological, Botanical and Physiological Society, "Ecological processes in space and time"* (Abstract book, pp. 197). Patras, Greece: Ecological, Zoological, Botanical and Physiological Society.

11. **Σολωμού, Α. Δ.**, & Σφουγγάρης, Α. Ι. (2010). Συγκριτική μελέτη ξυλώδους βλάστησης εγκατελειμμένων ελαιώνων και οικοσυστημάτων αειφύλλων πλατυφύλλων. *5° Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Οικολογικής, Ζωολογικής, Βοτανικής και Φυσιολογικής Εταιρείας, «Οικολογικές διεργασίες στο χώρο και το χρόνο».* (Τόμος περιλήψεων, σελ. 198). Πάτρα: Ελληνική Οικολογική, Ζωολογική, Βοτανική και Φυσιολογική Εταιρεία.

    Solomou, A.D., & Sfougaris, A.I. (2010). Comparative study of woody vegetation of abandoned olive groves and evergreen broadleaved ecosystems. *5th National Conference of Greek Ecological, Zoological, Botanical and Physiological Society, "Ecological processes in space and time".* (Abstract book, pp. 198). Patras: Greek Ecological, Zoological, Botanical and Physiological Society.

12. **Σολωμού, Α.Δ.**, & Σφουγγάρης, Α.Ι. (2010). Σχέσεις μεταξύ του πλούτου ποωδών φυτών και επιλεγμένων παραμέτρων του οικοσυστήματος σε ελαιώνες της Μαγνησίας. *16° Επιστημονικό Συνέδριο Ζιζανιολογίας «Ζιζανιολογία και Βιοποικιλότητα»* (Τόμος περιλήψεων, σελ. 63). Καρδίτσα: Ελληνική Ζιζανιολογική Εταιρεία, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής & Αγροτικού Περιβάλλοντος Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

    Solomou, A.D., & Sfougaris, A.I. (2010). Relations between the herbaceous plants species richness and selected ecosystem parameters in olive groves of Magnesia. *16th Weed Science Conference "Weed and Biodiversity"* (Abstract book, p. 63), Karditsa, Greece: Weed Science Society of Greece, Department of Agriculture Crop Production and Rural Environment-University of Thessaly.



Χάρτης 1. *Περιοχή μελέτης*

Map 1. *Area of study*

Εικόνα 1. *Συμβατικοί ελαιώνες (Φωτ. Αλ. Σολωμού)*

Picture 1. *Conventional olive groves (Photo Al. Solomou)*

Εικόνα 2. *Βιολογικοί ελαιώνες (Φωτ. Αλ. Σολωμού)*

Picture 2. *Organic olive groves (Photo Al. Solomou)*

Εικόνα 3. *Εγκαταλειμμένοι ελαιώνες (Φωτ. Αλ. Σολωμού)*

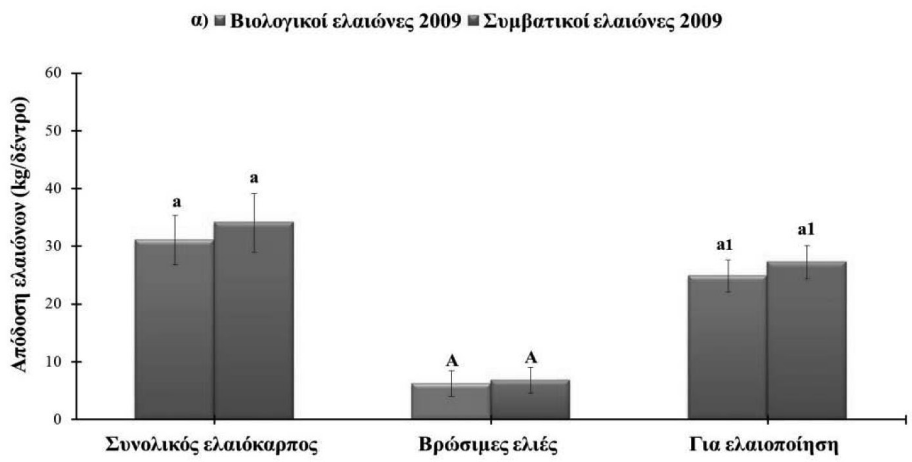
Picture 3. *Abandoned olive groves (Photo Al. Solomou)*

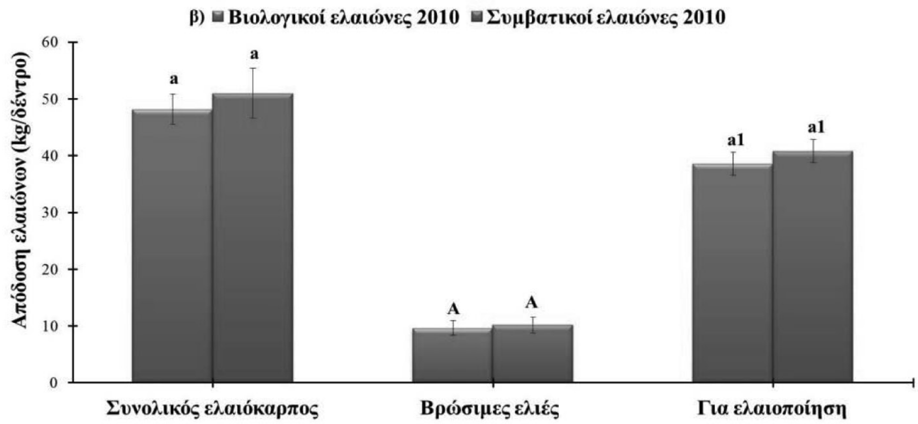
Εικόνα 4. *Μακί (Φωτ. Αλ. Σολωμού)*

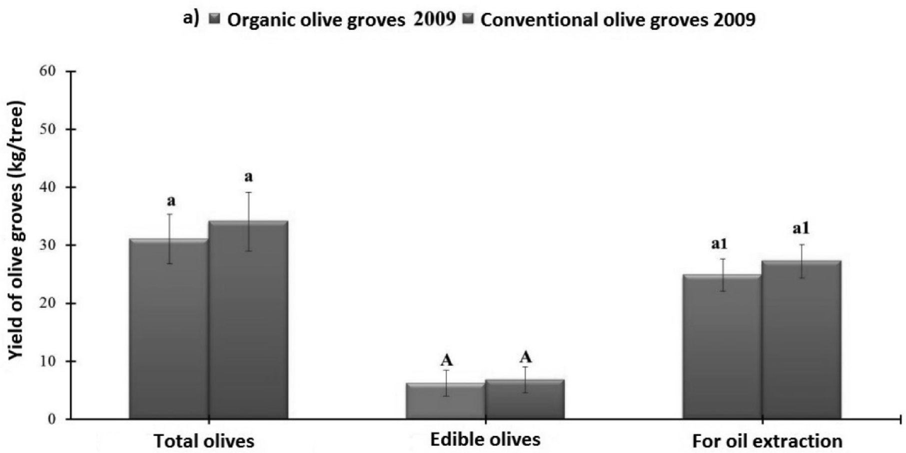
Picture 4. *Maquis (Photo Al. Solomou)*

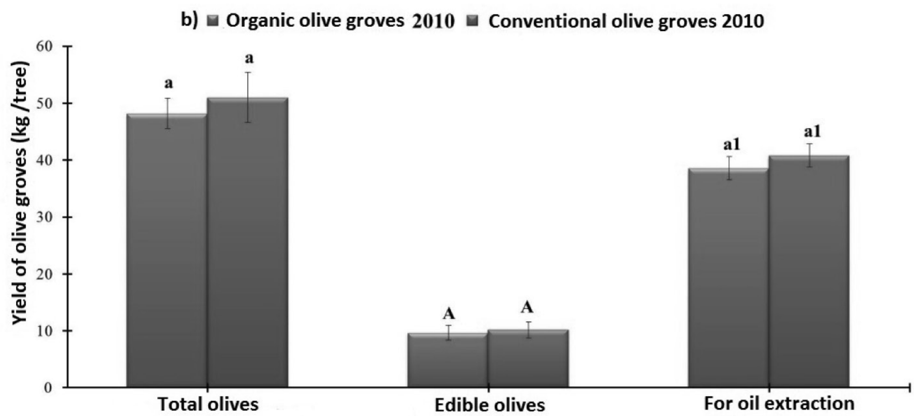
Εικόνα 5. *Επιφανειακή κατά στρώσεις διάβρωση μιας εδαφικής επιφάνειας συμβατικού ελαιώνα (Φωτ. Αλ. Σολωμού)*

Picture 5. *Superficial interril erosion of a soil surface in a conventional olive grove (Photo Al. Solomou)*


α) Βιολογικοί ελαιώνες 2009 Συμβατικοί ελαιώνες 2009
Απόδοση ελαιώνων (kg/δέντρο)
0
10
20
30
40
50
60
a
a
A
A
a1
a1
Συνολικός ελαιόκαρπος
Βρώσιμες ελιές
Για ελαιοποίηση

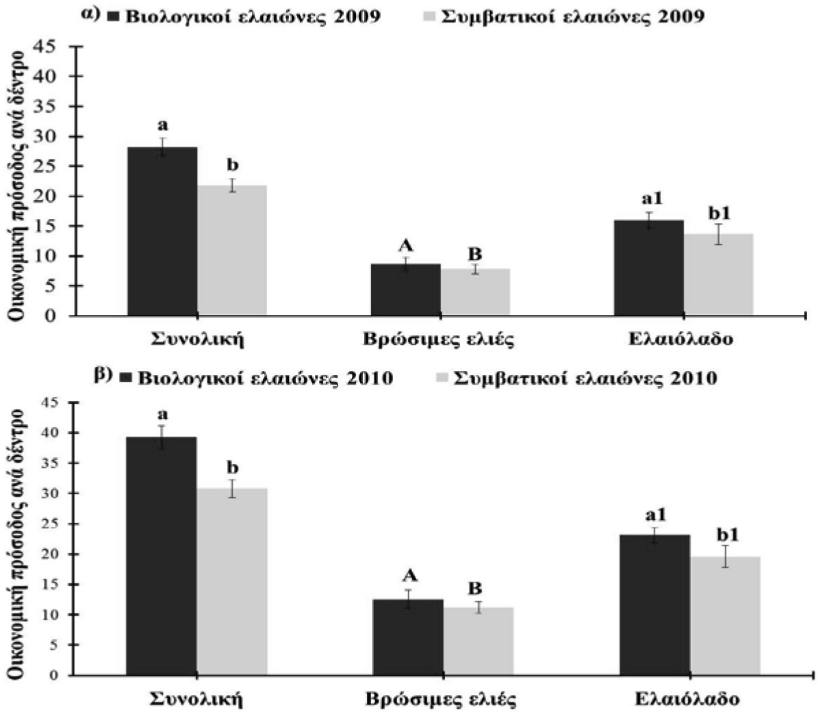

β) Βιολογικοί ελαιώνες 2010 Συμβατικοί ελαιώνες 2010
Απόδοση ελαιώνων (kg/δέντρο)
0
10
20
30
40
50
60
a
a
A
A
a1
a1
Συνολικός ελαιόκαρπος
Βρώσιμες ελιές
Για ελαιοποίηση

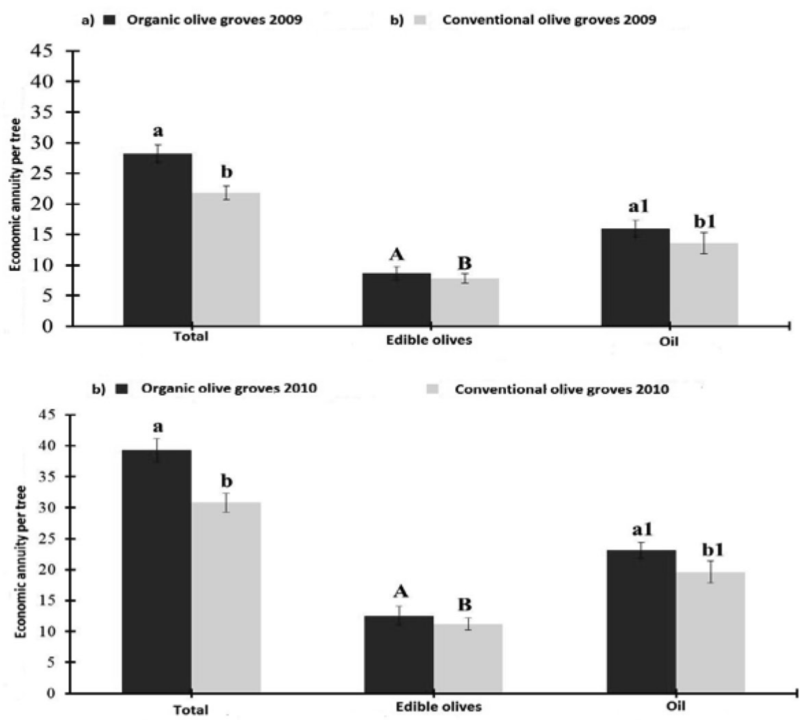

a) Organic olive groves 2009 Conventional olive groves 2009
Yield of olive groves (kg/tree)
0
10
20
30
40
50
60
a
a
A
A
a1
a1
Total olives
Edible olives
For oil extraction


b) Organic olive groves 2010 Conventional olive groves 2010
Yield of olive groves (kg /tree)
0
10
20
30
40
50
60
a
a
A
A
a1
a1
Total olives
Edible olives
For oil extraction

Σχήμα 1. *Μέσος όρος (± τυπική απόκλιση) των αποδόσεων των ελαιώνων της περιοχής έρευνας.*

Figure 1*. Average (± SD) of olive groves yield in the study area.*





Σχήμα 2. *Οικονομική πρόσοδος συμβατικών και βιολογικών ελαιώνων.*

Figure 2. *Economic annuity of the conventional and organic olive groves.*

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Αλεξάνδρα Σολωμού** είναι πτυχιούχος του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (2006). Έλαβε Μεταπτυχιακό δίπλωμα από το Διατμηματικό Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών του ίδιου Τμήματος στα «Σύγχρονα συστήματα αγροτικής παραγωγής στο μεσογειακό χώρο με έμφαση στην αειφορική παραγωγή και στη χρησιμοποίηση νέων τεχνολογιών» (2008). Το 2013, στο ίδιο Τμήμα του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και με υποτροφία «Ηράκλειτος ΙΙ», ολοκλήρωσε τη διδακτορική της διατριβή, με τίτλο «Επίδραση της διαχείρισης στην εξέλιξη των οικοσυστημάτων των ελαιώνων», λαμβάνοντας το Διδακτορικό της Δίπλωμα.

Δίδαξε τις εργαστηριακές ασκήσεις των μαθημάτων του Π.Θ.: Οικολογία (2011-12), Οικολογία και Βιοποικιλότητα (2012-13, 2013-14) και Διαχείριση χερσαίων οικοσυστημάτων (2011-12, 2012-13).

Συμμετείχε ως επιστημονική συνεργάτιδα-γεωπόνος στο ερευνητικό πρόγραμμα «Απογραφή της Βιοποικιλότητας (Φυτικής και Ζωικής Ποικιλότητας) σε δυο περιοχές μεταλλευτικής δραστηριότητας (Ανάβρα και Αγριά Μαγνησίας)» (1.6.2011 έως 30.11.2012, Τμήμα Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος Π.Θ., Επιστημονικός Υπεύθυνος: Αθανάσιος Σφουγγάρης, Αναπληρωτής Καθηγητής). Επίσης, συμμετείχε ως επιστημονική συνεργάτιδα-γεωπόνος στο ερευνητικό πρόγραμμα «Conservation and management of the lesser kestrel (Falco naumanni) at three Greek SPA sites (LIFE11 Nat/GR/1011, 1.8.2012 έως 31.8.2013 και 1.5.2014 έως 31.10.2014, Τμήμα Γεωπονίας, Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος Π.Θ., Επιστημονικός Υπεύθυνος: Αθανάσιος Σφουγγάρης, Αναπληρωτής Καθηγητής), ενώ έλαβε μέρος ως γεωπόνοςs στο έργο «Υλοποίηση σεμιναρίου με θέμα τη "Βιοποικιλότητα" στο ΚΕΚ του ΠαΘ.» (1.2.2014 έως 31.3.2014, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας Π.Θ., Επιστημονικός Υπεύθυνος.: Ζήσης Μαμούρης, Καθηγητής).

Το καλοκαίρι του 2012, πήρε μέρος στα Θερινά Σχολεία «Βιολογική Αμπελουργία και Οινολογία» και «Βιολογική Γεωργία», στο ΤΕΙ Ιονίων Νήσων στην Κεφαλονιά.

E-mail: alexansolomou@gmail.com

Short CV

Alexandra Solomou gained a Bachelor Degree from the Department of Agriculture, Crop Production and Rural Environment of the University of Thessaly (2006). She also received a Master's Degree from the Interdepartmental Postgraduate Studies Programme of the same Department in the «Modern agricultural production systems in the Mediterranean area with an emphasis on Sustainable production and use of new technologies» (2008). In the year 2013, in the same Department, supported by a "Heraclitus II" scholarship, she completed her doctoral work, titled "Influence of management on the evolution of olive grove ecosystem" and obtained a PhD.

She taught postgraduate courses in the Laboratory of Ecosystem and Biodiversity management at University of Thessaly: Ecology (2011-12) Ecology and Biodiversity (2012-13, 2013-14) and Terrestrial Ecosystem Management (2011-12, 2012-13).

She participated as a research associate-agronomist in the research project "Biodiversity census (flora and fauna diversity) in two mining areas (Anavra and Agria in Magnesia Prefecture)" (1/6/2011 to 30/11/2012, University of Thessaly, scientifically responsible for the project: Athanasios Sfougaris, Associate Professor).

Moreover, she participated as a research associate-agronomist in the research project "Conservation and management of the lesser kestrel (Falco naumanni) at three Greek SPA sites" (LIFE11 Nat/GR/1011, 1.8.2012 to 31.8.2013 and 1.5.2014 to 31.10.2014, University of Thessaly, scientifically responsible for the project: Athanasios Sfougaris, Associate Professor). Also, she took part as a research associate-agronomist in the project "Seminar on Biodiversity" at the Vocational Training Center of the University of Thessaly (1/02/2014 to 31/3/2014, Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, scientifically responsible for the project: Zisis Mamouris, Professor).

In 2012, she attended the Summer School entitled "Organic Viticulture and Oenology" and "Organic Farming" in the Technological Educational Institute of Ionian Islands in Cephalonia.

E-mail: alexansolomou@gmail.com

Τμήμα Γεωπονίας, Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος
Department of Icthyology and Aquatic Environment

Φωτεινή Φ. Παρλαπάνη

Ειδικοί Αλλοιωγόνοι Μικροοργανισμοί και η επίδρασή τους στην ποιότητα και στην τύχη των παθογόνων μικροοργανισμών στα αλιευτικά προϊόντα

Περίληψη

Εισαγωγή

Η μικροβιακή αλλοίωση αποτελεί τον κυριότερο μηχανισμό υποβάθμισης της ποιότητας στους νωπούς ιχθύες. Κατά τη συντήρηση των αλιευμάτων, ένα μικρό κλάσμα της αρχικής μικροβιακής σύνθεσης γνωστό ως Ειδικοί Αλλοιωγόνοι Μικροοργανισμοί (ΕΑΜ) φθάνει σε υψηλά αριθμητικά επίπεδα των 7-9 logcfu/g και παράγει μεταβολίτες οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για τις χαρακτηριστικές δυσάρεστες οσμές στα τρόφιμα κι επομένως για την οργανοληπτική απόρριψη. Η επιλογή των αλλοιωγόνων μικροοργανισμών εξαρτάται από τις επικρατούσες συνθήκες κατά τη συντήρηση όπως είναι η θερμοκρασία και η ατμόσφαιρα καθώς και από τις μικροβιακές αλληλεπιδράσεις. Ο ανταγωνισμός μεταξύ των ΕΑΜ επιδρά στον ειδικό ρυθμό αύξησης και στο μέγεθος του τελικού πληθυσμού τους. Σε περίπτωση επιμόλυνσης με κάποιο παθογόνο, η τύχη του παθογόνου εξαρτάται και από τις αλληλεπιδράσεις αυτές.

Σκοπός της διδακτορικής διατριβής ήταν μια ολοκληρωμένη προσέγγιση στο θέμα ποιότητα και ασφάλεια νωπών προϊόντων τσιπούρας (ολόκληροι ιχθύες και φιλέτα). Για την επίτευξη του σκοπού πραγματοποιήθηκαν τα παρακάτω: α) διερεύνηση/ταυτοποίηση των αλλοιωγόνων μικροοργανισμών με χρήση μοριακών τεχνικών β) παρακολούθηση των μεταβολών της μικροβιακής αλληλουχίας με κλασικές τεχνικές γ) προσδιορισμός ουσιών μικροβιακής προέλευσης με χημικές-αναλυτικές μεθόδους δ) παρακολούθηση της τύχης/συμπεριφοράς του *Listeria monocytogenes* κατά τη συγκαλλιέργειά του με αλλοιωγόνους μικροοργανισμούς καθώς και ε) επίδραση πρόσθετων εμποδίων στην τύχη των μικροοργανισμών (αλλοιωγόνων και παθογόνων).

Μεθοδολογία

Ο προσδιορισμός της επικρατούσας μικροβιακής σύνθεσης πραγματοποιήθηκε με χρήση κλασικών και μοριακών (καλλιεργητικών και μη καλλιεργητικών) τεχνικών. Η ταυτοποίηση των βακτηρίων του ολικού μικροβιακού πληθυσμού έγινε με ανάλυση του γονιδίου 16S rRNA και αλληλούχιση (sequencing) σε απομονωμένες αποικίες μικροοργανισμών από τρυβλία (μοριακές-καλλιεργητικές τεχνικές) και η διερεύνηση της μικροβιακής σύνθεσης με ανάλυση του γονιδίου 16S rRNA, κλωνοποίηση και αλληλούχιση σε προκαρυωτικό DNA απευθείας από τη σάρκα των ιχθύων (μοριακές-μη καλλιεργητικές τεχνικές). Η μελέτη των παραγόμενων μεταβολικών προϊόντων από τους αλλοιωγόνους μικροοργανισμούς (ολικό πτητικό άζωτο, τριμεθυλαμίνη, βιογενείς αμίνες και πτητικοί μεταβολίτες) πραγματοποιήθηκε με κλασικές και ενόργανες κατά περίπτωση χημικές αναλύσεις (απόσταξη και τιτλοδότηση, φασματοφωτομετρία, HPLC, SPME/GC-MS), με σκοπό να αξιολογηθούν ως πιθανοί χημικοί δείκτες αλλοίωσης. Επιπλέον, με τη χρήση μοντέλων υποστρωμάτων από ζωμό ιχθύος τσιπούρας μελετήθηκε η παραγωγή πτητικών μεταβολιτών από κάθε κατηγορία αλλοιωγόνων μικροοργανισμών, οι οποίοι απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν με ανάλυση του γονιδίου 16S rRNA, με σκοπό να διερευνηθεί η συνεισφορά του καθενός στην εύρεση πιθανών χημικών δεικτών αλλοίωσης.

Αποτελέσματα-Συμπεράσματα

Τα *Pseudomonas* spp. βρέθηκε να αποτελούν το σημαντικότερο μέρος των κυρίαρχων αλλοιωγόνων μικροοργανισμών, τόσο σε προϊόντα ιχθύος αποθηκευμένα σε ατμόσφαιρα αέρα (φιλέτο, ολόκληρο) όσο και σε τροποποιημένη ατμόσφαιρα-MAP (φιλέτο μόνο), βλ. Σχήματα 1 & 2. Εξαίρεση αποτέλεσε η περίπτωση της συντήρησης των φιλέτων σε MAP στους 5 ^{o}C, όπου το μεγαλύτερο ποσοστό της μικροβιακής σύνθεσης αποτελούνταν από είδη/στελέχη των οξυγαλακτικών βακτηρίων με κυρίαρχο το *Carnobacterium maltaromaticum strain* MMF-*32*. Η ανάλυση του γονιδίου 16S rRNA αποδεικνύεται αποτελεσματικότερη για την ταυτοποίηση των μικροοργανισμών, σε αντίθεση με τη χρήση των κλασικών μεθόδων. Η διερεύνηση των αλλοιωγόνων μικροοργανισμών με μοριακές τεχνικές επιβεβαιώνει την ύπαρξη και άλλων κυρίαρχων μικροοργανισμών στα αλιευτικά προϊόντα όπως τα *Aeromonas salmonicida, Carnobacterium maltaromaticum, Carnobacterium divergens, Vagococcus fluvialis, Psychrobacter immobilis, Psychrobacter cryohalolentis, Pseudomonas migulae, Pseudomonas vranovensis*. Οι μοριακές-μη καλλιεργητικές τεχνικές (απευθείας εκχύλιση DNA από τη σάρκα του ιχθύος) αναδεικνύουν μικροοργανι-

σμούς οι οποίοι διαφεύγουν της ταυτοποίησης με τις μοριακές καλλιεργητικές τεχνικές όπως το *Aeromonas salmonicida*. Επομένως, οι μοριακές τεχνικές φαίνεται να αποτελούν το πιο χρήσιμο εργαλείο για την ταυτοποίηση των μικροοργανισμών στα τρόφιμα.

Η μελέτη των πτητικών ουσιών που παράγονται από τη δράση των μικροοργανισμών κατά τη διάρκεια της συντήρησης αποτελεί έναν εναλλακτικό τρόπο προσδιορισμού της πορείας της μικροβιακής αλλοίωσης, διότι αρκετές από τις ουσίες αυτές αυξάνονται μεταξύ της πρώτης ημέρας και της ημέρας απόρριψης. Η ethyl-2-methylbutyrate, η ethyl isovalerate και η ethyl tiglate βρέθηκε να αυξάνονται εξαιτίας της δράσης των *Pseudomonas* spp., ενώ η 3-hydroxy-2-butanone, 3-methyl-1-butanal, 2-methyl-1-butanal, 3-methyl-1-butanol και η 2-ethyl-1-hexanol, λόγω των οξυγαλακτικών βακτηρίων, έπειτα από ανάλυση μοντέλων υποστρωμάτων ιχθύος ενοφθαλμισμένα σε μονοκαλλιέργεια με τους αντίστοιχους αλλοιωγόνους μικροοργανισμούς. Οι ουσίες αυτές θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως χημικοί δείκτες μικροβιακής αλλοίωσης της τσιπούρας. Η 3-methyl-1-butanal αποτέλεσε τη σημαντικότερη ουσία η οποία θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως χημικός δείκτης νωπότητας/αλλοίωσης μικροβιακής προέλευσης (Σχήμα 3). Η χρήση του TVB-N καθώς και των άλλων αζωτούχων μεταβολιτών (TMA-N, βιογενείς αμίνες), ενώ αποτελούν έναν καλό δείκτη για την αποδοχή ή όχι, ωστόσο δεν επαρκούν για να χαρακτηρίσουν τη «φρεσκότητα» του προϊόντος.

Η αποθήκευση σε MAP με το εμπορικό μείγμα αερίων που χρησιμοποιήθηκε στη διατριβή αυτή βρέθηκε να επηρεάζει την αύξηση των αλλοιωγόνων μικροοργανισμών σε σχέση με την αποθήκευση σε αερόβιες συνθήκες διότι προκάλεσε i) μείωση του ρυθμού αύξησης των Gram αρνητικών βακτηρίων, ii) αύξηση του ρυθμού αύξησης των Gram θετικών βακτηρίων (*B. thermosphacta*, οξυγαλακτικά βακτήρια), iii) αύξηση του τελικού πληθυσμού των Gram θετικών βακτηρίων και iv) μείωση του τελικού πληθυσμού των Gram αρνητικών βακτηρίων. Ωστόσο, στη συγκεκριμένη μελέτη, η εφαρμογή του MAP είχε ως αποτέλεσμα την τελική επικράτηση των Gram αρνητικών βακτηρίων, με ΕΑΜ τα *Pseudomonas* spp. και στις δύο ατμόσφαιρες (αέρας, MAP) στις χαμηλές θερμοκρασίες.

Η συγκαλλιέργεια των αλλοιωγόνων μικροοργανισμών αλλά και η καλλιέργειά τους μαζί με το *L. monocytogenes* σε στερεά μοντέλα υποστρώματα ιχθύος έδειξε ότι ο ένας μικροοργανισμός επηρεάζει την αύξηση του άλλου. Οι αλλοιωγόνοι μικροοργανισμοί βρέθηκε να επιδρούν στην τύχη/συμπεριφορά του *L. monocytogenes* τόσο σε συσκευασία αέρα όσο και σε MAP. Ο ανταγωνισμός μεταξύ των ΕΑΜ βρέθηκε να επιδρά στον ειδικό ρυθμό αύξησης και στο μέγεθος του τελικού πληθυσμού τους. Η αύξηση του *L. monocytogenes* (L) φάνηκε να ευνοείται στα φιλέτα σε συνθήκες αέρα όπου τα *Pseudomonas* spp. αποτελούν τον κυρίαρχο μικροοργανισμό. Επίσης, τα *Shewanella* spp. (Sh) και οξυγαλακτικά βακτήρια (Lab) βρέθηκε να ευνοούν την αύξηση του παθογόνου στις συγκαλλιέργειες Sh-L, Lab-L στις συνθήκες αυτές. Η πτώση των πληθυσμών των *Pseudomonas* spp. και των *Shewanella* spp., εξαιτίας της επίδρασης του MAP στην αύξησή τους, βρέθηκε να επιτρέπει την αύξηση του *L. monocytogenes* σε επίπεδα λίγο υψηλότερα από αυτά που παρατηρούνται σε αερόβιες συνθήκες. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια παρεμποδίζουν την αύξηση του παθογόνου στις συνθήκες αυτές.

Επομένως, οι μοριακές τεχνικές αναμφισβήτητα αποτελούν το σημαντικότερο εργαλείο για μελλοντική χρήση στην τεκμηρίωση της διασφάλισης της ποιότητας και της ασφάλειας ενός τροφίμου. Η μελέτη των πτητικών ουσιών που παράγονται από τους μικροοργανισμούς κατά τη διάρκεια της συντήρησης αποτελεί έναν εναλλακτικό τρόπο προσδιορισμού της πορείας της μικροβιακής αλλοίωσης. Η ποσοτικοποίηση των ουσιών αυτών κατά τη συντήρηση θα έχει σημαντική πρακτική εφαρμογή στη βιομηχανία τροφίμων καθώς θα είναι δυνατή η άμεση εκτίμηση της ποιοτικής κατάστασης και του εναπομείναντα εμπορικού χρόνου ζωής των αλιευτικών προϊόντων.

Λέξεις κλειδιά: Ειδικοί Αλλοιωγόνοι Μικροοργανισμοί, τσιπούρα, 16S rRNA, αλλοίωση, χημικοί δείκτες αλλοίωσης, μικροβιακές αλληλεπιδράσεις, *Listeria monocytogenes*

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Ιωάννης Σ. Μποζιάρης, Μόνιμος Επίκουρος Καθηγητής, Υγιεινή και Συντήρηση Ιχθυηρών, Τμήμα Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας *(επιβλέπων)*

Σταύρος Λαλάς, Καθηγητής, Τεχνολογία, Συντήρηση και Ποιοτικός Έλεγχος Λιπών και Ελαίων, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων, ΤΕΙ Θεσσαλίας (Παράρτημα Καρδίτσας)

Παναγιώτης Σκανδάμης, Επίκουρος Καθηγητής, Υγιεινή Εγκαταστάσεων Βιομηχανιών Τροφίμων, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Foteini F. Parlapani

Specific spoilage organisms and their effect on quality and fate of pathogenic bacteria in fish products

Abstract

Introduction

Microbial spoilage is the main mechanism of quality deterioration of fresh chilled fish. Under particular storage conditions (e.g., atmosphere, temperature), a consortium of bacteria known as specific spoilage organisms (SSOs) produce metabolites (chemical spoilage indices-CSIs) responsible for off-flavors and cause the organoleptic rejection of the product. Many groups of microorganisms contain species and strains that contribute to fish spoilage under particular storage conditions. It is known that the succession of spoilage microorganisms as well as their metabolic activity is greatly influenced by temperature and type of packaging. Undoubtedly physical and chemical parameters are the most important factors that influence the growth and selection of microorganisms in a food ecosystem. However, the selection of the microbiota during food spoilage is not depended only on the environmental conditions, but also on microbial interactions. Microbial interaction among SSOs affects the growth of microorganisms and the fate of pathogens such as *Listeria monocytogenes* in foods.

The purpose of the PhD thesis was to study the identity of the dominant spoilage microorganisms, their ability to produce metabolites causing spoilage, the interaction between spoilage microorganisms and *L. monocytogenes* under storage at various temperature and atmosphere conditions.

Methodology

Initially, the spoilage profile of whole sea bream and sea bream fillets under different temperature conditions (0, 5, 15oC) and atmosphere (air and MAP: $CO_2/O_2/N_2$:60/10/30) was investigated. The microbiota was studied by employing classical and molecular (culture dependent and culture independent) techniques. In the molecular-culture dependent techniques, bacterial isolates from the plates were identified by the 16S rRNA gene analysis and sequencing, while in the molecular culture independent techniques, prokaryotic DNA obtained directly from the fish flesh was determined by the gene 16S rRNA analysis, cloning and sequencing. Metabolic products (total volatile nitrogen, trimethylamine, biogenic amines and volatile metabolites) analysis was performed by using not only classical chemical analysis but also modern equipment such as HPLC and SPME GC-MS to evaluate the potential chemical spoilage indices (CSIs) of fish deterioration. Moreover, strains of *Pseudomonas, Shewanella* and LAB (*Carnobacterium and Lactobacillus*), isolated from the spoilage microbiota of sea bream fillets stored at various conditions and characterized by 16S rRNA gene analysis, were used to inoculate a sterile model sea bream substrate (Fish Juice Agar, FJA). The surface of FJA was inoculated with initial populations of about $5x10^3$cfu/g and stored aerobically and under MAP ($CO_2/O_2/N_2$:60/10/30) at 0,5 and 15 ^{o}C. Volatile compounds analysis was also carried out using SPME-GC/MS. Detection and semi-quantification using the surface area under the peaks was performed. The fate of *L. monocytogenes* alone or in co-culture with the main spoilage microorganisms was studied under air and MAP at 5 ^{o}C, using model fish juice agar substrate.

Results

Pseudomonas spp. were found to be the dominant microorganisms on spoiled whole sea bream stored under air and MAP using both approaches (Figures 1 & 2). However, the molecular approach, based on 16S rRNA gene analysis, revealed that *Pseudomonas fragi* co-dominated with *Carnobacterium maltaromaticum* strain MMF-32 in fillets under MAP at 5 ^{o}C as well as *Psychrobacter immobilis* and *Psychrobacter cryohalolentis* in iced stored whole fish by molecular-culture dependent techniques. Moreover, *Aeromonas* clustering phylotypes were found to co-dominate with *Pseudomonas* phylotypes by molecular-culture independent techniques. *Carnobacterium divergens, Vagococcus fluvialis, Pseudomonas migulae* and *Pseudomonas vranovensis* were also revealed by molecular approach. Therefore, molecular methods, such as 16S rRNA gene analysis is a powerful tool for studying food microbial ecology.

Several volatile organic compounds (VOCs) were found to change during storage in both packages (air and MAP). Various compounds such as ethyl-2-methylbutyrate, ethyl isovalerate and ethyl tiglate were increased during storage in model fish substrate inoculated with *Pseudomonas* spp., while 3-hydroxy-2-butanone, 3-methyl-1-butanal, 2-methyl-1-butanal, 3-methyl-1-butanol and 2-ethyl-1-hexanol were increased in model fish substrate inoculated with Lactic Acid Bacteria.

Specifically, 3-methylbutanal was increased in both packages (air and MAP) almost at all temperatures (Figure 3). The volatile compounds detected could be used as potential chemical indices of sea-bream fillets spoilage/freshness. The compounds 3-methylbutanal and the ethyl esters have been reported as microbial origin, making them potential CSIs candidates of sea bream fillets.

Different atmospheric conditions affected the shelf-life and also the growth of SSOs in sea bream product. However, *Pseudomonas* spp. were found to be dominant microorganisms on spoiled sea bream under air and MAP conditions.

SSOs was found to affect the fate of *L. monocytogenes* in sea bream products under air and MAP conditions. *L. monocytogenes* was increased in cases where *Pseudomonas* spp. dominated. Inhibition of spoilage bacteria under MAP conditions was found to allow better growth of *L. monocytogenes*. Therefore, MAP conditions seem to allow this pathogen to reach higher numbers compared to package under air.

Conclusions

Different temperatures and atmospheres affected the selection of spoilage microbiota. The 16S rRNA gene sequence analysis can give information at both species and strain level. New dominants were revealed by the culture-depended and culture in-depended molecular approaches. *Psychrobacter* spp. as part of the initial microbiota, as well as *Carnobacterium* spp. and *Vagococcus* spp. as part of the spoilage microbiota in sea bream fillets have never been reported as dominant microorganisms of fish from Greek waters. Moreover, *Aeromonas salmonicida* has not been reported as dominant microorganism in iced spoiled whole sea bream. This work can be the base-line for further investigation on spoilage potential and activity of those microorganisms in Mediterranean fish/seafood, especially sea bream. Moreover, quite few volatile compounds can be considered from this study as potential CSIs of sea-bream fillets. Finally, accurate determination of the concentrations of VOCs documented as CSIs candidates in sea bream fillets from various batches stored under different conditions and its relation to remaining shelf-life will be the first step for designing bio-sensors for on-pack freshness assessment and shelf life determination.

Key words: Specific Spoilage Organisms, sea bream, 16S rRNA, spoilage, chemical spoilage indices, microbial interaction, *Listeria monocytogenes*

Three -Member Supervisory Committee

Ioannis S. Boziaris, Assistant Professor, Hygiene and preservation of fish and seafood, Department of Ichthyology and Aquatic Environment, School of Agricultural Sciences, University of Thessaly, Greece *(supervisor)*

Stavros Lalas, Professor, Technology, Preservation and Quality control of lipids and oils, Department of Food Technology, TEI (Technological Educational Institution) of Thessaly, Greece

Panagiotis Skandamis, Assistant Professor, Hygiene of Foods and Foods Processing installations, Department of Food Science and Human Nutrition, Agricultural University of Athens, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within "Heraclitus II" programme

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Parlapani, F. F.**, Malouchos, A., Haroutounian, S.A., & Boziaris, I.S. (2014). Microbiological spoilage and investigation of volatile profile during storage of sea bream fillets under various conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 189, 153–163.
2. **Parlapani, F.F.**, Kormas, Ar. K., & Boziaris, I.S.(2015). Microbiological changes, shelf life and identification of initial and spoilage microbiota of sea bream fillets stored under various conditions using 16S rRNA gene analysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 95, 2386–2394
3. **Parlapani, F.F.**, Meziti, A.,Kormas, Ar. K.., & Boziaris, I.S.(2013). Indigenous and spoilage microbiota of farmed sea bream stored in ice identified by phenotypic and 16S rRNA gene analysis, *Food Microbiology*, 33, 85-89.

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες Presentations in scientific conferences and meetings - workshops

1. **Parlapani, F.F.**, Kormas, Ar. K., & Boziaris, I.S. (2012, September).*Use of 16S rRNA gene analysis for the identification of dominant microbiota in sea-bream fillets stored at various conditions*. Poster presented at FOOD MICRO Conference, International Committee on Food Microbiology and Hygiene ICFMH, Istanbul, Turkey.

2. **Parlapani, F. F.**, & Boziaris, I.S. (2012, September). *Interaction between Listeria monocytogenes and spoilage microorganisms in sea bream fillets and model fish substrate stored in air and MA package at 5 °C*. Poster presented at FOOD MICRO Conference, International Committee on Food Microbiology and Hygiene ICFMH, Istanbul, Turkey .

3. **Παρλαπάνη, Φ. Φ.**, Κορμάς, Κ.Α., & Μποζιάρης, Ι.Σ. (2012, Δεκέμβριος). *Διερεύνηση ποικιλότητας αλλοιωγόνων μικροοργανισμών σε φιλέτα και ολόκληρη τσιπούρα υπό ψύξη με ανάλυση γονιδίου 16S* r*RNA*. Προφορική ανακοίνωση στο 5ο Επιστημονικό Συνέδριο ΜΙΚΡΟΒΙΟΚΟΣΜΟΣ, Επιστημονική Εταιρεία ΜΙΚΡΟΒΙΟΚΟΣΜΟΣ, Αθήνα.

   Parlapani, F. F., Kormas, Ar.K., & Boziaris, I.S. (2012, December). *Exploration of specific spoilage organisms by culture-depended methods using 16S rRNA gene analysis in whole and sea-bream fillets stored at various conditions*. Paper presented at 5th Scientific Conference of Hellenic Society MikroBioKosmos, Scientific Society Mikrobiokosmos, Athens, Greece.

4. **Parlapani, F. F.**, Haroutounian, A.S., & Boziaris, I.S. (2011, July). *Microbial spoilage association and volatiles production during the storage of sea-bream fillets stored aerobically and under MAP at 0 °C*. Poster presented at Society for Applied Microbiology, UK Summer Conference 2011, Dublin, Republic of Ireland.

5. **Parlapani, F. F.**, Meziti, A., Kormas, Ar.K., & Boziaris, I.S. (2011, July). *Spoilage micro-biota of sea-bream stored in ice identified by phenotypic and 16S rRNA gene analysis*. Poster presented at Society for Applied Microbiology, UK -Summer Conference 2011 (Poster). Dublin, Republic of Ireland.

6. **Παρλαπάνη, Φ. Φ.**, Χαρουτουνιάν, Σ., & Μποζιάρης, Ι.Σ. (2011, Νοέμβριος). *Μικροβιακή αλλοίωση και παραγωγή πτητικών ουσιών κατά την συντήρηση υπό ψύξη φιλέτων τσιπούρας (Sparus aurata) σε συνθήκες αέρα και τροποποιημένης ατμόσφαιρας*. Αναρτημένη ανακοίνωση στο Συνέδριο Ένωσης Ελλήνων Χημικών, Αθήνα.

   Parlapani, F. F., Haroutounian, A.S., & Boziaris, I.S. (2011, November). *Microbial spoilage association and volatiles production during the storage of sea-bream fillets stored aerobically and under MAP at 5 °C*. Poster presented at Greek Chemists Association Conference, Athens, Greece.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Φωτεινή Παρλαπάνη** γεννήθηκε στη Θεσσαλονίκη, στις 10 Ιουλίου 1981. Σπούδασε στο Αλεξάνδρειο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης, κατά τα έτη 2002-2006 και στη συνέχεια, κατά τα έτη 2007-2009, πραγματοποίησε μεταπτυχιακές σπουδές στο Πρόγραμμα «Αειφορική Διαχείριση Υδατικού Περιβάλλοντος» του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, από όπου αποφοίτησε με βαθμό Πτυχίου «Άριστα». Η μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία της, με τίτλο «Χαρακτηρισμός της μικροβιακής χλωρίδας και επίδρασή της στην ασφάλεια και στο χρόνο ζωής των μεταποιημένων εκτρεφόμενων σαλιγκαριών» βαθμολογήθηκε με 10 (Δέκα).

Το διάστημα 2009-2013, πραγματοποίησε τη διδακτορική της διατριβή με θέμα «Ειδικοί αλλοιωγόνοι μικροοργανισμοί και η επίδρασή τους στην ποιότητα και στην τύχη των παθογόνων μικροοργανισμών στα αλιευτικά προϊόντα», στο ίδιο τμήμα, με υποτροφία «Ηράκλειτος ΙΙ» και με επιβλέποντα τον Επίκουρο Καθηγητή Ιωάννη Σ. Μποζιάρη.

Αποτελέσματα από τη μεταπτυχιακή και τη διδακτορική της διατριβή έχουν δημοσιευθεί σε έγκριτα περιοδικά του Science Citation Index (4 δημοσιεύσεις), ενώ άλλες δημοσιεύσεις της βρίσκονται υπό συγγραφή. Επιπλέον, έχει συμμετάσχει στη συγγραφή δύο (2) κεφαλαίων σε βιβλία (Microbiological examination of seafood. In: Seafood Processing, Technology, Quality & Safety, Edited by I.S. Boziaris, Wiley- Blackwell, IFST Advances in Food Science Series και Old Targets, New Weapons: Food Microbial Communities Revealed With Molecular Tools. In: Novel Food Preservation and Microbial Assessment Techniques, Edited by I.S. Boziaris, Taylor & Francis, CRC Press) και 16 δημοσιεύσεων σε διεθνή (10) και εθνικά (6) επιστημονικά συνέδρια. Εννέα από τις δημοσιεύσεις της ήταν στο πλαίσιο του «Ηράκλειτος ΙΙ» (βλ. δημοσιεύσεις από διδακτορική διατριβή).

Εργάστηκε ως έκτακτη διδάσκουσα τριτοβάθμιας εκπαίδευσης στο Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων του ΤΕΙ Θεσσαλίας και στο Τμήμα Τεχνολογίας Αλιείας & Υδατοκαλλιεργειών του ΑΤΕΙ Θεσσαλονίκης, ενώ πρόσφερε επικουρικό διδακτικό έργο (εργαστηριακές ασκήσεις) στο Τμήμα όπου πραγματοποίησε το διδακτορικό της.

Πρόσφατα, εγκρίθηκε η χρηματοδότηση πρότασης που είχε υποβάλει ως μεταδιδακτορική ερευνήτρια στο πλαίσιο του Αγρο-ΕΤΑΚ.

Short CV

Foteini Parlapani was born in Thessaloniki, on 10th July 1981. She studied at Alexander Technological Educational Institute of Thessaloniki, from 2002 to 2006. In s2009, she got her MSc in "Sustainable Management of Aquatic Environment" from the Department of Ichthyology and Aquatic environment, Faculty of Agricultural Sciences, University of Thessaly, with grade "Excellent". Her Master Thesis entitled " Microbial population and their effect on safety of raw and processed edible snails" was graded with 10 (Ten).

During the years 2009-2013 she conducted her doctoral thesis with the title "Specific spoilage organisms and their effect on quality and fate of pathogenic bacteria in fish products", funded by "Heraclitus II" programme, under the supervision of Assistant Professor Ioannis S. Boziaris.

Results of her postgraduate and doctoral dissertation have been published in Journals of Science Citation Index (4 publications), while she is co-author in two (2) book-chapters (Microbiological examination of seafood. In: Seafood Processing, Technology, Quality & Safety, Edited by I.S. Boziaris, Wiley- Blackwell, IFST Advances in Food Science Series and Old Targets, New Weapons: Food Microbial Communities Revealed With Molecular Tools. In: Novel Food Preservation and Microbial Assessment Techniques, Edited by I.S. Boziaris, Taylor & Francis, CRC Press). She is also co-author in 16 publications in international (10) and national (6) conferences. Nine (9) of her publications were within the frame of the programme « Heraclitus II" (see PhD publications).

In addition, she has taught in the Department of Food Technology, TEI of Thessaly and the Department of Fisheries & Aquaculture ATEI of Thessaloniki. Recently, she got funding for post doctoral research by Agro-ETAK.

ΠΟΛΥΤΕΧΝΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
SCHOOL OF ENGINEERING

Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών
Department of Mechanical Engineering

Τμήμα Μηχανικών Χωροταξίας Πολεοδομίας και Περιφερειακής Ανάπτυξης
Department of Planning and Regional Development

Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών
Department of Civil Engineering

Τμήμα Αρχιτεκτόνων Μηχανικών
Department of Architecture Engineering

Τμήμα Ηλεκτρολόγων Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών
Department of Electrical and Computer Engineering

Άννα Γεωργαντάκη

Επίδραση διαλυτών επιφανειοδραστικών σε ροές με ελεύθερη επιφάνεια

Περίληψη

Η ροή υγρού υμένα απαντάται σε διάφορα φυσικά και βιολογικά φαινόμενα και σε πλειάδα βιομηχανικών εφαρμογών. Παράλληλα, αποτελεί ένα βασικό πρότυπο ροής με ελεύθερη επιφάνεια, όπου εφαρμόζονται θεωρίες μη-γραμμικής δυναμικής και χάους. Η προσθήκη επιφανειοδραστικών στη ροή υγρού υμένα συναρτάται με ευρύ φάσμα εφαρμογών, από την παραγωγή υγρών καθαρισμού έως την ανάπτυξη σύγχρονων θεραπευτικών τεχνικών.

Η διατριβή αυτή μελετά πειραματικά την επίδραση στη ροή υγρού υμένα από την προσθήκη ισο-προπανόλης και SDS (Sodium Dodecyl Sulfate). Με χρήση της αγωγιμομετρικής τεχνικής μετράται η χρονική μεταβολή του πάχους του υμένα σε διάφορες θέσεις κατά μήκος της ροής. Η επεξεργασία των δεδομένων οδηγεί στον προσδιορισμό των κρίσιμων συνθηκών πρωτογενούς αστάθειας (πέρα από τις οποίες η ελεύθερη επιφάνεια αναπτύσσει κυματισμούς) και των χαρακτηριστικών των κυμάτων στην ασταθή περιοχή.

Υδατικά διαλύματα ισο-προπανόλης και γλυκερίνης ακολουθούν παρόμοια συμπεριφορά, αν και παρουσιάζουν σημαντική διαφορά στην επιφανειακή τάση. Η εξάρτηση του κρίσιμου αριθμού Reynolds (Re) από τις φυσικές ιδιότητες του υγρού περιγράφεται από τον αδιάστατο αριθμό Kapitza (Ka). Η μετάβαση είναι επίσης συνάρτηση του πλάτους του καναλιού, ιδιαίτερα στο όριο των υψηλών αριθμών Kapitza. Η μη-γραμμική εξέλιξη, η οποία οδηγεί στην ανάπτυξη μοναχικών κυμάτων με πρόδρομους τριχοειδείς κυματισμούς, αποτελεί κοινό χαρακτηριστικό όλων των απλών υγρών.

Τα υδατικά διαλύματα SDS παρουσιάζουν θεμελιωδώς διαφορετική συμπεριφορά από αυτή των απλών υγρών. Οι διαταραχές της εισόδου αποσβένονται δραστικά και ο κρίσιμος Re εξαρτάται έντονα από τη συγκέντρωση του επιφανειοδραστικού. Μέγιστη σταθεροποίηση, που αντιστοιχεί σε αύξηση μεγαλύτερη της μίας τάξης μεγέθους, λαμβάνει χώρα σε συγκέντρωση SDS περίπου 10% της κρίσιμης για σχηματισμό μικκυλίων. Με περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσης, ο κρίσιμος Re μειώνεται συνεχώς και σταδιακά προσεγγίζει την τιμή του καθαρού υγρού. Τα κύματα στην ασταθή περιοχή παραμένουν ημιτονοειδή για μεγάλο εύρος τιμών των παραμέτρων και εμφανίζουν μικρούς ρυθμούς ανάπτυξης. Οι ανωτέρω παρατηρήσεις ερμηνεύονται από την ελαστική συμπεριφορά της ελεύθερης επιφάνειας, η οποία οφείλεται στην ανάπτυξη τάσεων Marangoni λόγω χωρικών μεταβολών της επιφανειακής συγκέντρωσης επιφανειοδραστικού. Υψηλές συγκεντρώσεις SDS στην κύρια μάζα του υγρού ενισχύουν τους ρυθμούς μεταφοράς μεταξύ επιφάνειας-κύριας μάζας και συνεπώς αμβλύνουν τις επιφανειακές κλίσεις συγκέντρωσης.

Λέξεις κλειδιά: επιφανειοδραστικά, επιφανειακή τάση, ροή υγρού υμένα

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Δρ. Βασίλειος Μποντόζογλου, Καθηγητής, Φαινόμενα Μεταφοράς, Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*(επιβλέπων)*

Δρ. Μιχαήλ Βλαχογιάννης, Καθηγητής, Σχολή Τεχνολογικών Εφαρμογών, Μηχανική Ρευστών, Τμήμα Μηχανολογίας, Τ.Ε.Ι. Λάρισας

Δρ. Νικόλαος Ανδρίτσος, Καθηγητής, Πειραματικά Φαινόμενα Μεταφοράς, Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Anna Georgantaki

The effect of soluble surfactants on free surface flows

Abstract

Thin liquid films appear in a variety of natural and biological settings and are prominent in many industrial applications. They also represent one of the prototypes of free surface flow, where theories of nonlinear dynamics and chaos are applicable. The addition of surfactants in film flow is encountered in a wide spectrum of applications, ranging from detergent production to modern therapeutic treatments.

The study investigates experimentally the modifications in the dynamics of liquid film flow from the addition of Isopropanol (IP) and of Sodium Dodecyl Sulfate (SDS). Conductivity probes are used to record temporal variation of liquid film thickness at various locations along the flow. These data permit detection of the primary instability threshold and documentation of the wave dynamics in the unstable regime.

Aqueous solutions of Isopropanol and Glycerol exhibit similar behaviour, despite the fact that their surface tension is significantly different. The dependence of the critical Reynolds number on fluid properties is expressed by the Kapitza number. A delay in the onset of the primary instability (in comparison to the classical, two-dimensional prediction) is observed, which depends on channel width and is most prominent at high Kapitza values. The non-linear evolution, which leads to the development of solitary waves with well developed front running ripples, is a common characteristic of all clean liquids.

Aqueous solutions of SDS exhibit a remarkably different behaviour from that of clean liquids. Inlet disturbances decay drastically and the critical Reynolds number is strongly dependent on surfactant concentration. Small amounts of SDS result in drastic delay of the primary instability and maximum stabilization occurs at concentrations around 10% of the critical micelle concentration. Further addition of surfactant has an adverse effect and at large concentrations the clear liquid limit is asymptotically approached. The dominant structures for the majority of inlet frequencies tested, even at high flow rates, are sinusoidal travelling waves of very small amplitude.

The above observations for SDS may be interpreted by taking into account the elastic behaviour of the free surface, due to Marangoni stresses caused by gradients in the surfactant concentration. Increasing the amount of SDS dissolved in the liquid enhances mass transport between the interface and the bulk and therefore mitigates surface concentration gradients and the concomitant Marangoni stresses.

Key words: surfactants, surface tension, film flow

Three - Member Supervisory Committee

Dr. Vasilios Bontozoglou, Professor, Transport Phenomena, Mechanical Engineering Department, University of Thessaly (*supervisor*)

Dr. Michael Vlachogiannis, Professor, Fluid Mechanics, Mechanical Engineering Department, Technological Educational Institute of Larissa, Greece

Dr. Nikolaos Andritsos, Professor, Experimental Transport Phenomena, Mechanical Engineering Department, University of Thessaly, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme “Heraclitus II”

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Georgantaki, A.**, Vlachogiannis, M., Bontozoglou V. (2012). The effect of soluble surfactants on liquid film flow, *J. Phys. Conf.* Ser., Volume 395, 012165.
2. **Georgantaki, A.**, Vatteville, J., Vlachogiannis, M., Bontozoglou, V. (2011). Measurements of liquid film flow as function of fluid properties and channel width: Evidence for surface-tension-induced long-range transverse coherence, *Physical Review E*, Volume 84, no 2, 026325.

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες
Presentations in scientific conferences and meetings - workshops

1. **Georgantaki, A.**, Vlachogiannis, M., Bontozoglou, V. (2013, June). *Falling Film Dynamics in the presence of soluble surfactants*. Paper presented at 8th World Congress on Experimental Heat Transfer, Fluid Mechanics and Thermodynamics, Lisbon, Portugal.
2. **Georgantaki, A.**, Karapetsas, G., Bontozoglou,V. (2012, November). *Dynamics of an inclined film in the presence of soluble surfactants*. Paper presented at 65th Annual Meeting of the APS Division of Fluid Dynamics, San Diego, California.
3. **Γεωργαντάκη Α.**, Βλαχογιάννης, Μ., Μποντόζογλου, Β. (2012, Νοέμβριος). *Η επίδραση των υδατοδιαλυτών επιφανειοφραστικών στη ροή υγρού υμένα*. Προφορική ανακοίνωση στο Ροή 2012, Βόλος.

   Georgantaki, A., Vlachogiannis, M., Bontozoglou, V. (2012, November). *The effect of soluble surfactants on film flow*. Paper presented at Flow 2012, Volos, Greece.
4. **Georgantaki, A.**, Karapetsas, G., Mpontozoglou, V. (2012, October - November). *Dynamics of a surfactant- laden falling film*. Paper presented at Multiscale Complex Fluid Flows and Interfacial Phenomena, Multiflow 2012, Dresden, Germany.
5. **Georgantaki, A.**, Vlachogiannis, M., Bontozoglou, V. (2012, September). *The effect of soluble surfactants on liquid film flow*. Paper presented at Eurotherm 2012, 6th European Thermal Sciences Conference, Poitiers, France.
6. **Georgantaki, A.**, Vlachogiannis, M., Bontozoglou, V. (2012, July). *The effect of soluble active agents on film flow*. Paper presented at Summer school on Wave Patterns and Interactions in Advection-Dominated Flows, Marie Curie Initial Training Network, Volos, Greece.
7. **Γεωργαντάκη, Α.**, Vatteville, J., Βλαχογιάννης, Μ., Μποντόζογλου, Β. (2011, Μάιος). *Η αναπάντεχη σημασία του εύρους της ροής στην πρωτογενή αστάθεια υγρών υμένων*. Προφορική ανακοίνωση στο 8ο Πανελλήνιο Επιστημονικό Συνέδριο Χημικής Μηχανικής, Θεσσαλονίκη.

   Georgantaki, A., Vatteville, J., Vlachogiannis, M., Bontozoglou, V. (2011, May). T*he unexpected significance of slow width at the primary instability of film flow*. Paper presented at 8th Panhellenic Chemical Engineering Conference, Thessaloniki, Greece.
8. Vatteville, J., **Georgantaki, A.**, Vlachogiannis, M., Bontozoglou, V. (2011, April). *The role of the transverse dimension in the instabilities and transitions of inclined film flow*. Paper presented at GAMM 2011, (Gratz) Austria.
9. Cao, Z., Nguyen, P.- K., **Georgantaki, A.**, Vatteville, J., Vlachogiannis, M., Bontozoglou, V.(2010, November). *New findings of the Transport Processes Lab on the primary instability of inclined film flow*. Paper presented at Roi 2010, Thessaloniki, Greece.
10. **Georgantaki, A.**, Vlachogiannis, M., Vatteville, J., Bontozoglou, V. (2010, November). *The effects of Kapitza number and channel width on liquid film flow*. Paper presented at International Conference on Multiscale Complex Fluid Flows and Interfacial Phenomena - Multiflow 2010, Brussels, Belgium.
11. **Georgantaki, A.**, Vlachogiannis, M., Vatteville, J., Leontidis, V., Andritsos N., Bontozoglou, V. (2010, September). *The effect of channel width and Kapitsa number on the primary instability and the wave characteristics of inclined film flow*. Paper presented at 8th Euromech Fluid Mechanics Conference, Munich, Germany.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Άννα Γεωργαντάκη** γεννήθηκε στις 15 Απριλίου του 1985, στο Ηράκλειο Κρήτης, ενώ η καταγωγή της είναι από τη Σητεία Κρήτης. Αποφοίτησε από το Ενιαίο Λύκειο Σητείας το 2003 και στη συνέχεια φοίτησε στο Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Το 2008, συνέχισε σε μεταπτυχιακές σπουδές του ιδίου τμήματος, με τίτλο «Σύγχρονες Μέθοδοι Σχεδιασμού και Ανάλυσης στη Βιομηχανία», με κατεύθυνση Ενεργειακά Συστήματα, Βιομηχανικές Διεργασίες και Τεχνολογίες Αντιρρύπανσης. Το Μάιο του 2013, αναγορεύτηκε Διδάκτωρ του Τμήματος Μηχανολόγων Μηχανικών του Π.Θ., εκπονώντας διδακτορική διατριβή με τίτλο «Επίδραση διαλυτών επιφανειοδραστικών σε ροές με ελεύθερη επιφάνεια», για την οποία έλαβε υποτροφία στο πλαίσιο του προγράμματος διδακτορικών υποτροφιών «Ηράκλειτος ΙΙ». Από το Σεπτέμβριο του 2010 έως τον Ιούλιο του 2013, ως εργαστηριακή συνεργάτιδα του Τεχνολογικού Εκπαιδευτικού Ιδρύματος Λάρισας, δίδαξε τα μαθήματα: Μηχανικές Κατεργασίες, Αντοχή Υλικών, Ρευστοδυναμικές Μηχανές και Ήπιες Μορφές ενέργειας. Γνωρίζει άπταιστα την Αγγλική, Γερμανική και Γαλλική γλώσσα και από το Νοέμβριο του 2013 έως και σήμερα, εργάζεται στη διοίκηση του τεχνικού τμήματος ενός από τους μεγαλύτερους ομίλους ελαστικών, της γερμανικής Continental AG, στον τομέα των μεταφορικών ταινιών.

Short CV

Anna Georgantaki was born on 15th April 1985 and was raised in the island of Crete. She studied Mechanical Engineering at the University of Thessaly, graduating in 2008, before undertaking postgraduate studies in “State-of-the-Art Design and Analysis Methods in Industry”, following the track Energy Systems, Industrial Processes and Pollution-Abatement Technologies. In May 2013, she was awarded a PhD Degree. With a “Heraclitus II” scholarship, she worked on her PhD dissertation, entitled “The effect of Soluble Surfactants on Free Surface Flows”.

Alongside her postgraduate studies, from September 2010 until July 2013, she began working as a teacher at the Technological Educational Institute of Larissa, teaching Machining Works, Material Strength, Sustainable Energy and Fluid Dynamic Machines. She speaks English, German and French fluently and since November 2013, she is a member of the Technical Management Team, in one of the leading rubber manufacturing companies worldwide, Continental AG, at the division of conveyor belts.

Μαρία Γιαννακού

Μέθοδοι βελτιστοποίησης καταμερισμού πόρων για ελαχιστοποίηση της επικινδυνότητας αστοχίας δικτύων

Περίληψη

Η διδακτορική διατριβή εστιάζει στο πρόβλημα της εκτίμησης και διαχείρισης της επικινδυνότητας των δικτύων και αποσκοπεί στην ανάπτυξη μεθόδων βελτιστοποίησης κατανομής των διαθέσιμων πόρων και μέσων για την μείωση της επικινδυνότητας αστοχίας του δικτύου μεταφοράς και διανομής. Η διαχείριση της επικινδυνότητας συνεπάγεται την αξιολόγηση των πηγών κινδύνου αλλά και της τρωτότητας των επιμέρους τμημάτων του δικτύου, καθώς και το σχεδιασμό στρατηγικών και διαδικασιών για τον περιορισμό του κινδύνου αστοχίας του δικτύου σε ένα αποδεκτό επίπεδο, χωρίς να παραβιάζονται οι οικονομικοί περιορισμοί και η νομοθεσία ασφάλειας στην οποία υπόκειται το δίκτυο μεταφοράς.

Το αντικείμενο της διδακτορικής διατριβής είναι αρχικά η ανάπτυξη μιας γενικής μεθοδολογίας αξιολόγησης και διαχείρισης της επικινδυνότητας αστοχίας δικτύων λόγω αστοχιών των επιμέρους υποσυστημάτων του δικτύου καθώς και εξωγενών συνθηκών και σε επόμενο στάδιο, η ποσοτικοποίηση των επιπτώσεων αστοχίας του δικτύου σε τέσσερεις βασικούς τομείς: ανθρώπινος παράγοντας, περιβάλλον, υποδομές και οικονομική δραστηριότητα της περιοχής.

Ο κύριος στόχος είναι η ανάπτυξη ενός μαθηματικού μοντέλου κόστους – οφέλους που θα στοχεύει στην ελαχιστοποίηση των επιπτώσεων της αστοχίας και στη βελτιστοποίηση της κατανομής πόρων που θα διατεθούν για την ελαχιστοποίηση των ατυχημάτων και τη μείωση της επικινδυνότητας αστοχίας των δικτύων.

Την τελευταία δεκαετία, τα δίκτυα διανομής και μεταφοράς, όπως είναι το σιδηροδρομικό δίκτυο, το οδικό δίκτυο, οι αγωγοί πετρελαίου και φυσικού αερίου, έχουν επεκταθεί στις περιοχές της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Η ασφάλεια αποτελεί σημαντική παράμετρο για τη λειτουργία τους, διότι τα δίκτυα αυτά συχνά διασχίζουν πυκνοκατοικημένες πόλεις, βιομηχανικές περιοχές, αγροτικές καλλιέργειες καθώς και περιβαλλοντικά ευαίσθητες περιοχές. Συνεπώς, υπάρχουν διάφοροι κίνδυνοι, όπως οι φυσικές καταστροφές, οι δραστηριότητες τρίτων, τα ελαττώματα των υλικών και τα ανθρώπινα λάθη που μπορούν να προκαλέσουν αστοχία στα δίκτυα μεταφοράς. Ενώ λοιπόν η ανάγκη για την ύπαρξη και λειτουργία των δικτύων αυτών είναι αδιαμφισβήτητη, υπάρχουν σημαντικές ανησυχίες για τον κίνδυνο που απορρέει από την πιθανή αστοχία τους και τις συνέπειες που θα έχει στους επιβάτες, στους πολίτες, στο περιβάλλον και στις κρίσιμες υποδομές σε κοινωνικό και οικονομικό επίπεδο.

Μέσα στο πλαίσιο της έρευνας, η μεθοδολογία αυτή εφαρμόστηκε στο ελληνικό σιδηροδρομικό δίκτυο, το οποίο έχει αναπτυχθεί ραγδαία τα τελευταία χρόνια, λόγω της ανάπτυξης της τεχνολογίας που έχει σημειωθεί στα υπολογιστικά εργαλεία, στα συστήματα ελέγχου και στα ηλεκτρονικά μέσα. Όσο η τεχνολογία για τις αμαξοστοιχίες ταχείας κυκλοφορίας και τα προηγμένα συστήματα είναι διαθέσιμα, τόσο η ανάγκη για ασφάλεια του δικτύου αυξάνεται. Για να μειωθούν οι κίνδυνοι αστοχίας του συστήματος και για να διασφαλιστεί η ασφάλεια του δικτύου, η Ευρώπη έκανε προσπάθειες εδώ και πολλά χρόνια για να αναπτύξει και να επικαιροποιήσει τα σχετικά πρότυπα ασφάλειας, η εφαρμογή των οποίων όμως απαιτεί σημαντικά κεφάλαια επενδύσεων. Ωστόσο, τα ατυχήματα στο σιδηροδρομικό δίκτυο δε μπορούν να αγνοηθούν και γι’ αυτό πρέπει να δοθεί ιδιαίτερη σημασία στην αποδοτική και οικονομική διαχείριση των δικτύων.

Αρχικά ορίστηκαν οι δείκτες εκτίμησης επικινδυνότητας ή διαφορετικά δείκτες ασφαλείας του δικτύου και διενεργήθηκε στατιστική ανάλυση των δεδομένων των ατυχημάτων για το ελληνικό σιδηροδρομικό δίκτυο για την περίοδο 2004 – 2013. Μερικοί από αυτούς τους δείκτες είναι οι ετήσιοι δείκτες ανά κατηγορία ατυχήματος (σχετική συχνότητα ανά κατηγορία ατυχημάτων) που ισούται με το σύνολο των ατυχημάτων ανά κατηγορία διά το σύνολο των διανυθέντων συρμοχιλιομέτρων (train-km) και επιβατοχιλιομέτρων. Από τα δεδομένα που μας παρείχε η ΤΡΑΙΝΟΣΕ υπολογίστηκε και η συνεισφορά διάφορων αιτιών (π.χ. ανθρώπινος παράγοντας, σφάλμα τροχαίου υλικού) στο να συμβεί κάποια κατηγορία σιδηροδρομικού ατυχήματος. Επίσης, από τα δεδομένα υπολογίστηκε η επικινδυνότητα R για κάθε κατηγορία ατυχήματος και για κάθε κατηγορία εμπλεκομένων (ΘΣΣΤ/έτος).

Επίσης, έγινε μια πιθανοτική εκτίμηση της επικινδυνότητας των σιδηροδρομικών ατυχημάτων όπου εκτιμήθηκε η γραμμή τάσης των ατυχημάτων, καθώς και η κατανομή των μεταβλητών (π.χ. ατυχημάτων, θανάτων) εφαρμόζοντας μοντέλα παλινδρόμησης (regression model) και στη συνέχεια αξιολογήθηκε η συχνότητα εμφάνισης των ατυχημάτων. Επειδή η συχνότητα ατυχημάτων στην πραγματικότητα είναι

διακριτή και μη αρνητική, η παλινδρόμηση Poisson είναι περισσότερο κατάλληλη από τα μοντέλα πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης.

Αν και η Poisson έχει την επιθυμητή ιδιότητα κατανομής να συμπεριλάβει τα χαρακτηριστικά του ατυχήματος, έχει περιορισμούς. Ένας από αυτούς είναι ότι η διακύμανση των δεδομένων είναι περιορισμένη και πρέπει να ισούται με το μέσο. Σε πολλές εφαρμογές, η καταμέτρηση δεδομένων (count data) προσθέτει επιπλέον διακύμανση ή υπερ-διασπορά. Αυτό συμβαίνει γιατί η διακύμανση των δεδομένων είναι γενικώς μεγαλύτερη από το μέσο, επομένως η παράμετρος που εκτιμάται από το μοντέλο Poisson μπορεί να είναι μεροληπτική. Για να επιλυθεί το πρόβλημα της υπερδιασποράς, διάφοροι ερευνητές πρότειναν την εφαρμογή του διωνυμικού μοντέλου παλινδρόμησης.

Συνοπτικά η μεθοδολογία της πιθανοτικής προσέγγισης της εκτίμησης επικινδυνότητας περιλαμβάνει τα ακόλουθα βήματα:

1. Προσδιορισμός της συχνότητας του εναρκτήριου συμβάντος (εκτίμηση της τάσης των ατυχημάτων, εκτίμηση της αξιοπιστίας
2. Προσδιορισμός των αιτιών για τα εναρκτήρια συμβάντα με δενδρική ανάλυση (FTA)
3. Εκτίμηση αβεβαιότητας
4. Ανάλυση των επιπτώσεων των ατυχημάτων (θάνατοι, τραυματισμοί, οικονομικές, περιβαλλοντικές επιπτώσεις). Το μοντέλο (ETA) εκτιμάει τον αναμενόμενο αριθμό θανάτων, εφαρμόζοντας πιθανοτική προσέγγιση που ενσωματώνει τα διαθέσιμα ντεντερμενιστικά δεδομένα.
5. Υπολογισμός του προσδοκώμενου βαθμού επικινδυνότητας (π.χ. FWSI/ passenger-km-year) για το σύνολο των ατυχημάτων, αλλά και για κάθε κατηγορία σιδηροδρομικού ατυχήματος.

Η παραπάνω μεθοδολογία εφαρμόστηκε για τα ατυχήματα στις ισόπεδες διαβάσεις του ελληνικού σιδηροδρομικού δικτύου, επειδή από τη στατιστική ανάλυση προέκυψε ότι παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης. Στα σενάρια που καταρτίστηκαν, εφαρμόστηκε το μοντέλο FTA, για να αποκτήσουμε μια πιο αξιόπιστη εικόνα της πιθανότητας εμφάνισης ατυχημάτων (κίνδυνος) και το μοντέλο ETA, για τον υπολογισμό της πιθανότητας παραμέτρων τρωτότητας και ποσοτικοποίησης των επιπτώσεων των συμβάντων. Επίσης, η ανάλυση των σεναρίων πραγματοποιήθηκε και με την εφαρμογή των διαγραμμάτων bow – tie.

Τέλος, το μοντέλο κόστους - οφέλους στοχεύει στην ελαχιστοποίηση των επιπτώσεων της αστοχίας και στην βελτιστοποίηση της κατανομής πόρων που θα διατεθούν για την αύξηση του επιπέδου ασφαλείας της λειτουργίας και της μείωσης της επικινδυνότητας αστοχίας των δικτύων. Οι επιπτώσεις των σεναρίων εκφράζονται σε οικονομικούς όρους και περιλαμβάνουν τη χρηματική αξία της συνολικής πιθανότητας να συμβεί ένα σενάριο ατυχήματος στο δίκτυο, τη μείωση του συντελεστή επικινδυνότητας ως συνάρτηση των επιπτώσεων και την προθυμία πληρωμής (WTP) των αντιμέτρων για την πρόληψη του σεναρίου.

Στο πλαίσιο του μοντέλου αυτού, υπολογίστηκε η επίδραση διαφόρων αντιμέτρων στον βαθμό επικινδυνότητας των σιδηροδρομικών ατυχημάτων, εφαρμόστηκαν Bayesian Networks (Si, et al., 2011, Mahboobetal., 2012). Ο αλγόριθμος εξάλειψης μεταβλητών αποτελείται από 3 στάδια: (1) αφαιρεί στοιχεία που μορφοποιούν την πιθανοτική κατανομή των Bayesian Networks μεγιστοποιώντας την ανεξαρτησία (2) συνδυάζει τμήματα των δικτύων για να σχηματίσει μικρότερα Bayesian δίκτυα με στοιχεία που έχουν μεγαλύτερη βαρύτητα και (3) υπολογίζει τα μικρότερα αυτά τμήματα του δικτύου. Η διαδικασία συνεχίζεται μέχρι να επιτευχθεί η επιθυμητή κατανομή.

Λέξεις κλειδιά: Εκτίμηση επικινδυνότητας, ανάλυση κόστους οφέλους, διαχείριση επικινδυνότητας, σιδηροδρομικό δίκτυο, ισόπεδες διαβάσεις, Bayesian Networks

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Αθανάσιος Ζηλιασκόπουλος, Καθηγητής, Διευθυντής Εργαστηρίου Βελτιστοποίησης Συστημάτων, Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Διευθύνων Σύμβουλος της ΤΡΑΙΝΟΣΕ *(επιβλέπων)*

Κωνσταντίνος Παπαδημητρίου, Καθηγητής, Διευθυντής Εργαστηρίου Δυναμικής Μηχανικών Συστημάτων, Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Ελευθέριος Ιακώβου, Καθηγητής, Διευθυντής Εργαστηρίου Στατιστικής και Μεθόδων Ποσοτικής Ανάλυσης, Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Maria Giannakou

Relocation resources optimization methods applied to minimize the risk network failure

Abstract

The research is concerned with the problem of risk assessment and management of transport networks. Risk management involves assessing the hazards and designing strategies and procedures to mitigate those risks to an acceptable level with the minimum cost and without the violation of the European and national legislation. Various methods of qualitative, quantitative and semi-quantitative risk assessment techniques are reviewed, as well as methods of cost – benefit analyses. These methods are also involving the hazard and vulnerability analysis, as well as the calculation of societal and individual risk.

Firstly, this research aims to point out risk management methodology that would be useful for transport network industries to decide which mitigation measures to implement on the existing pipelines with the minimum cost in an acceptable level of risk.It also focuses on the development of a general framework of a risk assessment and network management method that deals with the failures of the main system network due to various parameters (external and internal) and the next step is to quantify the network failure impact in four key areas: human factor, environment, infrastructure and economic activity of the network company.

The main goal of the research is the development of a mathematical cost – benefit model that minimizes the consequences of an accident in the network and at the same time is optimizing the resource allocation of countermeasures that increase the safety level of the networks' function.

In recent years, the distribution and transport networks such as railways and natural gas network have been extended through the European Union. The level of security is the key parameter for the smooth function of these systems because such networks often cross densely populated cities, industrial areas, farms and environmentally sensitive areas. Therefore, various hazards – natural disasters, third party activity, material faults and human factor may disrupt their operation. So, the need for the safe operation of these networks is undeniable and that is the reason why there are significant concerns about the risk arising from the possible failure and the consequences for passengers, citizens, the environment and on critical infrastructure in social and economic level.

The proposed model is applied to the railway network of Greece. In order to minimize the possibility of failure hazard and risk level, as well as to increase the safety level of the railway network, Europe has developed safety standard, the application of which requires significant capital investment. However, accidents on the rail network cannot be ignored and attention must be paid to efficient and economical network management.

Initially, the risk assessment indicators (safety indicators) of the railway network were identified and a statistical analysis of historical accident data for the Greek rail (period 2004 – 2013) was performed. Examples of these indicators are annual indicators per accident category (relative frequency of accidents per category) that equals to the total of accidents per category for all train kilometers and passenger kilometers. Also, the contribution of various causes (e.g. human factor, rolling stock) to rail accident and the risk (R) for each accident category and rail user (FWSIs/annum) category was calculated.

Moreover, a probabilistic risk assessment of rail accident was performed in order to estimate the trend line of accidents and the distribution of variables (e.g. accidents, deaths) applying regression models whereat to assess the frequency of accidents. Because the frequency of accidents is in fact distinct and non-negative, the Poisson regression is more appropriate than the multiple linear regression models.

Although the Poisson distribution is the most appropriate model to include the characteristics of an accident, it has limitations. One of them is that the data range is limited and must be equal to the average. In many applications, the count data adds extra variation or over-dispersion. This is because the variation of the data is generally greater than the median, therefore, the parameter which is estimated by the Poisson model may be biased. To solve the problem of hyperdispersant, various researchers have suggested the application of the binomial regression model.

In summary, the methodology of probabilistic approach of network risk assessment involves the following steps:

1. Determination of frequency of initiating events (estimated voltage accidents, reliability estimation)
2. Determination of the causes for the initiating events with tree analysis (FTA)
3. Assessment of uncertainty

4. Analysis of the impact of accidents (deaths, injuries, economic, environmental impacts). The model (ETA) estimates the expected number of deaths by applying probabilistic approach that incorporates available deterministic data.
5. Calculation of the expected level of risk (e.g. FWSI / passenger-km-year) for the total of accidents and for each category of railway accidents.

The above methodology was applied for accidents at level crossings in Greek railway network due to the fact that, based on the statistical analysis, they present the greater frequency. In the scenarios drawn up, FTA model was applied, to obtain a more reliable picture of the accident likelihood (risk) and a ETA model for calculating vulnerability and probability parameters, in order to quantify the impact of the events. Also, the analysis of scenarios took place with the implementation of bow – tie diagrams too.

Finally the cost - benefit model aims to minimize the impact of failure and optimize the allocation of resources so to increase the operational safety level and reduce the risk of the network's failure. The impact of the scenarios is expressed in financial terms and includes the monetary value of the overall probability to have an accident scenario in the network, reducing the risk coefficient as a function of impact and the willingness to pay (WTP) countermeasures to prevent the scenario.

Within this model, the impact of various countermeasures calculated in riskiness railway accidents applied Bayesian Networks (Si, et al., 2011, Mahboob et al., 2012). The algorithm eliminating variables consists of three steps: (1) removes elements that shape the probability distribution of Bayesian Networks maximizing independence (2) combines parts of the network to form smaller Bayesian networks so the data have more weight and (3) calculate these smaller portions of the network. The process continues until the desired distribution.

Key words: Risk assessment and management, cost – benefit analysis, railway network, rail level crossings, Bayesian networks

Three - Member Supervisory Committee

Athanasios Ziliaskopoulos, Professor, Director of Optimization Laboratory, CEO of TRAINOSE, Department of Mechanical Engineering, University of Thessaly, Greece *(supervisor)*

Constantinos Papadimitriou, Professor, Director of System Dynamics Laboratory, Department of Mechanical Engineering, University of Thessaly, Greece

Eleftherios Iakovou, Professor, Head of the School of Mechanical Engineering, Director of the Laboratory of Quantitative Analysis, Logistics and Supply Chain Management, Department of Mechanical Engineering, Aristotle University of Thessaloniki, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος « Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Giannakou, M**., Ziliaskopoulos, A. (2015). Risk Management for Natural Gas Pipeline Distribution Networks. *World Academy of Science, Engineering and Technology, International Science Index, Economics and Management Engineering*, *2*(10), 1830.

.

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες Presentations in scientific meetings – workshops

1. **Giannakou, M. M.**, Ziliaskopoulos, K. A. (2015, October). *Risk Management for Natural Gas Pipeline Distribution Networks*. Paper presented at ICEIBM 2015: 17th International Conference on Economics, Industrial and Business Management, Barcelona, Spain. Draft paper code 15ES10000781.
2. **Γιαννακού, Μ. Μ,** &, Ζηλιασκόπουλος, Κ. Α. (2015, Μάιος). *Εκτίμηση επικινδυνότητας σοβαρών ατυχημάτων σε σιδηροδρομικό δίκτυο. Η περίπτωση της Ελλάδος*. Προφορική ανακοίνωση στην Ημερίδα του Προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ», Βόλος.

   Giannakou, M. M., &, Ziliaskopoulos, K.A. (2015, May). *Risk assessment of serious railway accidents. The case of Greece*. Oral presentation at the Workshop by "Heraclitus II" program, Volos, Greece.
3. **Γιαννακού, Μ. Μ.** & Ζηλιασκόπουλος, Κ. Α. (2012, Νοέμβριος). *Μέθοδος βελτιστοποίησης καταμερισμού πόρων για ελαχιστοποίηση της επικινδυνότητας αστοχίας δικτύων*. Προφορική ανακοίνωση στην Ημερίδα του Προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ», Βόλος.

   Giannakou, M. M., & Ziliaskopoulos, K.A. (2012, November). *Optimization Method for resource allocation in order to minimize risk of network failure*. Oral Presentation at the Workshop by "Heraclitus II" program, Volos, Greece.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Μαρία Μ. Γιαννακού** αποφοίτησε το 2004, από το Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και το 2008, απέκτησε το Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης (MSc) στις «Σύγχρονες Μεθόδους Σχεδιασμού και Ανάλυσης στη Βιομηχανία», με κατεύθυνση στην οργάνωση παραγωγής και βιομηχανικής διοίκησης.

Τη περίοδο 2004 – 2006, εργάστηκε ως σύμβουλος επιχειρήσεων με αντικείμενο το σχεδιασμό και την εφαρμογή των προτύπων διασφάλισης της ποιότητας στις επιχειρήσεις καθώς και την ανάπτυξη επιχειρηματικών σχεδιασμών (business plan), στην εταιρεία Planning Α.Ε. – Θεσσαλίας.

Από το 2007 έως και το 2012, εργάστηκε ως ερευνήτρια και βοηθός διδασκαλίας στο Εργαστήριο Βελτιστοποίησης Συστημάτων στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας. Κατά το διάστημα αυτό, ασχολήθηκε με την ανάπτυξη, διαχείριση και συντονισμό ευρωπαϊκών και εθνικών ερευνητικών προγραμμάτων (FIRETOURIS, MEDIATERRA, In Mosion etc). Το 2011 εργάστηκε ως εξωτερικός σύμβουλος στην ΤΡΑΙΝΟΣΕ, σε θέματα ασφαλείας των σιδηροδρόμων και με το Κέντρο Έρευνας και Τεχνολογίας - Θεσσαλίας (CERTH) στο ευρωπαϊκό πρόγραμμα CON4COORD.

Τα ερευνητικά της ενδιαφέροντα εστιάζονται σε θέματα εκτίμησης και διαχείρισης επικινδυνότητας δικτύων (σιδηροδρομικά, αγωγών φυσικού αερίου κ.α.), καθώς και στην ανάλυση κόστους – οφέλους των αντιμέτρων προστασίας των δικτύων από διάφορες απειλές (φυσικές ή τεχνολογικές).

E-mail: mariagigr@yahoo.gr

Short CV

Maria Giannakou received her five-year Diploma in Mechanical Engineering from the Department of Mechanical Engineering of the University of Thessaly, in 2004. She received her M.Sc. degree in 2008, in “Modern Methods of Planning and Analysis in Industry” from the University of Thessaly, Greece (Department of Mechanical Engineering).

During the period 2004 – 2006, she worked as a business consultant for Planning Company, dealing with Quality Management Systems (ISO) and the development of business plans.

From 2007 until 2012, she was a researcher and academic assistant in Optimization Systems Laboratory (University of Thessaly, Department of Mechanical Engineering). During this period, she worked on the development, management and coordination of European and National research funded programmes (FIRETOURIS, MEDIA TERRA, InMosion etc). In 2011, she co-operated, as a consultant, with TRAINOSE (Railway Operator in Greece) dealing with railway management safety. In the same year, she worked as a consultant for CERTH (Centre for Research and Technology, Greece) in CON4COORD European project.

Her research interests focus in the field of risk management and assessment of networks (railway, natural gas networks), quantitative risk assessment and cost – benefit analysis for the implementations of countermeasures, in order to elevate the risk safety level of networks from natural and technological threats.

E-mail: mariagigr@yahoo.gr

Κωνσταντίνος Ευθυμίου

Αλληλεπίδραση φυσαλίδων με ελαστικό περίβλημα (Contrast Agents) με γειτονικό τοίχωμα παρουσία ακουστικών διαταραχών

Περίληψη

Μικροφυσαλίδες με ελαστικό περίβλημα (Contrast Agents, μικροφυσαλίδες CA ή CA' s για συντομία) χρησιμοποιούνται εκτενώς τα τελευταία χρόνια σε εφαρμογές της βιοϊατρικής, για την καλύτερη απεικόνιση της κυκλοφορίας του αίματος σε περιοχές γύρω από ζωτικά όργανα, π.χ. καρδιά, συκώτι, όπου είναι δύσκολο να γίνει αυτό με συμβατικές μεθόδους. Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι τα λιπίδια, που συνήθως αποτελούν το κέλυφος, μπορούν να καλυφθούν με πρωτεΐνες ή αντιβιοτικά, ώστε να προσεγγίσουν συγκεκριμένους στόχους στους ιστούς μέσω της μικροκυκλοφορίας.

Οι μικροφυσαλίδες αυτές, όταν ενεργοποιηθούν μέσω ακουστικής διαταραχής, λόγω του ότι είναι μη γραμμικοί ταλαντωτές, μπορούν να χρησιμοποιηθούν με διάφορους τρόπους:

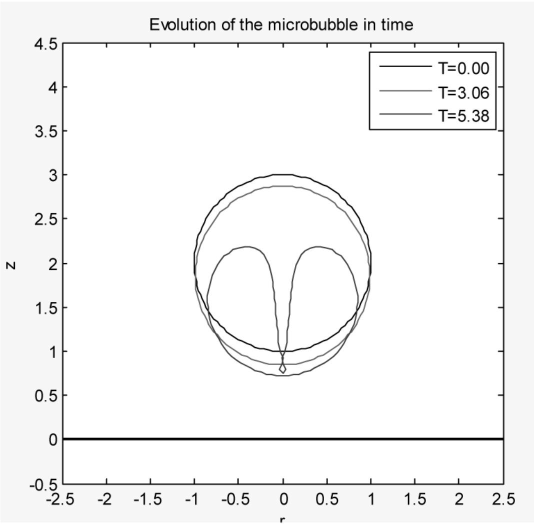
i. Αυξάνουν την αντίθεση (contrast) μεταξύ της κυκλοφορίας του αίματος και των γειτονικών ιστών στο σκεδαζόμενο σήμα. Έτσι, η κατανομή μικροφυσαλίδων στο χώρο συσχετίζεται με τη μορφολογία των ιστών και χρησιμοποιείται π.χ. για την ανίχνευση όγκων και για την παρακολούθηση των κοιλιακών τοιχωμάτων της καρδιάς, μεταξύ άλλων.
ii. Συνδυάζοντας ακουστικές διαταραχές μικρού μηχανικού δείκτη (Mechanical Index) $MI = \dfrac{\overline{p}_{Ac}}{\sqrt{f}}$, όπου f η συχνότητα της διαταραχής και $\overline{p}_{Ac}$ το πλάτος της, για την ενεργοποίηση και ανίχνευση των φυσαλίδων, με παλμούς μεγάλου MI για την καταστροφή τους, μπορεί κανείς να εκτιμήσει το ρυθμό αντικατάστασής τους και συνεπώς να έχει μία ποσοτική εκτίμηση της τροφοδοσίας μιας περιοχής μέσω της κυκλοφορίας του αίματος (contrast perfusion imaging).
iii. Ο υπέρηχος χρησιμεύει στην επιτάχυνση της απελευθέρωσης των μακρομορίων από την επιφάνεια των μικροφυσαλίδων και τη μετέπειτα σύνδεσή τους με προβληματικούς ιστούς, π.χ. ανίχνευση των φλεγμονών των αιμοφόρων αγγείων (angiogenesis) και της αθηρωματικής πλάκας. Επιπλέον, λόγω της τοπικής μικροκυκλοφορίας που δημιουργείται, οι γειτονικοί ιστοί ανοίγουν και είναι πιο δεκτικοί σε μεταφερόμενα φάρμακα, τα οποία επίσης απελευθερώνονται από τις μικροφυσαλίδες (targeted drug delivery & sonoporation).

Η επίδραση γειτονικών τοιχωμάτων ή άλλων φυσαλίδων έχει μελετηθεί θεωρητικά και υπολογιστικά στη βιβλιογραφία για την περίπτωση φυσαλίδων χωρίς ελαστικό περίβλημα. Οι παραπάνω μελέτες αφορούν κυρίως στη δευτερογενή δύναμη Bjerknes και κατά πόσον αυτή μεταβάλλεται αναλόγως της απόστασης, της διαφοράς φάσης, του πλάτους ταλάντωσης και του ιξώδους του περιβάλλοντος ρευστού. Οι θεωρητικές μελέτες ισχύουν για σχετικά μεγάλες αποστάσεις μεταξύ των φυσαλίδων ή της φυσαλίδας και του τοιχώματος, ενώ οι υπολογιστικές χρησιμοποιούν κυρίως τη μέθοδο των συνοριακών στοιχείων (boundary integral method), που βασίζεται στη θεωρία δυναμικής ροής, για τον υπολογισμό της κίνησης και παραμόρφωσης φυσαλίδων, όταν μπορούν να αγνοηθούν οι ιξώδεις δυνάμεις από τη μεριά του ρευστού. Το βασικό εύρημα τέτοιων μελετών αφορά την έλξη/άπωση μεταξύ δύο μικροφυσαλίδων ή μίας μικροφυσαλίδας και γειτονικού στερεού τοιχώματος, ανάλογα με το αν έχουμε ταλαντώσεις σε φάση ή εκτός φάσης. Σχετικά με την αλληλεπίδραση φυσαλίδας με ελεύθερη επιφάνεια ή στερεό τοίχωμα, παλαιότερες μελέτες με τη μέθοδο των συνοριακών στοιχείων έδειξαν ότι ενώ κοντά σε στερεό τοίχωμα η φυσαλίδα πάντα προσεγγίζει το τοίχωμα, όταν αλληλεπιδρά με ελεύθερη επιφάνεια μπορεί να απομακρύνεται από αυτήν αναλόγως της αρχικής απόστασης. Πρόσφατα η μέθοδος των συνοριακών στοιχείων χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό της αλληλεπίδρασης φυσαλίδας με υλικό που παρουσιάζει ελαστική συμπεριφορά και έδειξε ότι αυτό επηρεάζει σημαντικά την ευστάθεια της φυσαλίδας, καθώς και τον μηχανισμό κατάρρευσής της.

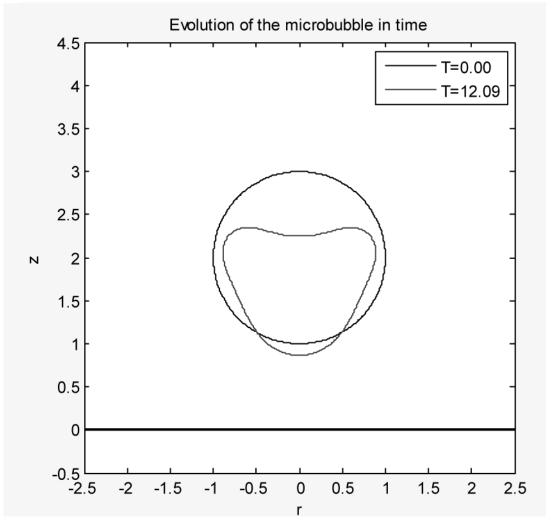
Η συγκεκριμένη διδακτορική διατριβή αφορά στη μελέτη της αλληλεπίδρασης μικροφυσαλίδας (ακτίνα της τάξης 1 έως 6 μm), που περιβάλλεται από ελαστικό κέλυφος, με γειτονικό τοίχωμα. Η μικροφυσαλίδα

εκτελεί ταλαντώσεις υπό την επίδραση ακουστικής διαταραχής στο φάσμα συχνοτήτων των υπερήχων (1-10 MHz), ενώ το τοίχωμα μπορεί να έχει ελαστική συμπεριφορά. Για το σκοπό αυτό, αναπτύχθηκε αριθμητική μεθοδολογία συνοριακών στοιχείων για την επίλυση της αλληλεπίδρασης μεταξύ φυσαλίδας και τοιχώματος, θεωρώντας αξονική συμμετρία και ελαστικό κέλυφος για τη μικροφυσαλίδα, ενώ έγινε η παραδοχή ότι το τοίχωμα έχει άπειρο μήκος σε σχέση με την ακτίνα της φυσαλίδας. Έγινε υπολογισμός του πεδίου ροής μέσω της συνάρτησης δυναμικού, θεωρώντας αστρόβιλη ροή στο περιβάλλον ρευστό. Λόγω της γραμμικότητας της Λαπλασιανής που προκύπτει, αυτή αντικαθίσταται από μια ολοκληρωτική εξίσωση πάνω στις δύο διεπιφάνειες, μικροφυσαλίδας και τοιχώματος, που συνδέει το δυναμικό με την κάθετη συνιστώσα της ταχύτητας. Επιβλήθηκαν δύο ειδών διαταραχές πίεσης στο περιβάλλον ρευστό, βηματική αλλαγή και αλλαγή της πίεσης ημιτονοειδούς μορφής. Για το κέλυφος χρησιμοποιήθηκαν δύο καταστατικοί νόμοι, Mooney-Rivlin (για ψευδοπλαστικά κελύφη) και Skalak (για διασταλτικά κελύφη). Μελετήθηκε η επίδραση της αρχικής απόστασης μεταξύ φυσαλίδας και τοιχώματος καθώς επίσης και του πλάτους της εξωτερικής διαταραχής της πίεσης στη συμπεριφορά της πρώτης. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε παραμετρική μελέτη για τον τρόπο που επιδρούν οι ιδιότητες του κελύφους, όπως π.χ. το διασταλτικό ιξώδες, το μέτρο ελαστικότητας και το μέτρο δυσκαμψίας στην απόκριση της μικροφυσαλίδας, ενώ, τέλος, παρατηρήθηκε και η επιρροή της επιφανειακής τάσης στο αρμονικό περιεχόμενο της φυσαλίδας. Παράλληλα, αναπτύχθηκε αριθμητική μεθοδολογία για την αλληλεπίδραση φυσαλίδας χωρίς ελαστικό περίβλημα με γειτονικό τοίχωμα και έγινε σύγκριση των αντίστοιχων αποτελεσμάτων, με στόχο να καταδειχθεί η σημασία του κελύφους στη συμπεριφορά της μικροφυσαλίδας.

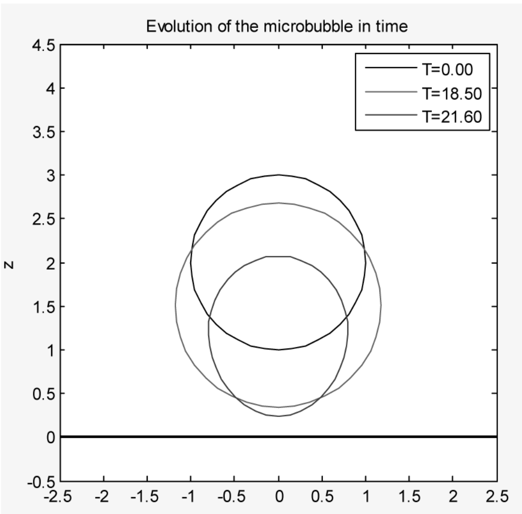
Τα αποτελέσματα των προσομοιώσεων για την περίπτωση της αλληλεπίδρασης φυσαλίδας με ελαστικό περίβλημα με γειτονικό στερεό τοίχωμα έδειξαν ότι η πρώτη προσεγγίζει το τοίχωμα. Για μικρότερες αποστάσεις μεταξύ τους, η έλξη είναι μεγαλύτερη. Για βηματική αλλαγή της πίεσης στο περιβάλλον ρευστό, οι ταλαντώσεις της φυσαλίδας αποσβένουν λόγω του διασταλτικού ιξώδους του κελύφους της και συνεπώς η μεταφορική ταχύτητα της φυσαλίδας παραμένει σταθερή. Για ημιτονοειδή αλλαγή της πίεσης, το πλάτος των ταλαντώσεων όγκου δεν μεταβάλλεται σημαντικά καθώς η φυσαλίδα πλησιάζει στο τοίχωμα και κατά συνέπεια το επανασκεδαζόμενο σήμα δεν επηρεάζεται. Η μεταφορική ταχύτητα αυξάνεται, λόγω της ανάπτυξης δευτερογενών δυνάμεων Bjerknes. Η αρχική απόσταση μεταξύ φυσαλίδας και τοιχώματος επηρεάζει την ανάπτυξη ιδιομορφών σχήματος της πρώτης. Στην περίπτωση φυσαλίδας χωρίς ελαστικό περίβλημα, η μεταφορική ταχύτητα αυξάνεται συνεχώς και για τα δύο είδη επιβαλλόμενης αλλαγής της πίεσης, λόγω της συνεχούς ταλάντωσής της, ενώ στα τελευταία στάδια της προσομοίωσης, παρατηρείται δημιουργία υγρής δέσμης υψηλής ταχύτητας (jet), λόγω μεγάλης κινητικότητας του ρευστού στην πλευρά της φυσαλίδας μακριά από το τοίχωμα (Σχήμα 1). Αντιθέτως, στην περίπτωση των Contrast Agents, η ύπαρξη ελαστικού περιβλήματος εμποδίζει τη δημιουργία jet λόγω της ιξωδοελαστικότητάς του, επιδεικνύοντας παραμορφώσεις σχήματος χωρίς να επιτρέπει μεγάλες επιμηκύνσεις (Σχήμα 2). Στα τελευταία στάδια της προσομοίωσης δημιουργούνται περιοχές με πολύ υψηλές ιξώδεις τάσεις στο κέλυφος κατά τη φάση συμπίεσης, προκαλώντας την κατάρρευσή του. Η αύξηση του διασταλτικού ιξώδους του κελύφους επηρεάζει τη συμπεριφορά της φυσαλίδας της οποίας η παραμόρφωση, κατά τη φάση συμπίεσης, έχει προσανατολισμό κάθετα στο τοίχωμα (Σχήμα 3). Η αύξηση της καμπτικής σταθεράς δεν επιτρέπει μεγάλες παραμορφώσεις του κελύφους, προσδίδοντάς του μεγαλύτερη αντοχή σε καμπτικές ροπές. Η αύξηση του μέτρου ελαστικότητας του κελύφους «σκληραίνει» το περίβλημα, με αποτέλεσμα το πλάτος ταλάντωσης της φυσαλίδας να μειώνεται. Επίσης, καθοριστικό ρόλο στη συμπεριφορά της φυσαλίδας παίζει ο καταστατικός νόμος για τις τάσεις και τις παραμορφώσεις του κελύφους. Τα ψευδοπλαστικά κελύφη (νόμος Mooney-Rivlin) παραμένουν σχεδόν σφαιρικά στο τμήμα τους που βρίσκεται εγγύτερα στο τοίχωμα, ενώ παραμορφώνονται έντονα στο τμήμα μακρύτερα του τοιχώματος (Σχήμα 2). Αντιθέτως, τα διασταλτικά κελύφη (νόμος Skalak) παραμορφώνονται στο τμήμα που αντικρίζει το τοίχωμα, ενώ το πίσω παραμένει σφαιρικό (Σχήμα 4). Τέλος, η αύξηση της επιφανειακής τάσης στη διεπιφάνεια φυσαλίδας-ρευστού δεν επιτρέπει την ανάπτυξη υψηλότερων ιδιομορφών στην παραμόρφωση της φυσαλίδας.



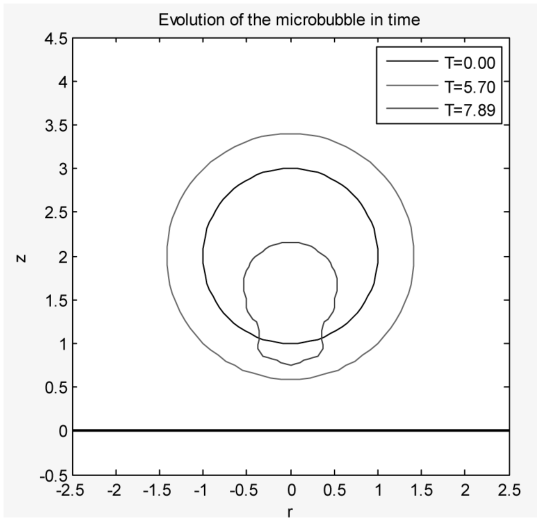
Σχήμα 1: *Φυσαλίδα χωρίς περίβλημα. Δημιουργία jet*



Σχήμα 2: *Φυσαλίδα με περίβλημα. Παραμόρφωση σχήματος. (Ψευδοπλαστικό κέλυφος)*



Σχήμα 3: *Φυσαλίδα με περίβλημα. Παραμόρφωση με προσανατολισμό κάθετο στο τοίχωμα*



Σχήμα 4: *Φυσαλίδα με περίβλημα. Παραμόρφωση σχήματος. (Διασταλτικό κέλυφος)*

Λέξεις κλειδιά: Φυσαλίδες υπερήχων, Μέθοδος Συνοριακών Στοιχείων, Αλληλεπίδραση φυσαλίδας με τοίχωμα

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Νικόλαος Πελεκάσης, Καθηγητής, Υπολογιστική Ρευστοδυναμική, Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας (*επιβλέπων*)

Αθανάσιος Παπαθανασίου, Αναπληρωτής Καθηγητής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Διεργασίες Διαμόρφωσης και Ροϊκές Ιδιότητες Πολυμερών Σύνθετων Μέσων, Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Βασίλειος Σμπόρος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Δυναμική Ρευστών, Επεξεργασία Σήματος και Εικόνας, Προκλινική Έρευνα, Ινστιτούτο Βιοχημείας, Βιοφυσικής και Εμβιομηχανικής, Πανεπιστήμιο Heriot Watt, Εδιμβούργο, Σκωτία, Ηνωμένο Βασίλειο

Konstantinos Efthimiou

Interaction of bubbles with elastic integument (Contrast Agents) with an adjacent wall in the presence of acoustic disturbances

Abstract

Microbubbles with elastic integument (a.k.a. Contrast Agents or CA) are widely used in biomedical applications for better perfusion imaging in regions around vital organs (e.g. Heart, Liver) where it's difficult to be done with the conventional methods. Furthermore, it has been found out that lipids, which usually form the shell of the microbubble, can be covered by proteins or antibiotics to reach specific targets in tissues through the microcirculation.

These microbubbles are non-linear oscillators when are insonated by acoustic disturbances and they can be used in different ways:

i. They enhance the contrast between the blood circulation and the adjacent tissues in the backscatter signal. Thus, the distribution of microbubbles in space is correlated with the tissue morphology and is used, for example, in tumor detection or monitoring abdominal walls, amongst others.

ii. Combining acoustic disturbances of small Mechanical Index: $MI = \frac{\bar{p}_{Ac}}{\sqrt{f}}$, where f : the forcing frequency and $\bar{p}_{Ac}$: its amplitude, for activation and detection of bubbles, with pulses of large MI for their destruction, one can estimate their replacement rate and therefore quantify the perfusion of a region through the blood circulation (Contrast Perfusion Imaging).

iii. Ultrasounds are useful in accelerating the release of macromolecules from the surface of the microbubbles and in their subsequent connection with the targeted tissues, e.g. detection of inflammation of blood vessels (angiogenesis) and atheromatous plaque. Furthermore, due to the local microcirculation, the nearby tissues open and become more receptive to transported drugs which are also released from the microbubbles (targeted drug delivery & sonoporation).

The effect of nearby tissues or adjacent bubbles has already theoretically and computationally been studied in the literature for the case of bubbles without elastic integument. These studies mainly concern the secondary Bjerknes force and whether it varies depending on the distance, the phase difference, the amplitude and the viscosity of the surrounding fluid. The theoretical studies are valid for relatively large distances between microbubbles or bubble - wall while the computational ones mainly use the Boundary Element Method (boundary integral method) which is based on potential flow theory for the computation of movement and deformation of the microbubbles, when viscous forces can be neglected. The main finding of these studies concern the attraction or repulsion between two bubbles or a bubble and the adjacent wall, depending on whether there are oscillations in phase or out of phase. On the interaction of microbubble - rigid wall or microbubble - free surface, earlier studies, via Boundary Element Method, have shown that in the first case the microbubble always approaches the rigid wall while in the second case, it may move away from the free surface depending on the initial distance. Recently, the boundary element method was used to calculate the bubble interaction with a material exhibiting elastic behaviour and showed that the latter significantly affects the stability of the bubble and its collapse mechanism.

The dissertation studies the interaction between a microbubble (radius of order 1 - 6μm) surrounded by elastic shell and an adjacent wall. The microbubble performs oscillations due to acoustic disturbance in the frequency range of ultrasounds (1 - 10 MHz), while the adjacent wall may exhibit elastic behaviour. To this end, a numerical methodology of boundary elements has been developed, in order to study the interaction between a bubble and a wall assuming axisymmetry and an elastic shell that surrounds the microbubble, while the adjacent wall is far larger than the bubble's radius. The computation of the velocity field is done via the potential function, assuming potential flow in the surrounding fluid. Due to linearity of the Laplacian equation, it is replaced by a boundary integral equation on the interfaces of the bubble and the wall, which correlates the velocity potential with the normal velocity of the aforementioned interfaces. Two different kinds of disturbances were imposed in the pressure field of the surrounding fluid, step and sinusoidal change. Two constitutive laws were used, Mooney-Rivlin (for strain-softening shells) and Skalak (for strain-hardening shells). The effect of initial distance between the bubble and the

wall was studied, as well as the effect of amplitude of the acoustic disturbance in the behaviour of the microbubble. Furthermore, a parametric study was conducted, in order to determine the influence of the shell's properties, such as the dilatational viscosity, elastic modulus and the bending modulus, in the response of the microbubble while the effect of the surface tension in the harmonic content of the bubble was studied. At the same time, a numerical methodology was developed to study the interaction between an uncoated bubble and a wall and the results were compared with the corresponding ones from CAs, aiming to demonstrate the importance of bubble's shell in the behaviour of the microbubble.

In the case of interaction between CA and a rigid wall, the simulations' results showed that the microbubble approaches the wall. For smaller distances, the attraction is stronger. For step change in the pressure field of the surrounding fluid, the oscillations of the bubble are dumped by the dilatational viscosity of its shell and therefore the translational velocity remains constant. For sinusoidal change in the pressure field, the amplitude of the bubble's volume oscillations is not significantly altered and thus the backscatter signal is not affected. However, the translational velocity increases due to the secondary Bjerknes forces. The initial distance between the microbubble and the wall affects the shape modes growth. In the case of an uncoated bubble, the translational velocity is constantly increasing for both kinds of pressure change due to its continuous oscillations, while at the late stages of the simulation, the greater mobility of the fluid away from the boundary causes the surface of the bubble there to collapse faster than elsewhere, leading to the formation of a liquid jet that traverses the bubble and ultimately impacts upon the far side of the bubble (Figure 1). On the contrary, in the case of a CA, formation of jet is suppressed due to the presence of the viscoelastic shell and it exhibits a deformed shape without permitting extreme elongations (Figure 2). At the late stages of the simulation, areas of high viscous stresses emerge during the compression phase of the pulsation, causing the microbubble's collapse. The increase of dilatational viscosity affects the bubble's behaviour, the deformation of which has an orientation perpendicular to the wall (Figure 3). Higher values of bending modulus result in not permitting large shell deformations and make the bubble more resistant to bending moments. The increase of elastic modulus "hardens" the shell reducing the amplitude of the bubble's oscillations. The constitutive law of the shell is also very important in the behaviour of the microbubble. Strain-softening shells (Mooney-Rivlin law) remain almost spherical in their region nearest to the wall, while they are deformed in the aft region (Figure 2). On the contrary, strain-hardening shells are deformed in their prow region while they remain spherical in their aft region (Figure 4). Finally, the increase of surface tension of the bubble-liquid interface does not permit the evolution of higher eigenmodes in the deformation of the microbubble.

Key words: Ultrasound Contrast Agents, Boundary elements, Bubble Wall interaction

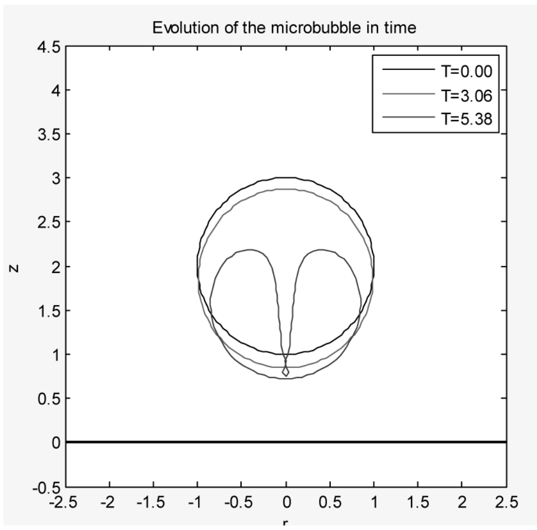


Figure 1: Uncoated microbubble. Jet formation.

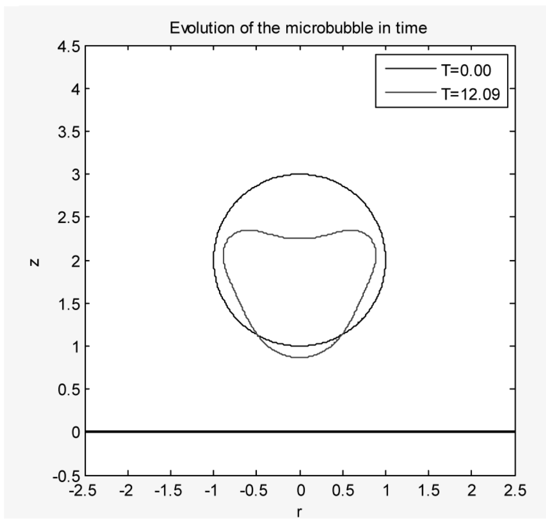


Figure 2: Coated bubble. Shape deformation. (Strain-softening shell)

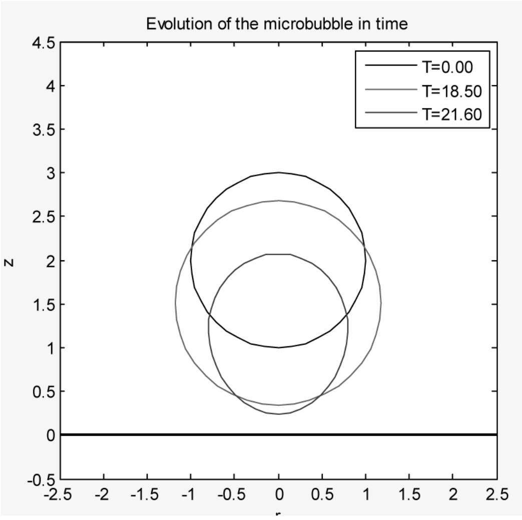


Figure 3: Coated bubble. Deformation with an orientation perpendicular to the wall.

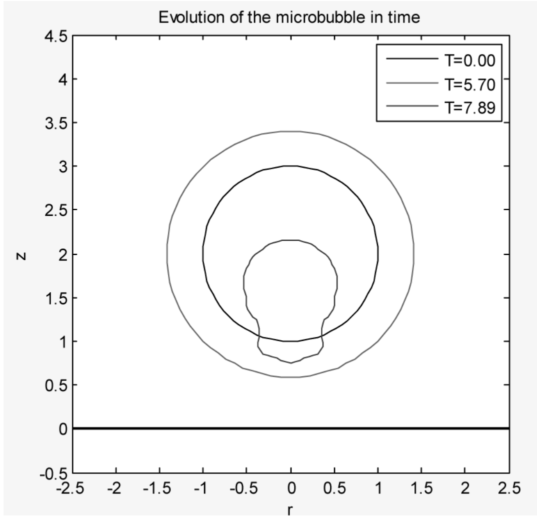


Figure 4: Coated bubble. Shape deformation. (Strain-hardening shell)

Three - Member Supervisory Committee

Nikolaos Pelekasis, Professor, Computational Fluid Dynamics, Department of Mechanical Engineering University of Thessaly, Greece *(supervisor)*

Athanasios Papathanasiou, Associate Professor, Molding Processes and Rheological Properties of Polymer Composite Media, Department of Mechanical Engineering University of Thessaly, Greece

Vasilios Sboros, Reader (Associate Professor), Fluid dynamics, Signal and Image Processing, Preclinical Research, Institute of Biological Chemistry, Biophysics and Bioengineering, Heriot Watt University, Edinburgh, Scotland

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Publications within the programme “Heraclitus II”

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων –βιβλία περιλήψεων Publications in conference proceedings-books of abstracts

1. **Ευθυμίου, Κ.**, & Πελεκάσης, Ν. (2014). Απόκριση αξονοσυμμετρικής μικροφυσαλίδας σε ακουστικές διαταραχές κοντά σε γειτονικό τοίχωμα. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Ε.Μ.Π., *9ο Πανελλήνιο Συνέδριο «Φαινόμενα Ροής Ρευστών»* (σελ. 512-519). Αθήνα: Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Σχολή Μηχανολόγων Μηχανικών.

   Efthymiou, K., & Pelekasis, N. (2014). Response of an axisymmetric microbubble insonated by acoustic disturbances near an adjacent wall. N.T.U.A. Press, *9th National Conference “Fluid Flow Phenomena* (pp. 512-519). Athens, Greece: National Technical University of Athens, School of Mechanical Engineering.

2. **Ευθυμίου, Κ.**, Τσιγκλιφής, Κ. & Πελεκάσης, Ν. (2012). Απόκριση αξονοσυμμετρικής μικροφυσαλίδας σε ακουστικές διαταραχές. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Θεσσαλίας, *8ο Πανελλήνιο Συνέδριο «Φαινόμενα Ροής Ρευστών»* (σελ. 64-65). Βόλος: Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών.

   Efthymiou, K., Tsiglifis, K. & Pelekasis, N. (2012), Response of an axisymmetric microbubble insonated by acoustic disturbances. University of Thessaly Press, *8th National Conference “Fluid Flow Phenomena”* (pp. 64-65). Volos, Greece: University of Thessaly, Department of Mechanical Engineering.

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες
Presentations in scientific conferences and meetings-workshops

1. **Efthymiou, K.** & Pelekasis,N. (2015, July). *Acoustic interaction between a coated microbubble and a rigid boundary*. Paper presented at 8th International Congress on Computational Mechanics, Volos, Greece.
2. **Efthymiou, K.** & Pelekasis, N. (2015, January). *Acoustic interaction between a coated microbubble and a rigid boundary*. Paper presented at 20th European Symposium on Ultrasound Contrast Imaging, Rotterdam, Netherlands.
3. **Efthymiou, K.** & Pelekasis, N. (2014, May). *Acoustic interaction between a coated microbubble and a rigid boundary*. Paper presented at 1st International Conference on Micro & Nanofluidics, Twente, Netherlands.
4. **Efthymiou, K.** & Pelekasis, N. (2013, July). *Acoustic interaction between a coated microbubble and a nearby surface – Steady pulsations vs. transient break-up*. Paper presented at 5th BIFD International Symposium, Haifa, Israel.
5. **Efthymiou, K.**, Tsiglifis, K., Serpetzi, S. & Pelekasis, N. (2012, September). *Static and dynamic analysis of Contrast Agents – Parameter estimates and the effect of constitutive law*. Paper presented at 9th European Fluid Mechanics Conference, Rome, Italy.

Σύντομο βιογραφικό σημείωμα

Ο **Κωνσταντίνος Ευθυμίου** γεννήθηκε και μεγάλωσε στη Θεσσαλονίκη. Αποφοίτησε από το 1ο Γενικό Λύκειο Θεσσαλονίκης. Είναι πτυχιούχος Τεχνολόγος Μηχανικός Οχημάτων από το Τμήμα Οχημάτων της Σχολής Τεχνολογικών Εφαρμογών του Αλεξάνδρειου Τεχνολογικού Εκπαιδευτικού Ιδρύματος Θεσσαλονίκης και κάτοχος άδειας ασκήσεως επαγγέλματος Τεχνολόγου Μηχανικού Αυτοκινήτων. Επίσης, είναι κάτοχος Διπλώματος Μηχανολόγου Μηχανικού της Πολυτεχνικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, καθώς επίσης και Μεταπτυχιακού Διπλώματος Εξειδίκευσης με τίτλο «Σύγχρονες Μέθοδοι Σχεδιασμού και Ανάλυσης στη Βιομηχανία» από το ίδιο τμήμα.

Την περίοδο 3/2003 – 3/2004, εργάστηκε στην Ελληνική Βιομηχανία Οχημάτων Α.Β.Ε. (ΕΛ.Β.Ο.) που εδρεύει στη Βιομηχανική Περιοχή της Θεσσαλονίκης (Βι.Πε.Θ.), έξω από τη Σίνδο. Το πρώτο διάστημα απασχολήθηκε στο τμήμα ανακατασκευών βαρέων οχημάτων και κατόπιν στο τμήμα ποιοτικού ελέγχου για τη διασφάλιση της συναρμογής των μηχανολογικών εξαρτημάτων κατά την τοποθέτησή τους στα οχήματα. Έχει εκπληρώσει τις στρατιωτικές του υποχρεώσεις υπηρετώντας στο Στρατό Ξηράς, στο Σώμα Τεχνικού, ως Μηχανικός Ερπυστριοφόρων Οχημάτων.

Ομιλεί Αγγλικά και Γερμανικά, γνωρίζει προγραμματισμό σε γλώσσες, όπως Fortran, C++, Basic, Matlab και Mathematica, χειρίζεται λειτουργικά συστήματα MSWindows, Linux και MS-DOS καθώς επίσης και πακέτα λογισμικού, όπως MS Office, ANSYS Fluent, AutoCAD, Arena, SPSS και Minitab.

Από την ακαδημαϊκή χρονιά 2010-11 έως και σήμερα, συμμετέχει επικουρικά στη διδασκαλία των προπτυχιακών μαθημάτων: «Μηχανική Ρευστών Ι» και «Υπολογιστικές Μέθοδοι στην Ενεργειακή Περιοχή» του Τμήματος Μηχανολόγων Μηχανικών της Πολυτεχνικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Εκπόνησε τη διδακτορική του διατριβή στο Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, με τίτλο «Αλληλεπίδραση μεταξύ φυσαλίδων με ελαστικό περίβλημα και γειτονικού τοιχώματος παρουσία ακουστικών διαταραχών», με υποτροφία του προγράμματος διδακτορικών υποτροφιών «Ηράκλειτος ΙΙ».

Short CV

Konstantinos Efthymiou was born and raised in Thessaloniki, Greece. He graduated from the 1st High School of Thessaloniki. He holds a Bachelor’s Degree in Automotive Engineering from the School of Technical Applications of Alexander Technical Educational Institution of Thessaloniki. He also holds a Diploma in Mechanical Engineering from the Department of Mechanical Engineering of the University of Thessaly as well as a Master’s Degree in “Modern design and analysis methods in industry” from the same University.

For the period 3/2003 – 3/2004, he worked in Hellenic Vehicle Industry S.A, which is located in the industrial area of Thessaloniki, near a suburb called Sindos. For a short period of time he worked in the reconstruction section of the company and afterwards, he was transferred in the quality control department. He has fulfilled his military obligations by serving in the technical division of the Greek Army, as a tracked vehicle engineer.

He speaks English and German; he has skills in programming languages (e.g. Fortran, C++, Basic, Matlab and Mathematica). He is familiar with operating systems such as MS Windows, Linux and MS-DOS and with software packages like MS Office, ANSYS Fluent, AutoCAD, Arena, SPSS and Minitab. He is a Graduate Teaching Assistant (GTA) in undergraduate courses: “Fluid Mechanics I” and “Computational Methods in Energy Sector” at the Department of Mechanical Engineering of the University of Thessaly, since March 2011.

He completed his doctoral dissertation, in the Department of Mechanical Engineering of the University of Thessaly, with the title “Interaction between bubbles with elastic integument and an adjacent wall in the presence of acoustic disturbances”, which was financed by the PhD scholarship programme “Heraclitus II”.

Αγγελική Μπρούζγου

Σχεδιασμός και Ανάπτυξη Κυψελίδων Καυσίμου με Τροφοδοσία Γλυκόζη

Περίληψη

Η ανάπτυξη των κυψελίδων καυσίμου με τροφοδοσία γλυκόζης ή των αισθητήρων γλυκόζης είναι επιθυμητή για ιατρικές εφαρμογές. Κατ' αυτόν τον τρόπο, με τις κυψέλες καυσίμου, είναι δυνατή η παραγωγή ρεύματος χρησιμοποιώντας τη γλυκόζη ως καύσιμο ή η ανίχνευση του επιπέδου της γλυκόζης στο αίμα με τους αισθητήρες γλυκόζης. Ένας αισθητήρας γλυκόζης θα μπορούσε να αναπτυχθεί με σκοπό την ανίχνευση της συγκέντρωσης της γλυκόζης στο αίμα για τη βοήθεια της θεραπείας του σακχαρώδους διαβήτη. Οι κυψέλες καυσίμου γλυκόζης με τη σειρά τους έχουν προταθεί να αντικαταστήσουν τις μπαταρίες των βηματοδοτών. Ωστόσο και οι δύο παραπάνω ιατρικές εμφυτεύσιμες συσκευές βασίζονται στην αντίδραση οξείδωσης της γλυκόζης πάνω σε ένα ηλεκτρόδιο για την παραγωγή ηλεκτρονίων (ηλεκτρικού ρεύματος). Συνεπώς, προς αυτή την κατεύθυνση, έχουν πραγματοποιηθεί πολλές προσπάθειες από τη διεθνή ερευνητική κοινότητα, αναπτύσσοντας αρχικά κυψέλες καυσίμου υδρογόνου με ένζυμα και μικρόβια ως καταλύτες. Οι ενζυματικοί καταλύτες παρείχαν σταθερότητα ως προς την κατάλυση της γλυκόζης, αλλά λόγω της ευαίσθητης φύσης τους δεν παρείχαν μακράν διάρκεια ζωής. Κατά συνέπεια, καταλύτες – μέταλλα άρχισαν να αναπτύσσονται και να διερευνώνται για την ηλεκτροκατάλυση της γλυκόζης. Ανάμεσα σ' αυτούς, έχουν εκτενώς μελετηθεί καταλύτες λευκόχρυσου [1-6], χρυσού [7-11], υαλώδους άνθρακα[12, 13], κοβαλτίου, ροδίου και ιριδίου [12 -15], νικελίου και παλλαδίου[12, 13, 15], χαλκού και αλουμινίου [12, 13], πορφυρίνες κοβαλτίου, μαγνησίου και σιδήρου [12]. Η αντίδραση της γλυκόζης μελετήθηκε σε όξινο [16], ουδέτερο [16, 17] αλλά και σε βασικό περιβάλλον [18]. Στη βιβλιογραφία υπάρχουν ελάχιστες εργασίες που αφορούν στη μελέτη ηλεκτροοξείδωσης της γλυκόζης σε ηλεκτροκαταλύτες με βάση το παλλάδιο σε αλκαλικό περιβάλλον. Έχει αποδειχθεί ότι σε αλκαλικό περιβάλλον οι ηλεκτροκαταλύτες με βάση το παλλάδιο είναι πιο ενεργοί από αυτούς με βάση την πλατίνα [3, 19]. Επομένως, με τη χρήση του παλλάδιου επιτυγχάνονται ταυτόχρονα υψηλές κινητικές και χαμηλότερο κόστος του καταλύτη.

Σ' αυτή τη διδακτορική διατριβή, αρχικά πραγματοποιείται βιβλιογραφική ανασκόπηση, με σκοπό την αναζήτηση των πιο καταλυτικά ενεργών ηλεκτροκαταλυτών των κυψελών καυσίμου γενικότερα. Στη συνέχεια, έγινε εμβάθυνση της βιβλιογραφικής ανασκόπησης, περιορίζοντας τις μελέτες σε αυτές που χρησιμοποιούσαν αλκαλικό περιβάλλον. Με βάση τις διεθνείς εργασίες της βιβλιογραφικής ανασκόπησης, έχει αποδειχθεί ότι οι ηλεκτροκαταλύτες με βάση την πλατίνα είναι πιο ενεργοί σε όξινο περιβάλλον, ενώ με βάση το παλλάδιο είναι πιο ενεργοί σε αλκαλικό περιβάλλον.

Το πρώτο στάδιο στην ανάπτυξη των κυψελίδων καυσίμου είναι η αναζήτηση των πιο καταλυτικά ενεργών ηλεκτροκαταλυτών. Στη συγκεκριμένη διδακτορική διατριβή, επόμενο στάδιο μετά τη βιβλιογραφική ανασκόπηση ήταν η μελέτη της αντίδρασης της γλυκόζης σε αλκαλικό περιβάλλον σε ημιστοιχείο κυψέλης καυσίμου. Πιο συγκεκριμένα, η μελέτη πραγματοποιήθηκε στους Pd_xRu_y(20 wt%)/C, Pd_xRh_y(20 wt%)/C, Pd_xSn_y(20 wt%)/C και Pd_xAu_y(20 wt%)/C ηλεκτροκαταλύτες (κλίμακας νάνο). Επίσης, ο τελευταίος διερευνήθηκε και για λειτουργία αισθητήρα γλυκόζης. Ο πρωτότυπος τρόπος παρασκευής των προαναφερόμενων νανο –υλικών και η διερεύνησή τους ως προς την αντίδραση της γλυκόζης αποτελούν την πρωτοτυπία αυτής της διδακτορικής διατριβής. Η παρασκευή των νανο-υλικών έγινε με την τροποποιημένη με παλμικά μικροκύματα σύνθεση της πολυόλης. Ο φυσικοχημικός χαρακτηρισμός αυτών έγινε με την ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης, ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης και την περίθλαση ακτινών Χ. Επίσης, έλαβε χώρα και θερμοβαρυμετρική ανάλυση, με στόχο τη διερεύνηση της σταθερότητας του καταλύτη με αύξηση της θερμοκρασίας. Ο ηλεκτροχημικός χαρακτηρισμός διεξήχθη με τη μέθοδο της κυκλικής βολταμμετρίας και της χρονοαμπερομετρίας. Ενώ η μελέτη του καταλύτη χρυσού ως καταλύτη αισθητήρα γλυκόζης έλαβε χώρα με τη μέθοδο περιστρεφόμενου δίσκου.

Επιπλέον, μελετήθηκαν και η επίδραση της θερμοκρασίας και της συγκέντρωσης του ηλεκτρολύτη και της γλυκόζης στην κινητική της αντίδρασης. Με βάση τα αποτελέσματα, αυξάνοντας τη συγκέντρωση της γλυκόζης και του ηλεκτρολύτη το παραγόμενο ρεύμα αυξάνεται. Αυτό το φαινόμενο παρατηρήθηκε για όλους τους ηλεκτροκαταλύτες εκτός από τον Pd_xRh_y/C, όπου αύξηση της συγκέντρωσης μεγαλύτερο από 11M KOH μειώνει την καταλυτική ενεργότητα. Τέλος, η αντίδραση οξείδωσης της γλυκόζης μπορεί να λάβει χώρα μέχρι τους 40 ^{o}C. Σε υψηλότερες θερμοκρασίες παρατηρείται φθορά του διαλύματος, δημιουργώντας ένα κίτρινο με οσμή καραμέλας διάλυμα. Για θερμοκρασίες μεγαλύτερες των T>30 ^{o}C, ο PdRh/C προτείνεται για καταλύτης ανόδου, ενώ ο $Pd_{30}Au_{70}$/C για καταλύτης αισθητήρα γλυκόζης. Μελ-

λοντικές έρευνες πρόκειται να διεξαχθούν με σκοπό τη βελτιστοποίηση της μεθόδου παρασκευής των ηλεκτροκαταλυτών καθώς και την ανάπτυξη μικρών εμφυτεύσιμων κυψελίδων καυσίμου γλυκόζης.

Λέξεις – κλειδιά: αλκαλικές κυψελίδες καυσίμου, αλκαλικό περιβάλλον,κυψέλη καυσίμου, γλυκόζη, παλλάδιο

Αναφορές

[1] Q.Shen, L. Jiang, H. Zhang, Q. Min, W. Hou, J.-J. Zhu, Journal of Physical Chemistry C 112 (2008)16385 – 16392.

[2] N. Fujiwara, S.-i.Yamazaki, Z. Siroma, T. Ioroi, H. Senoh, K. Yasuda, Electrochemistry Communications 11 (2009), 390 -392.

[3] J.P. Spets, Y. Kiros, M.A. Kuosa, J. Rantanen, M.J. Lampinen, K. Saari, Electrochimica Acta 55 (2010) 7706 -7709.

[4] D. Basu, S. Basu, Electrochimica Acta 55 (2010) 5775 -5779.

[5] X. Yan, X. Ge, S. Cui, Nanoscale Research Letters 6 (2011) 313.

[6] D. Basu, S. Basu, International Journal of Hydrogen Energy 36 (2011) 14923 -14929.

[7] W. Huang, M. Wang, J. Zheng, Z. Li, Journal of Physical Chemistry C 113 (2009) 1800-1805.

[8] H. Yin, C. Zhou, C. Xu, P. Liu, X.Xu, Y. Ding, Journal of Physical Chemistry C 112 (2008) 9673-9678.

[9] Z. Liu, L. Huang, L. Zhang, H. Ma, Y. Ding, Electrochemica Acta 54 (2009) 7286 -7293.

[10] C. Jin, I. Taniguchi, Materials Letters 61 (2007) 2365 -2367.

[11] F.M. Cuevas –Muñiz, M. Guerra –Balcázar, F. Castaneda, J. Ledesma –García, L.G. Arriaga, Journal of Power Sources 196 (2011) 5853 -5857.

[12] Y.B. Vassilyev, O.A. Khazova, N.N. Nikolaeva, Journal of Electroanalytical Chemistry 196 (1985) 127 -144.

[13] Y.B. Vassilyev, O.A. Khazova, N.N. Nikolaeva, Journal of Electroanalytical Chemistry 196 (1985) 105 -125.

[14] A.J. Appleby, C. VanDrunen, Journal of the Electrochemical Society 118 (1971) 95 -97.

[15] N. Xonoglou, I. Moumtzis, G. Kokkinidis, Journal Elecroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry 237 (1987) 93 -104.

[16] K.B. Kokoh, J.M. Léger, B.Beden, C. Lamy, Electrochimica Acta 37 (1992) 1333 -1342.

[17] A. Habrioux, E.Sibert, K. Servat, W. Vogel, K.B. Kokoh, N. Alonso – Vante, The Journal of Physical Chemistry B 111 (2007) 10329 -10333.

[18] S.M. El. -Refaei, M.I. Awad, B.E.El –Anadouli, M.M. Saleh, Electrochimica Acta 92 (2013) 460 - 467.

[19] A. Ahmadalinezhad, S. Chatterjee, A.Chen, Electrochimica Acta In press corrected proof (2013).

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Παναγιώτης Τσιακάρας, Καθηγητής, Συστήματα μετατροπής ενέργειας: κατάλυση, ηλεκτροκατάλυση και μηχανική κυψελίδων καυσίμου, Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών, Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Συμεών Μπεμπέλης, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τομέας: Χημικής Τεχνολογίας & Εφαρμοσμένης Φυσικοχημείας, Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Πάτρας

Δρ. Στυλιανός Νεοφυτίδης, Α΄ Ερευνητής-Διευθυντής, Ερευνητικό Ινστιτούτο Χημικής Μηχανικής και Διεργασιών Υψηλής Θερμοκρασίας, Πάτρα

Angeliki Brouzgou

Design and Development of Direct Glucose Fuel Cells

Abstract

The development of direct glucose fuel cells or glucose sensors for the measurement of glucose concentration in the human blood is desirable for medical applications. An implantable, accurate and reliable sensor to monitor the glucose concentration in the body is desirable for treatment of diabetes mellitus. An implantable glucose-oxygen fuel cell has been proposed for artificial hearts using glucose and oxygen in the blood as the reactant. A practical fuel cell system has not yet been developed for this application, however. The electrocatalytic glucose sensor and glucose fuel cell are based on the catalytic glucose oxidation on an electrode surface which produces a current related to the concentration of glucose. Consequently, many attempts have been made mainly on the development of enzymatic and microbial glucose fuel cells. More precisely, in the past few decades most researches had been turned to the immobilization methods for enzymatic catalysts in an effort to increase the lifetime of enzymes and therefore of glucose fuel cells. Enzymatic catalysts have excellent selectivity and can produce power densities of several mW cm^{-2}. However, they have

very short lifetime, due to the fragile nature of the enzymes and poor immobilization techniques. This makes them generally unsuitable for long-term implantable applications despite having been successfully tested in-vivo. Different electrodes have been investigated for glucose electrooxidation, e.g. platinum [1-6], gold [7-11], glassy carbon [12, 13], cobalt, rhodium and iridium [12-15], nickel and palladium [12, 13, 15], copper and silver [12, 13], phthalocyanines and porphyrins complexes of cobalt, manganese and iron [12]. The reported results prove that such fuel cells present much better stability having been successfully tested in-vivo. However, the poor anode selectivity towards glucose oxidation in the presence of oxygen is still the biggest challenge for direct in-vivo glucose fuel cells. Glucose oxidation has been studied in acid [16], neutral [16, 17] and alkaline [18] solutions. In literature, there are few works [3, 19] concerning the study of glucose electrooxidation on Pd-based/C electrocatalysts, in alkaline environment. It has been proved that in alkaline environment Pd-based electrocatalysts perform much better activity than Pt-based ones due to the quicker oxidation kinetics of various alcohols electrooxidation. Additionally, the use of palladium instead of platinum automatically increases the kinetics and reduces the cost of a fuel cell.

In this PhD thesis, firstly literature review was conducted in order to identify the most efficient and studied electrocatalysts for direct-liquid proton exchange membrane fuel cells. In sequence, the literature review was continued including also the novel type of direct liquid anion exchange membrane fuel cells. Platinum was recognized as the best electrocatalyst for direct liquid-fed proton exchange membrane fuel cells, while palladium was identified as the best one for direct liquid-fed anion exchange membrane fuel cells.

The first step of design and development of fuel cells is the recognition of the most active electrocatalysts towards anode and cathode reaction. In this work binary Pd-based electrocatalysts were prepared and were investigated as anode electrocatalysts for glucose electrooxidation in half direct glucose alkaline fuel cells. Pd_xRu_y (20 wt%)/C, Pd_xRh_y (20 wt%)/C and Pd_xSn_y (20 wt%)/C are studied as anode direct glucose alkaline fuel cells' materials, while Pd_xAu_y (20 wt%)/C is investigated as glucose sensors' material. The above-mentioned electrocatalysts and the respective results are reported for first time in literature, indicating the novelty of this PhD thesis. For the preparation of the examined electrocatalysts a modified-microwave assisted polyol method was used. The physicochemical characterization of electrocatalysts was conducted by X-ray Diffraction (XRD), Transmission Electron Microscopy (TEM), Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy and Thermogravimetric Analysis (TG). The electrochemical characterization was carried out with the Cyclic Voltammetry (CV-half direct glucose alkaline fuel cell), Rotating Disk Electrode Technique (RDE) and Chronoamperometry techniques (CA). At room temperature Pd_3Sn_2/C and PdRh/C presented almost the same activity towards glucose electrooxidation; however the first one presented higher poisonous rate. Considering the activity (good activity) and poisonous-tolerance together (the highest among the examined electrocatalysts), $Pd_{30}Au_{70}$/C was chosen for being studied as glucose sensor. Moreover, the effect of glucose's, electrolyte's concentration and temperature were studied, extracting important kinetic parameters for glucose's electrooxidation reaction. Increasing glucose's and electrolyte's concentration, current density was enhanced for all the examined electrocatalysts, except for Pd_xRh_y/C ones over which for electrolyte's concentration higher than 1 M KOH current density was suppressed. Finally, glucose electrooxidation reaction current density was increased increasing temperature until 40 ^oC. For higher temperature values glucose's alkaline solution was observed to degrade, forming a dark yellow caramel line smell liquid, decreasing current density values. For T>30 ^oC, PdRh/C is suggested as anode material for glucose electrooxidation reaction, while $Pd_{30}Au_{70}$/C as glucose sensors' material. Future outlooks are the optimization of the electrocatalysts' preparation method as well as of the PdRh/C and $Pd_{30}Au_{70}$/C electrocatalysts and the development of a single direct glucose alkaline fuel cell.

Key words: direct glucose fuel cells, alkaline, pace maker, glucose, palladium

References

[1] Q. Shen, L. Jiang, H. Zhang, Q. Min, W. Hou, J.-J. Zhu, Journal of Physical Chemistry C 112 (2008) 16385-16392.

[2] N. Fujiwara, S.-i. Yamazaki, Z. Siroma, T. Ioroi, H. Senoh, K. Yasuda, Electrochemistry Communications 11 (2009) 390-392.

[3] J.P. Spets, Y. Kiros, M.A. Kuosa, J. Rantanen, M.J. Lampinen, K. Saari, Electrochimica Acta 55 (2010) 7706-7709.
[4] D. Basu, S. Basu, Electrochimica Acta 55 (2010) 5775-5779.
[5] X. Yan, X. Ge, S. Cui, Nanoscale Research Letters 6 (2011) 313.
[6] D. Basu, S. Basu, International Journal of Hydrogen Energy 36 (2011) 14923-14929.
[7] W. Huang, M. Wang, J. Zheng, Z. Li, Journal of Physical Chemistry C 113 (2009) 1800-1805.
[8] H. Yin, C. Zhou, C. Xu, P. Liu, X. Xu, Y. Ding, Journal of Physical Chemistry C 112 (2008) 9673-9678.
[9] Z. Liu, L. Huang, L. Zhang, H. Ma, Y. Ding, Electrochimica Acta 54 (2009) 7286-7293.
[10] C. Jin, I. Taniguchi, Materials Letters 61 (2007) 2365-2367.
[11] F.M. Cuevas-Muñiz, M. Guerra-Balcázar, F. Castaneda, J. Ledesma-García, L.G. Arriaga, Journal of Power Sources 196 (2011) 5853-5857.
[12] Y.B. Vassilyev, O.A. Khazova, N.N. Nikolaeva, Journal of Electroanalytical Chemistry 196 (1985) 127-144.
[13] Y.B. Vassilyev, O.A. Khazova, N.N. Nikolaeva, Journal of Electroanalytical Chemistry 196 (1985) 105-125.
[14] A.J. Appleby, C. Van Drunen, Journal of the Electrochemical Society 118 (1971) 95-97.
[15] N. Xonoglou, I. Moumtzis, G. Kokkinidis, Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry 237 (1987) 93-104.
[16] K.B. Kokoh, J.M. Léger, B. Beden, C. Lamy, Electrochimica Acta 37 (1992) 1333-1342.
[17] A. Habrioux, E. Sibert, K. Servat, W. Vogel, K.B. Kokoh, N. Alonso-Vante, The Journal of Physical Chemistry B 111 (2007) 10329-10333.
[18] S.M. El-Refaei, M.I. Awad, B.E. El-Anadouli, M.M. Saleh, Electrochimica Acta 92 (2013) 460-467.
[19] A. Ahmadalinezhad, S. Chatterjee, A. Chen, Electrochimica Acta In press corrected proof (2013).

Three – Member Supervisory Committee

Panagiotis Tsiakaras, Professor, Energy Conversion Systems: Catalysis, Electocatalysis and Fuel Cells engineering Department of Mechanical Engineering, University of Thessaly, Greece

Symeon Mpempelis, Associate Professor, Section: Chemical Technology & Applied Physical Chemistry, Department of Chemical Engineering, University of Patras, Greece

Dr. Neofytides Stylianos, A' Researcher-Director, Institute of high temperature chemical engineering, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within "Heraclitus II" programme

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. Yan, L., **Brouzgou, A.**, Liu, H., Meng, Y., Xiao, M., Tsiakaras, P., & Song, S. Glucose Electrooxidation in Alkaline Medium: Efficient and Poison-Tolerant PdAu/C Catalysts for Fuel Cell and Sensor applications.(submitted to *Applied Catalysis B:Environmental*).
2. **Brouzgou, A.**,Song, S., & Tsiakaras, P. Carbon-supported PdSn and Pd_3Sn_{2a}nodes for Glucose Electrooxidation in Alkaline Media (submitted to *Applied Catalysis B:Environmental)*.
3. **Brouzgou, A.**, Yan, A., Song, S. & Tsiakaras, P.(2014). Glucose electrooxidation over $Pd_xRh/_C$ electrocatalysts in alkaline medium. *Applied Catalysis B:Environmental*, 147, 481-489.
4. **Brouzgou, A.**, Podias,A., Tsiakaras,P. (2013). PEMFCs and AEMFCs directly fed with ethanol: a current status comparative review. *Journal of Applied Electrochemistry*, *43*(2),119–136.
5. **Brouzgou, A.**, Song, S.Q., & Tsiakaras, P. (2012). Low and non-platinum electrocatalysts for PEMFCs: Current status, challenges and prospects. *Applied Catalysis B: Environmental*, 127,371– 388.
6. Shuqin, S., Chaoxiong, H., Jinchao, L., Wang,Y., **Brouzgou, A**., & Tsiakaras, P.(2012). Two-step sequence for synthesis of efficient PtSn@Rh/C catalyst for oxidizing ethanol and intermediate products. *Applied Catalysis B: Environmental*,119– 120,227– 233.
7. Wang, Y., Chaoxiong, H., **Brouzgou, A.**, Yeru, L., Ruowen, F., Dingcai, W., Tsiakaras, P., Shuqin, S.(2012). A facile soft-template synthesis of ordered mesoporous carbon/tungsten carbide composites with high surface area for methanol electrooxidation. *Journal of Power Sources*, 200, 8-13.

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες
Presentations in scientific conferences and meetings-workshops

1. **Brouzgou, A**., Song, S., & Tsiakaras, P. (2013, December). *$Pd_xRuy/_C$ binary catalysts for glucose electrooxidation*. Paper presented at Fifth European Fuel Cell Technology & Applications Conference – Piero Lunghi Conference, Rome, Italy.
2. Podias, A., **Brouzgou, A.**, & Tsiakaras, P. (2013, December). *Performance modeling of an alkaline anion exchange membrane-based direct glucose fuel cell*. Paper presented at the Fifth European Fuel Cell Technology & Applications Conference – Piero Lunghi Conference, Rome, Italy.
3. Τζορμπατζόγλου, Φ., **Μπρούζγου, Α.**, & Τσιακάρας, Π. (2012, Σεπτέμβριος). *Ηλεκτροκαταλύτες για κυψέλες καυσίμου με τροφοδοσία υδρογόνου: παρούσα κατάσταση, προκλήσεις και προοπτικές*. Προφορική ανακοίνωση στο 1ο Περιβαλλοντικό Συνέδριο Θεσσαλίας, Σκιάθος, Ελλάδα.

   Tzorbatzoglou, F., **Brouzgou, A.**, & Tsiakaras, P. (2012, September). *Electrocatalysts for hydrogen fuel cells: current situation, challenges and perspectives*. Paper presented at 1st Environmental Conference of Thessaly, Skiathos, Greece.
4. Song, S., He, Ch., Liu, J., Wang, Y., **Brouzgou, A.**, Tzorbatzoglou, F., & Tsiakaras, P. (2012, April). *Electro-oxidation of ethanol and its intermediate products: a two-step sequence of efficient PtSn@Rh/C synthesis*. Paper presented at the Fuel Cell 2012 Science &Technology, Berlin, Germany
5. Demin, A., Gorshkov, M., Chuikin, A., **Brouzgou, A.**, Tsiakaras, P. (2012, April). *Temperature Regulation of a Solid Oxide Fuel Cell Stack: Correlation between theory and experimental results*. Paper presented at the Fuel Cell 2012 Science & Technology, Berlin, Germany.
6. **Brouzgou, A.** (2011, December). *A thermodynamic approach of the aqueous phase-glucose reforming reaction for hydrogen production: a comparative study with glycerol and ethylene glycol*. Paper presented at the European Fuel Cell-Piero Lunghi Conference & Exhibition, Rome, Italy.
7. **Brouzgou, A.**, Tzorbatzoglou, F., & Tsiakaras, P. (2011, July). *Direct alcohol fuel cells: a state-of -the - art review and future trends*.Paper presented at 3rd International Youth Conference on Energetics 2011, Leiria, Portugal.
8. **Brouzgou, A**., Tzorbatzoglou, F., & Tsiakaras, P. (2011, June). *Low and non-platinum anode electrocatalysts for PEMFC: Current status, Challenges and Prospects*. Paper presented at 9th European Symposium on Electrochemical Engineering,Chania, Crete, Greece.
9. Song, S., He.C., Liang, Y., Wu, D., **Brouzgou,A.,** & Tsiakaras, P. (2010, October). *Synthesis of ordered mesoporous carbon/tungsten carbide composites with high surface area for methanol electrooxidation*. Paper presented at the Grove Fuel Cell Symposium, Science &Technology,Zaragoza, Spain.
10. **Brouzgou, A.**, Keramida, D., & Tsiakaras, P. (2010, May). *Thermodynamic analysis of aqueous glucose reforming for hydrogen production.* Paper presented at 4th National Conference: The application of Renewable Energy Sources, Athens,Greece.
11. **Brouzgou, A.** (2009, November). Thermodynamic analysis of glucose electrooxidation. Paper presented at the European forum on electrochemical promotion of catalysis, Cuidad Real, Almagro, Spain.
12. **Brouzgou, A.** (2009, May). Glucose electrooxidation reaction in aqueous form. Paper presented at 3rd International training school on the electrochemical promotion of catalysis, Lyon, France.
13. Keramida,Th. N., **Brouzgou, A.**, Efthymiou, J. Ch., & Tsiakaras, P.E. (2009). *Hydrogen production via aqueous - phase glucose reforming: a thermodynamic approach*. Paper predented EFC09 Third European Fuel Cell Technology & Applications Conference-Piero Lunghi Conference, Rome, Italy.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Δρ. Αγγελική Μπρούζγου** γεννήθηκε στο Βόλο, το 1984. Πραγματοποίησε τις βασικές της σπουδές στη Σχολή Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, απ' όπου και αποφοίτησε το 2007, με κατεύθυνση «Σχεδιασμός χημικών αντιδραστήρων». Το 2008, σε συνέχεια της εκπαιδευτικής της κατάρτισης ολοκλήρωσε το Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών του Τμήματος Μηχανολόγων Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, με εξειδίκευση «Σύγχρονες Μεθόδους Σχεδιασμού και Ανάλυσης στη Βιομηχανία» με την εξής κατεύθυνση: Ενεργειακά Συστήματα, Βιομηχανικές Διεργασίες και Τεχνολογίες Αντιρρύπανσης.

Από το 2009 έως το 2013, εκτέλεσε τη διδακτορική της διατριβή στο Εργαστήριο Εναλλακτικών Συστημάτων Μετατροπής Ενέργειας του Τμήματος Μηχανολόγων Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Πιο συγκεκριμένα, αυτή αφορούσε στο σχεδιασμό και λειτουργία κυψελίδας καυσίμου γλυκόζης, με σκοπό την αντικατάσταση των μπαταριών των σήμερα κοινών βηματοδοτών. Ως καύσιμο θα χρησιμοποιούνταν η γλυκόζη η οποία εμπεριέχεται στο αίμα.

Σήμερα, η Δρ. Μπρούζγου Αγγελική, εργάζεται ως ερευνήτρια στο Εργαστήριο Εναλλακτικών Συστημάτων Μετατροπής Ενέργειας του Τμήματος Μηχανολόγων Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Το βασικό της ερευνητικό ενδιαφέρον εστιάζεται στην παρασκευή και χαρακτηρισμό νάνο-υλικών, στην ηλεκτροχημεία, στην κατάλυση και στην ηλεκτροκατάλυση, στις κυψελίδες καυσίμου και στους χημικούς αντιδραστήρες. Η ερευνητική της δραστηριότητα επιβεβαιώνεται από τις επιστημονικές της δημοσιεύσεις (10 σε διεθνή περιοδικά με κριτές) και από τις ετεροαναφορές (105 σε αριθμό). Ταυτόχρονα εργάζεται ως περιβαλλοντική και επιστημονική σύμβουλος.

Short CV

Dr. Brouzgou Angeliki was born in Volos, in 1984. She studied Chemical Engineering in National Technical University of Athens, Greece from where she graduated in 2007, with specialization on the "Design of Chemical Reactors". In 2008, she continued her studies in the Postgraduate Studies Programme at the Department of Mechanical Engineering of the University of Thessaly, Volos, Greece with specialization on Energy Systems, Industrial Processes and Pollution-Abatement Technologies.

From 2009 to 2013, she completed her PhD thesis (co-financed by European Union and Greece) on fuel cells field in the Laboratory of Alternative Energy Conversion Systems at the Department of Mechanical Engineering of the University of Thessaly, Volos, Greece. More precisely, her PhD studies concerned the design and operation of direct glucose fuel cells, for replacing the batteries in a common pacemaker. The fuel for the fuel cell would be the blood by itself.

Now she works as research assistant in the Laboratory of Alternative Energy Conversion Systems. Her research interests concern nanomaterials preparation methods, physicochemical characterization methods, electrochemistry, catalysis, electrocatalysis, alternative energy conversion systems, fuel cells, reactors and use and production of hydrogen from biomass. Her research work is validated by the publications in referee-international journals (10 in number) and by the hetero-citations, which count 105 in number. Additionally, her research abstracts have been accepted in more than 15 international conferences with referees. In the meantime, she is also occupied as Environmental Consultant.

Δήμητρα - Χριστίνα Παπαδιώτη

Διαχείριση των αβεβαιοτήτων σε προσομοιώσεις απόκρισης και αξιοπιστίας κατασκευών αξιοποιώντας δεδομένα μετρήσεων

Περίληψη

Αντικείμενο της διατριβής αποτελεί η ανάπτυξη μεθόδων μοντελοποίησης και διαχείρισης των αβεβαιοτήτων στη διαδικασία της προσομοίωσης κατασκευών. Έμφαση δίνεται στην ανάπτυξη ενός πιθανοτικού-στατιστικού πλαισίου για (α) την ποσοτικοποίηση των αβεβαιοτήτων που υπεισέρχονται στην επιλογή παραμετρικών μαθηματικών μοντέλων προσομοίωσης μηχανικών συστημάτων και εξωτερικών δυναμικών διεγέρσεων (β) τη διάδοση των αβεβαιοτήτων αυτών μέσω των υπολογιστικών μοντέλων πεπερασμένων στοιχείων στην πρόβλεψη των αβεβαιοτήτων μεγεθών απόκρισης και αξιοπιστίας έναντι διαφόρων οριακών καταστάσεων ασφάλειας και λειτουργικότητας μηχανικών συστημάτων. Πιθανοτικά/στοχαστικά μοντέλα χρησιμοποιούνται για την ποσοτικοποίηση των αβεβαιοτήτων, ενώ εξελιγμένες μεθοδολογίες στοχαστικής προσομοίωσης αποτελούν το βασικό εργαλείο διάδοσης των αβεβαιοτήτων μέσω των προσομοιωμάτων. Ένα ιδιαίτερα καινοτόμο στοιχείο της έρευνας αποτελεί η αξιοποίηση μετρήσεων για τη βελτίωση των μαθηματικών μοντέλων περιγραφής του μηχανικού συστήματος, των διεγέρσεων και των αβεβαιοτήτων, με βάση τη στατιστική μεθοδολογία Bayes. Οι εφαρμογές επίδειξης εστιάζουν (α) στην πιστοποίηση των μοντέλων, πρόβλεψη της αξιοπιστίας και διερεύνηση της επιρροής των αβεβαιοτήτων για κατασκευές μεγάλης κλίμακας και (β) στην πρόβλεψη κόπωσης σε ολόκληρο το φορέα μεταλλικών κατασκευών βάσει περιορισμένου αριθμού λειτουργικών μετρήσεων ταλάντωσης.

Για να καταστεί δυνατή η ανάλυση και διαχείριση των αβεβαιοτήτων σε πολύπλοκα μοντέλα κατασκευών, όπως μοντέλα με υψηλό αριθμό βαθμών ελευθερίας της τάξης των πολλών χιλιάδων, εκατοντάδων χιλιάδων ή ακόμα και εκατομμυρίων βαθμών ελευθερίας, καθώς και μοντέλα που παρουσιάζουν τοπικές μη-γραμμικότητες στη συμπεριφορά των δομικών στοιχείων, ήταν απαραίτητη η ενσωμάτωση έξυπνων τεχνικών μείωσης των επαναλαμβανόμενων χρονοβόρων διαδικασιών υπολογισμού της απόκρισης. Για το σκοπό αυτό, μεγάλο μέρος της ερευνητικής δραστηριότητας εστίασε στην ανάπτυξη αποτελεσματικών τεχνικών μείωσης των βαθμών ελευθερίας του μοντέλου του συστήματος. Είναι γνωστό ότι για γραμμικά μοντέλα η μέθοδος σύνθεσης των κατασκευαστικών συνιστωσών (Component Mode Synthesis - CMS) μπορεί να προσφέρει τα ζητούμενα πλεονεκτήματα. Όμως ο χρόνος που απαιτείται για την επίτευξη της μείωσης είναι σχετικά μεγάλος και ουσιαστικά η απευθείας εφαρμογή αναιρεί τα πλεονεκτήματα της μεθόδου σύνθεσης των κατασκευαστικών συνιστωσών. Για το σκοπό αυτό, αναπτύχθηκε καινοτόμος μέθοδος για την επίτευξη της μείωσης των βαθμών ελευθερίας για τον πολύ μεγάλο αριθμό εναλλακτικών μοντέλων με βάση την ανάλυση των κατασκευαστικών συνιστωσών ενός μόνο ονομαστικού μοντέλου του συστήματος. Η μεθοδολογία αποδείχθηκε ιδιαίτερα αποτελεσματική για τη διαχείριση αβεβαιοτήτων σε δυναμικές αναλύσεις κατασκευών μεγάλης κλίμακας. Συγκεκριμένα παραδείγματα σε μοντέλα πολύπλοκων κατασκευών εκατοντάδων χιλιάδων βαθμών ελευθερίας, όπως είναι το γραμμικό μοντέλο της γέφυρας του Μετσόβου, έδειξαν ότι ο χρόνος ανάλυσης των αβεβαιοτήτων μειώνεται από τάξη ημερών σε τάξη λίγων μόνο δευτερολέπτων, το οποίο αποτελεί δραστική μείωση του χρόνου και επιτρέπει για πρώτη φορά τη διαχείριση και εφαρμογή μεθόδων διαχείρισης, ποσοτικοποίησης και διάδοσης αβεβαιοτήτων σε πολύπλοκες κατασκευές. Η παραπάνω τεχνική μείωσης των βαθμών ελευθερίας αποτελεί πολύ σημαντικό εργαλείο για την εκπόνηση αυτής της διδακτορικής διατριβής, καθώς μειώνει σημαντικά το υπολογιστικό κόστος για τη διαχείριση ενός μεγάλου σχετικά αριθμού επαναληπτικών αναλύσεων που απαιτούνται σε αλγορίθμους βελτιστοποίησης και σε αλγορίθμους στοχαστικής προσομοίωσης που χρησιμοποιούνται κατά τη διαχείριση των αβεβαιοτήτων σε μοντέλα πεπερασμένων στοιχείων. Επίσης, οι παραπάνω τεχνικές αποτέλεσαν πολύ σημαντικό εργαλείο για την ανάπτυξη των μεθόδων διαχείρισης των αβεβαιοτήτων στις τεχνικές διάγνωσης της δομικής ακεραιότητας των κατασκευών.

Στο πλαίσιο εκπόνησης της διατριβής, αναπτύ-

χθηκε το στατιστικό πλαίσιο Bayes για την επιλογή και αναγνώριση μοντέλων πεπερασμένων στοιχείων με βάση την πληροφορία που προέρχεται από τις μετρήσεις. Υλοποιήθηκαν επίσης σε λογισμικό διαθέσιμες από την βιβλιογραφία εναλλακτικές διατυπώσεις του πλαισίου Bayes και μελετήθηκε η αποτελεσματικότητά τους. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον στη διατριβή παρουσιάζει και η ανάπτυξη αποτελεσματικών υπολογιστικών εργαλείων με βάση τη μέθοδο Bayes, συμπεριλαμβανομένων ασυμπτωτικών μεθόδων και αλγορίθμων στοχαστικής προσομοίωσης, για την ποσοτικοποίηση και τη διαχείριση των αβεβαιοτήτων κατά τον υπολογισμό των παραμέτρων τόσο των γραμμικών όσο και μη γραμμικών μοντέλων. Από τις διαθέσιμες στοχαστικές μεθόδους μία από τις πιο υποσχόμενες για την περιγραφή των αβεβαιοτήτων των παραμέτρων είναι η μέθοδος Transitional MCMC, η οποία και χρησιμοποιήθηκε. Η Transitional MCMC είναι γενική και εφαρμόσιμη σε γραμμικά και μη-γραμμικά μοντέλα. Στην περίπτωση των μη γραμμικών μοντέλων, έγινε γενίκευση της θεωρητικής διατύπωσης έτσι ώστε η μέθοδος Bayes να λαμβάνει υπόψη ότι οι μετρήσεις είναι οι χρονοϊστορίες απόκρισης ή τα φάσματα απόκρισης αντί των ιδιομορφικών χαρακτηριστικών που χρησιμοποιούνται στην περίπτωση των γραμμικών μοντέλων. Η αποτελεσματικότητα του πλαισίου του Bayes πιστοποιήθηκε μέσα από την εφαρμογή του για την ποσοτικοποίηση και τη διάδοση των αβεβαιοτήτων σε μοντέλο πειραματικού οχήματος μικρής κλίμακας, που αποτελούσε συνδυασμό γραμμικών μελών όπως είναι το πλαίσιο του οχήματος όπως επίσης και μη γραμμικών μελών όπως είναι οι τροχοί και οι αναρτήσεις. Δραστική μείωση στον υπολογιστικό χρόνο επιτεύχθηκε με τη χρήση μεθόδων σύνθεσης των κατασκευαστικών συνιστωσών που παρουσιάστηκαν στη διατριβή αυτή. Η μείωση εφαρμόστηκε προκειμένου να μειωθεί το μέγεθος του μοντέλου των γραμμικών μελών του οχήματος. Τέλος, με βάση την αξιοποίηση των πειραματικών μετρήσεων από τις επιμέρους συνιστώσες (σκάφος και αναρτήσεις) του πειραματικού οχήματος μπόρεσαν να εξαχθούν χρήσιμα συμπεράσματα σχετικά με τη δυνατότητα διαχείρισης των αβεβαιοτήτων στο όχημα, με βάση την αναγνώρισή τους και τη βαθμονόμηση τους από επιμέρους συνιστώσες.

Μια ιδιαίτερα καινοτόμος μεθοδολογία για την πρόβλεψη της συσσώρευσης βλαβών λόγω κόπωσης σε ολόκληρο το φορέα μεταλλικών κατασκευών, με αξιοποίηση πληροφοριών από μετρήσεις της ταλαντωτικής τους απόκρισης σε περιορισμένο αριθμό θέσεων στην κατασκευή, προτείνεται στο πλαίσιο της διατριβής αυτής. Η κόπωση υπολογίζεται χρησιμοποιώντας τον κανόνα Palmgren-Miner,S-N καμπύλες κόπωσης και τον rainflow cycle counting αλγόριθμο. Οι μέθοδοι αυτές μπορούν να εφαρμοστούν σε οποιοδήποτε σημείο της κατασκευής και να δημιουργήσουν τον ολοκληρωμένο χάρτη κόπωσης ολόκληρης της κατασκευής, δεδομένου ότι τα χαρακτηριστικά των τάσεων (χρονοϊστορίες ή φάσματα απόκρισης) είναι διαθέσιμα για όλα τα σημεία. Τα χαρακτηριστικά αυτά των τάσεων προβλέπονται από έναν περιορισμένο αριθμό αισθητήρων χρησιμοποιώντας μοντέλο πεπερασμένων στοιχείων υψηλής ακρίβειας και διάφορες μεθόδους πρόβλεψης, συμπεριλαμβανομένων Kalman Filter τεχνικών, kriging προσεγγίσεων και modal expansion μεθόδων. Η αποτελεσματικότητα των προτεινόμενων μεθοδολογιών παρουσιάζεται χρησιμοποιώντας προσομοιωμένα δεδομένα από ένα μοντέλο αλυσίδας μαζών και ελατηρίων και από το μοντέλο του μικρής κλίμακας οχήματος. Το προτεινόμενο πλαίσιο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να κατασκευάσει τον χάρτη συγκέντρωσης βλάβης λόγω κόπωσης, όπως επίσης και του εναπομείναντα χρόνου ζωής των κατασκευών, σύμφωνα με τις πραγματικές συνθήκες λειτουργίας που παρέχονται από σύστημα παρακολούθησης. Οι χάρτες αυτοί είναι πολύ σημαντικοί για τη βελτιστοποίηση του σχεδιασμού έναντι κόπωσης των μεταλλικών κατασκευών, λαμβάνοντας υπόψη τις αβεβαιότητες που υπεισέρχονται στη μοντελοποίηση και στην πρόβλεψη κόπωσης.

Λέξεις κλειδιά: Bayesian πλαίσιο, ποσοτικοποίηση αβεβαιοτήτων, μετρήσεις ταλάντωσης, μέθοδος κατασκευαστικών συνιστωσών, μοντέλα οχήματος, δειγματικοί αλγόριθμοι, πειραματικά δεδομένα, διάγνωση κόπωσης

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Κώστας Παπαδημητρίου, Καθηγητής και Διευθυντής Εργαστηρίου Δυναμικής Συστημάτων, Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Σωτήριος Νατσιάβας, Καθηγητής και Διευθυντής Εργαστηρίου Δυναμικής των Μηχανών, Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Λάμπρος Καταφυγιώτης, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών, Hong Kong University of Science and Technology

Dimitra – Christina Papadioti

Management of uncertainties in structural response and reliability simulations using measured data

Summary

The subject of the PhD thesis is the development of methods for the modelling and management of uncertainties in structural dynamics simulations. Emphasis is given on developing the probabilistic-statistical framework that is used for (a) quantifying and calibrating uncertainty models of mechanical systems based on vibration measurements as well as (b) propagating these modelling uncertainties in structural dynamics simulations to achieve updated robust predictions of system performance, reliability and safety. Bayesian inference is used for identifying system and uncertainty models. Bayesian tools include Laplace methods of asymptotic approximation and more accurate stochastic simulation algorithms, such as Transitional Markov Chain Monte Carlo. The innovative aspect of this thesis is the use of measurements in order to improve the mathematical models that simulate the mechanical system, the excitation and the uncertainties that arise. Finally, the computational efficiency of the proposed techniques is demonstrated through applications (a) in structural health monitoring, damage identification and updating structural reliability of civil infrastructure and (b) in predicting fatigue for metallic structures through a limited number of acceleration measurements.

In order to perform the analysis and management of uncertainties for complex structural models such as large DOF models involving hundreds of thousands or even million DOF and models including localized nonlinearities, it was necessary to develop smart techniques for reducing the time consuming operations involved in Bayesian tools. For this reason, a significant effort of the research was devoted to investigate efficient model reduction techniques for reducing the number of degrees of freedom of the finite element (FE) model simulating the structural system. In this work, a novel framework is presented for integrating the Craig-Bampton technique into existing FE model updating formulations, in order to reduce the time consuming operations involved in re-analyses of large-order models of hundreds of thousands or even millions degrees of freedom. The division of the structure into components is guided by the FE parameterization scheme so that the stiffness matrix that arise for each one of the introduced components to depend linearly on only one of the parameters to be estimated. The methodology proved to be very effective for the management of uncertainties in the dynamic structural analysis of large-scale models, since it led to a significant reduction both of the degrees of freedom and of the execution time required for uncertainty quantification and propagation by three and more orders of magnitude. Through the implementation of the framework to large-order models of structures, such as a linear high-fidelity FE model of bridge and a small-scale experimental vehicle model with localized nonlinearities, it was demonstrated that the computational effort was reduced drastically from several days to a few minutes, without compromising the accuracy. Finally, the above techniques are useful for the development of a framework for management of uncertainties that appear in structural health monitoring (SHM).

In the context of this thesis, a Bayesian framework for model parameter estimation and class selection, based on vibration measurements, was developed. Different Bayesian approaches, presented in relevant literature, were implemented in software and tested for their accuracy. Another field of great interest of this thesis was the development of Bayesian tools, including asymptotic approximations and stochastic simulation algorithms for the quantification and management of uncertainties in parameter estimation for both linear and nonlinear models. Among the stochastic simulation algorithms

available, the Transitional MCMC is one of the most promising and for this reason it was chosen to be used. The Transitional MCMC is an algorithm of general use and can be applied to both linear and non-linear models. In this case of this nonlinear model, the Bayesian framework was extended to cover the case that the measurements are taken to be either response time histories or response spectra functions instead of the modal characteristics that are often used in case of linear models. The Bayesian framework was demonstrated by applying it for uncertainty quantification and propagation on a small-scale experimental model of a vehicle consisting of a combination of linear components, such as the frame of the vehicle, as well as nonlinear components, such as the wheels and suspensions. Drastic reduction in computational effort to manageable levels was achieved using component mode synthesis techniques that are presented in the context of this thesis. The reduction was applied to reduce the model size of the linear components of the vehicle. Finally, based on the measured output quantities of interest of the components of the vehicle frame, interesting results were concluded about the methodology that the estimates of the model parameter values and their uncertainties for each component can be used to build the model for the combined wheel-suspension-frame structure.

A novel framework is also proposed for estimating damage accumulation due to fatigue in the entire body of metallic structures using vibration measurements from a limited number of sensors. Fatigue is estimated using Palmgren-Miner damage rule, S-N curves, rainflow cycle counting of the variable amplitude time histories of the stress components. These methods can be applied to any point in the structure and construct the complete fatigue map of the entire structure, provided that the stress response characteristics (time histories or PSDs) at all desirable points are available. These stress response characteristics are predicted from limited number of vibration sensors using a high fidelity finite element model and different prediction methods, including Kalman filter type techniques, kriging approximations and modal expansion methods. The effectiveness of the proposed methods is demonstrated using simulated data from a chain-like spring-mass model and a small-scale model of a vehicle structure. The proposed framework can be used to construct fatigue damage accumulation and lifetime prediction maps consistent with the actual operational conditions provided by a monitoring system. These maps are useful for designing optimal fatigue-based maintenance strategies for metallic structures taking into account all uncertainties in modelling and fatigue predictions.

Key words: Bayesian inference, uncertainty quantification, vibrations measurements, component mode synthesis, vehicle models, sampling algorithms, fatigue monitoring

Three - Member Supervisory Committee

Costas Papadimitriou, Professor and Director of System Dynamics Laboratory, Department of Mechanical Engineering, University of Thessaly, Greece

Sotirios Natsiavas, Professor and Director of Machine Dynamics Laboratory, Department of Mechanical Engineering, Aristotle University of Thessaloniki, Greece

Lambros Katafygiotis, Associate Professor, Department of Civil Engineering, Hong Kong University of Science and Technology

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within "Heraclitus II" programme

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. Papadimitriou, C., & **Papadioti, D. C**. (2012). Component Mode Synthesis Techniques for Finite Element Model Updating. *Computers and Structures*, 126, 15-28

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και σε ημερίδες Presentations in scientific conferences and meetings - workshops

1. **Papadioti, D.C.**, Giagopoulos, D., Papadimitriou, C. (2014, February). *Fatigue Monitoring in Metallic Structures using Vibration Measurements*. Paper presented at IMAC 2014, Orlando, Florida, USA.

2. Giagopoulos, D., **Papadioti, D.C.**, Papadimitriou, C., & Natsiavas, S.(2013, September). *Bayesian Uncertainty Quantification and Propagation in Nonlinear Structural Dynamics*. Paper presented at CSC 2013,Cagliari, Sardinia, Italy.

3. **Papadioti, D. C.**, Papadimitriou, C. (2013, September). *Fast CMS Technique for Computational Efficient System Re-analyses in Structural Dynamics*. Paper presented at CSC 2013, Cagliari, Sardinia, Italy.

4. Giagopoulos, D., **Papadioti, D. C.**, Papadimitriou, C., & Natsiavas, S.(2013, June). *Bayesian Uncertainty Quantification of Nonlinear Systems using Dynamic Measurements from Components and System Tests*. Paper presented at 4th International Conference on Computational Methods in Structural Dynamics and Earthquake Engineering COMPDYN 2013, Kos, Greece.

5. Giagopoulos, D., **Papadioti, D. C.**, Papadimitriou, C., & Natsiavas, S. (2013, February). *Bayesian Uncertainty Quantification and Propagation in Nonlinear Structural Dynamics*. Paper presented at IMAC 2013, California.

6. **Papadioti, D.C**., & Papadimitriou, C. (2012, October). *Fast Bayesian structural damage localization and quantification using high fidelity FE models and CMS techniques*. Paper presented at IALCCE 2012, Vienna, Austria.

7. Papadimitriou, C., & **Papadioti, D.C.** (2012, September). *Fast Bayesian Updating of Large-Scale Finite Element Models using CMS Technique and Surrogate Models.* Paper presented at ISMA International on Noise and Vibration Engineering, Leuven, Belgium.

8. Papadimitriou, C., & **Papadioti, D. C.** (2012, June). *Bayesian Uncertainty Quantification and Propagation in Large-Order Finite Element Models using CMS Techniques*. Paper presented at 5th European Conference on Structural Control (EACS 2012), Genoa, Italy.

9. Papadimitriou, C., **Papadioti, D. C.**, & Panetsos, P. (2011, October). *Bridge Health Monitoring Techniques: Integrating Vibration Measurements and Physics-based Models*. Paper presented at International Conference on Bridges and Soil-Bridge Interaction (IBSBI 2011), Athens, Greece.

10. Papadimitriou, C., & **Papadioti, D. C.** (2011, May). *Finite Element Model Validation and Predictions using Dynamic Reduction Techniques*. Paper presented at 3rd International Conference on Computational Methods in Structural Dynamics and Earthquake Engineering COMPDYN 2011, Corfu, Greece.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Δήμητρα - Χριστίνα Παπαδιώτη** γεννήθηκε το 1986, στην Αθήνα. Το 2004, αποφοίτησε από το 6ο Ενιαίο Λύκειο Βόλου, με βαθμό 19.70/20 και εισήχθη πρώτη στο Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, με 19,377 μόρια.

Κατά τη διάρκεια των προπτυχιακών της σπουδών, έλαβε διακρίσεις από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών και αποφοίτησε πρώτη σε σειρά το 2009, αποκτώντας το Δίπλωμα Πολιτικού Μηχανικού, με βαθμό 8.22. Το 2011, απέκτησε Μεταπτυχιακό Διπλώματος Ειδίκευσης από το Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, με τίτλο “Σύγχρονες Μέθοδοι Ανάλυσης και Σχεδιασμού στη Βιομηχανία”, με ειδίκευση στον τομέα Μηχανική, Υλικά και Κατεργασίες, με βαθμό 9.23.

Από το 2011, ξεκίνησε την εκπόνηση διδακτορικής διατριβής, η οποία χρηματοδοτήθηκε από το προγράμμα Διδακτορικών Υποτροφιών “Ηράκλειτος ΙΙ”, με τίτλο “Διαχείριση των Αβεβαιοτήτων σε Προσομοιώσεις Απόκρισης και Αξιοπιστίας Κατασκευών Αξιοποιώντας Δεδομένα Μετρήσεων”, στο Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών του Πανεπιστήμιου Θεσσαλίας, με επιβλέποντα καθηγητή τον κ. Κώστα Παπαδημητρίου.

Από το 2009, είναι μέλος του Τεχνικού Επιμελητηρίου Ελλάδος και μέλος της ερευνητικής ομάδας του Εργαστηρίου Δυναμικής Συστημάτων του Τμήματος Μηχανολόγων Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Τα ερευνητικά ενδιαφέροντά της εστιάζουν στην αναγνώριση ιδιομορφικών χαρακτηριστικών υπό σεισμικές και περιβαλλοντικές διεγέρσεις, στην αναθεώρηση και αναβάθμιση μοντέλων με πεπερασμένα στοιχεία, στην ανάπτυξη μεθόδων διάγνωσης της δομικής ακεραιότητας των κατασκευών, στην ανάπτυξη μεθόδων μοντελοποίησης και διαχείρισης των αβεβαιοτήτων, στη διαδικασία της προσομοίωσης κατασκευών και στην ανάπτυξη μαθηματικών μοντέλων περιγραφής των αβεβαιοτήτων με βάση τη στατιστική μεθοδολογία Bayes.

Τέλος, η κ. Παπαδιώτη συμμετείχε σε υποβοήθηση διδασκαλίας στο Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στα μαθήματα Προγραμματισμός Η/Υ και Δυναμική, από το 2011 έως και το 2014.

Short CV

Dimitra-Christina Papadioti was born in 1986, in Athens. She graduated from 6th High School of Volos, in 2004, with grade 19.70/20 and entered the Department of Civil Engineering, University of Thessaly, being first in the rank with grade 19.377/20.000.

During her undergraduate studies, she received academic distinctions from the State Scholarship Foundation. In 2009, she received Diploma in Civil Engineering with grade: 8.22/10 (The highest grade of the academic year).

She is member of the Technical Chamber in Greece and member of the scientific research team of System Dynamics Laboratory of the Department of Mechanical Engineering of the University of Thessaly, since 2009.

In 2011, she received Postgraduate Specialization Diploma in “State-of-the-Art Design and Analysis Methods in Industry”, Mechanics, Materials and Manufacturing Processes of the Department of Mechanical Engineering, University of Thessaly, with grade: 9.23/10

Her doctoral work was financially supported by the Ph.D Scholarship Programme “Heraclitus II”. The title of her PhD thesis is “Management of Uncertainties in Structural Response and Reliability Simulations using Measured Data”, under the supervision of Professor Costas Papadimitriou.

Her research interests concentrate on modal identification based on ambient and earthquake induced vibrations, finite element modelling, model validation and updating, uncertainty quantification, identification of models of uncertainties using measured data with Bayesian inference methods for model updating and selection with applications on civil and vehicle engineering.

Finally, Mrs Papadioti has been Teaching Assistant in the Department of Mechanical Engineering for the courses: Introduction to Computer Programming and Dynamics for 3 academic years.

Αγλαΐα – Ευγενία Πουρνάρα

Δομική ακεραιότητα αγωγών υδρογονανθράκων με τοπικές παραμορφώσεις τοιχώματος

Οι τοπικές παραμορφώσεις στα τοιχώματα των αγωγών, μορφής υβώσεων ή εγκολπωμάτων, συνιστούν απειλή για τη **δομική ακεραιότητα** και τη λειτουργία νέων δικτύων αγωγών μεταφοράς ενέργειας (**πετρέλαιο, φυσικό αέριο κτλ**), αλλά και αγωγών που μπορεί να χρησιμοποιούνται εδώ και αρκετές δεκαετίες. Ο έλεγχος και η διατήρηση ενός αξιόπιστου επιπέδου λειτουργίας των αγωγών που έχουν υποστεί τοπικές παραμορφώσεις στο τοίχωμά τους έχει αποτελέσει σημαντικό κίνητρο αρκετών αξιόλογων ερευνών που έχουν ενσωματωθεί σε ισχύοντες κανονισμούς και πρότυπα.

Εγκολπώματα μπορεί να προκληθούν κυρίως από εξωτερικούς παράγοντες, λόγω χτυπημάτων από σκαπτικά εργαλεία (για υπόγειους/υπέργειους αγωγούς) ή από άγκυρες πλοίων (για υποθαλάσσιους αγωγούς κτλ) στο τοίχωμα ενός αγωγού, ενώ **υβώσεις** μπορεί να προκληθούν κατά τη διάρκεια εν ψυχρώ κάμψης κατά την τοποθέτηση ενός αγωγού ή διαφορικής κίνησης του εδάφους σε περιοχές υψηλού γεωλογικού κινδύνου (Εικόνα 1) κτλ.

Έχει παρατηρηθεί ότι σε περίπτωση εγκολπώματος ή ύβωσης, ο αγωγός μπορεί να συνεχίσει να λειτουργεί ικανοποιητικά, υπό την προϋπόθεση ότι το υλικό εμφανίζει επαρκή ολκιμότητα και δεν έχουν παρουσιαστεί επιφανειακές ρωγμές. Ωστόσο, η περιοχή της ύβωσης ή του εγκολπώματος συνδέεται με σημαντικές συγκεντρώσεις παραμορφώσεων και σε περίπτωση επαναλαμβανόμενων φορτίσεων μπορεί να αναπτυχθούν **ρωγμές** και κατ'επέκταση να επέλθει **αστοχία** από **κόπωση**.

(α) (β)

Εικόνα 1: *Παραδείγματα σωλήνων με τοπικές βλάβες (α) εγκολπώματα με ρωγμές και (β) υβώσεις*

Σχετικά με την περίπτωση των αγωγών με εγκολπώματα, οι περισσότεροι από τους διεθνείς κώδικες αναφέρονται στα κριτήρια αποδοχής εγκολπωμάτων, αλλά και στην αντοχή των αγωγών λόγω κόπωσης υπό κυκλική εσωτερική πίεση, συμπεριλαμβάνοντας το ενδεχομενο της διάβρωσης.

Από την άλλη πλευρά, υπάρχουν περιορισμένες πληροφορίες για την απομένουσα αντοχή των αγωγών που έχουν υποστεί υβώσεις στο τοίχωμά τους. Επίσης, ελάχιστες πληροφορίες υπάρχουν σχετικά με την απομένουσα αντοχή αγωγών, με διάφορες μορφές τοπικών παραμορφώσεων υπό καθεστώς κυκλικής κάμψης και τα κριτήρια για τον προσδιορισμό της αποδοχής των υβώσεων σε σωλήνες δεν έχουν ακόμα διευκρινιστεί.

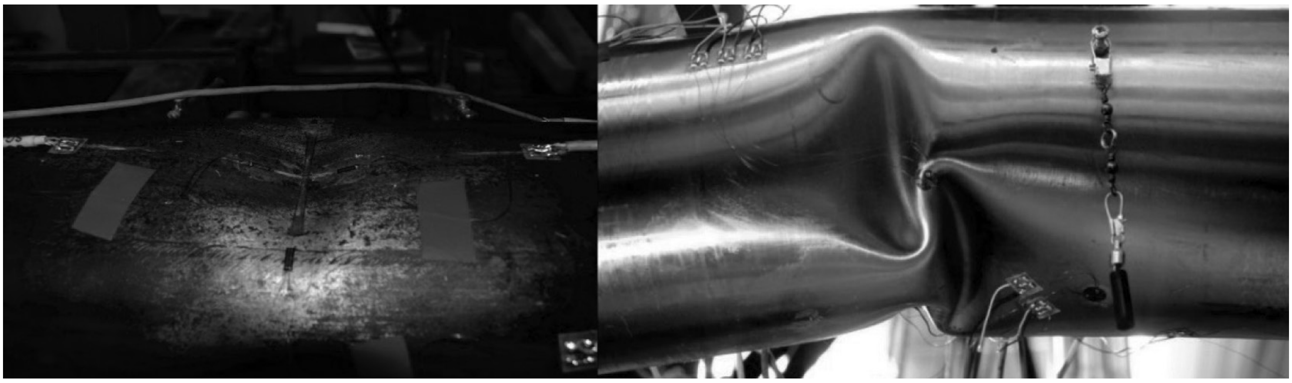
Η έρευνα αυτή αποτελείται από μικρής και μεγάλης κλίμακας πειράματα, που υποστηρίζονται από αναλυτικές προσομοιώσεις και έχει σκοπό να διερευνήσει τη δομική ακεραιότητα σωλήνων υδρογονανθράκων με τοπικές παραμορφώσεις τοιχώματος.

Σε πρώτο στάδιο, οι ιδιότητες του υλικού του χάλυβα (κατηγορίας Χ52) έχουν καθοριστεί εκτελώντας τέσσερα (4) πειράματα εφελκυσμού σε δοκίμια λωρίδων τα οποία έχουν κοπεί κατά μήκος ενός σωλήνα παρόμοιου υλικού. Παράλληλα, αρκετά κυκλικά **πειράματα** σε δοκίμια λωρίδων διεξήχθησαν ώστε να διαμορφωθεί η **καμπύλη κόπωσης** και να προσδιοριστεί η κυκλική συμπεριφορά του **υλικού Χ52**. Αυτές οι δοκιμές ολοκληρώθηκαν στις εγκαταστάσεις του Πανεπιστημίου του Πόρτο στην Πορτογαλία.

Όσον αφορά την κύρια πειραματική διαδικασία, μια σειρά από δεκαοκτώ (18) πειράματα μεγάλης κλίμακας σε δοκίμια σωλήνων Χ52 6-ιντσών (API 5l, 2004) έχει πραγματοποιηθεί, όπου τα δοκίμια, αφού έχουν πρώτα υποστεί εγκολπώματα/υβώσεις, υποβάλλονται σε κυκλική φόρτιση (κάμψη ή πίεση), προκειμένου να εκτιμηθεί η απομένουσα αντοχή τους και η υπολειπόμενη διάρκεια ζωής τους.

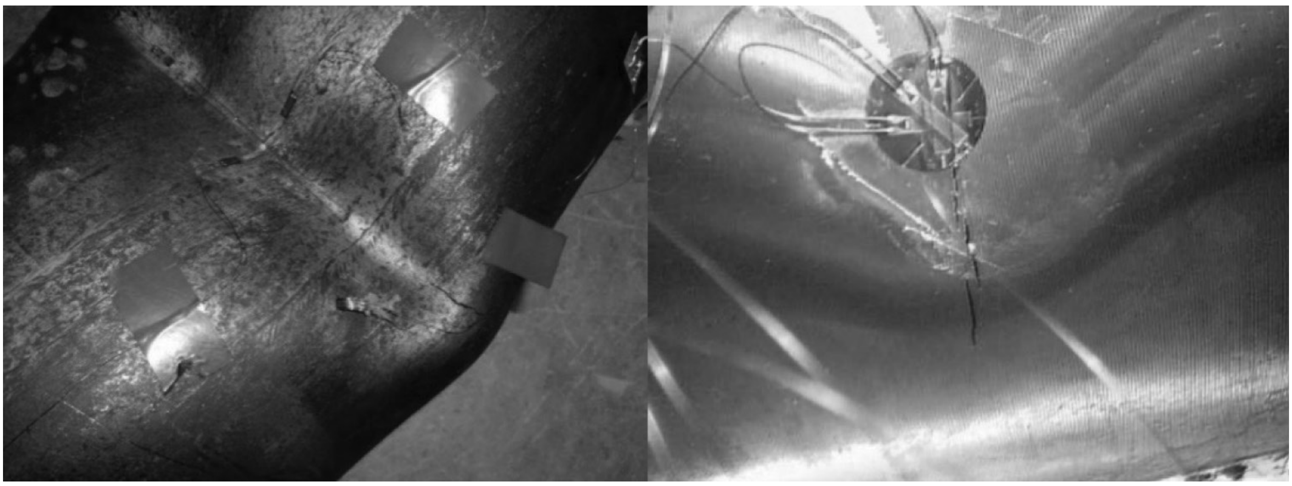
Πριν ξεκινήσει η πειραματική διαδικασία, καταγράφηκαν οι τιμές του πάχους των δειγμάτων σε διάφορα σημεία κατά μήκος των σωλήνων και κατά την περιφέρειά τους, μέσω υπερηχητικής συσκευής. Επιπλέον, όργανα μέτρησης των παραμορφώσεων, τοποθετήθηκαν σε κρίσιμες θέσεις του τοιχώματος των σωλήνων για την καταγραφή των παραμορφώσεων κατά τη διάρκεια της δημιουργίας του εγκολπώματος ή της ύβωσης και της κυκλικής φόρτισης εκτός της κυκλικής πίεσης.

Κατά τη διαδικασία των πειραμάτων, δημιουργήθηκε, αρχικά, στην πρώτη ομάδα δοκιμίων, τοπική **βλάβη** μορφής εγκολπώματος με τη χρήση μιας ειδικής μεταλλικής διάταξης (Εικόνα 2α) και στη συνέχεια τα δοκίμια υποβλήθηκαν σε κυκλική κάμψη (Εικόνα 3α) ή εσωτερική κυκλική και μονοτονική πίεση (Εικόνα 4α) μέχρι την αστοχία. Στη δεύτερη ομάδα σωλήνων δημιουργήθηκε, αρχικά, τοπική ύβωση διαφόρων μεγεθών μέσω μονοτονικής κάμψης τεσσάρων σημείων (Εικόνα 2β) και στη συνέχεια υποβλήθηκαν σε **κυκλική κάμψη** (Εικόνα 3β) ή σε κυκλική και μονοτονική πίεση (Εικόνα 4β). Στην περίπτωση της κυκλικής κάμψης, διοχετεύτηκε αέρας έως 0,1 bar στο εσωτερικό των δοκιμίων πριν την έναρξη επιβολής του κυκλικού φορτίου, με σκοπό τον εντοπισμό **διαρροής** του αέρα από το εσωτερικό του δοκιμίου που κατ' επέκταση σημαίνει και τη διάδοση και ανάπτυξη ρωγμών λόγω κόπωσης.



(α) (β)

Εικόνα 2: *(α) Η μορφή του εγκολπώματος και (β) η μη-συμμετρική μορφή ύβωσης στα δοκίμια σωλήνων*



(α) (β)

Εικόνα 3: *Η τελική ρωγμή λόγω κόπωσης στην περίπτωση (α) του εγκολπώματος και (β) της ύβωσης υπό κυκλική κάμψη*

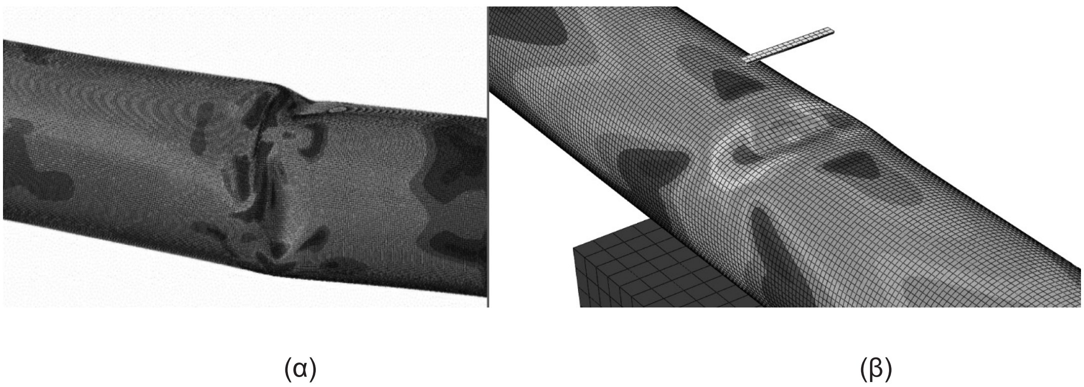
(α) (β)

***Εικόνα 4:** (α) Διάρρηξη λόγω μονοτονικής πίεσης σε δοκίμιο με εγκόλπωμα και (β) διαρροή λόγω δημιουργίας ρωγμής κόπωσης σε δοκίμιο με ύβωση υπό κυκλική εσωτερική πίεση.*

Ακολούθως, διαμορφώθηκαν οι καμπύλες τάσεων-παραμορφώσεων και οι καμπύλες μετατόπισης φορτίου από την επεξεργασία των πειραματικών αποτελεσμάτων. Εκτός από τους κύκλους φόρτισης, έχουν καταγραφεί η δημιουργία και η διάδοση των ρωγμών στην επιφάνεια του τοιχώματος των δοκιμίων κατά τη διάρκεια της κυκλικής κάμψης. Το πιο σημαντικό από την επεξεργασία των αποτελεσμάτων είναι ο υπολογισμός της μέγιστης μεταβολής της τοπικής παραμορφωσης στην κρίσιμη περιοχή του εγκολπώματος και της ύβωσης αλλά και ο υπολογισμός των **συντελεστών συγκέντρωσης των τοπικών παραμορφώσεων**. Κατά τη διάρκεια της εφαρμογής της εσωτερικής πίεσης, καταγράφηκαν οι τελικοί κύκλοι φόρτισης και η αντοχή σε **διάρρηξη**, ενώ η καταγραφή των τιμών των παραμορφώσεων αλλά και της ανάπτυξης των ρωγμών δεν μπορούσαν να υποστηριχθούν λόγω των συνθηκών του πειράματος. Επίσης, το στάδιο της ανάπτυξης της ύβωσης και του εγκολπώματος καθώς και το κομμάτι της κυκλικής κάμψης έλαβε χώρα στο Εργαστήριο Σκυροδέματος του Τμήματος Πολιτικών Μηχανικών, ενώ η κυκλική πίεση εφαρμόστηκε στα εργαστήρια της ΕΒΕΤΑΜ.

Επιπροσθέτως, **μοντέλα πεπερασμένων στοιχείων** έχουν αναπτυχθεί, με τη χρήση του λογισμικού ABAQUS, για την προσομοίωση της πειραματικής διαδικασίας για κάθε τύπο παραμόρφωσης και περίπτωση φόρτισης (Εικόνα 5). Παράλληλα, για την περιγραφή των ιδιοτήτων του υλικού, ένα ιδιοσύστατο μοντέλο υλικού αναπτύχθηκε και εφαρμόστηκε μέσω μιας υπορουτίνας με βάση τη μέθοδο ολοκλήρωσης «Euler-backward», παρέχοντας αξιόπιστες προβλέψεις κυκλικής απόκρισης.

Η **διάρκεια ζωής** σε κόπωση εκτιμήθηκε ικανοποιητικά, σε σχέση με τα πειραματικα αποτελέσματα, μέσω μίας προτεινόμενης μακροσκοπικής προσεγγιστικής μεθοδολογίας, συνδυάζοντας τα αποτελέσματα των πεπερασμένων στοιχείων με την καμπύλη κόπωσης του υλικού.

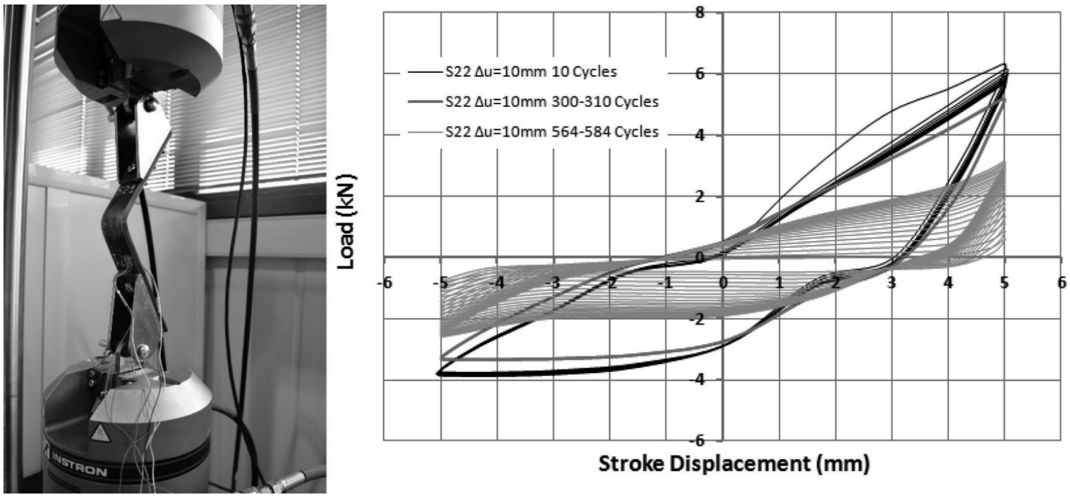


(α) (β)

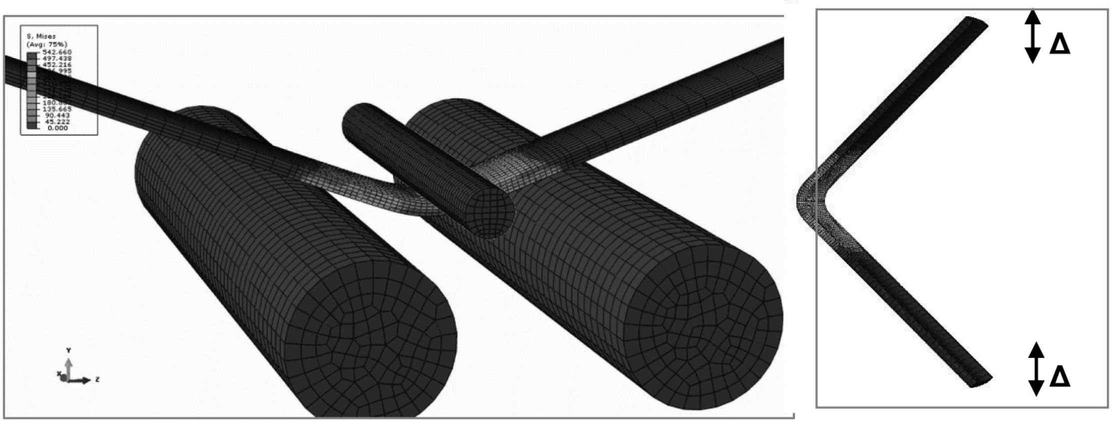
***Εικόνα 5:** (α) Κατανομή των τάσεων VonMises στην περιοχή της ύβωσης και (β) κατανομή των αξονικών παραμορφώσεων στην περιοχή του εγκολπώματος*

Επιπροσθέτως, μια σειρά πειραμάτων μικρής κλίμακας πραγματοποιήθηκε ώστε να διερευνηθεί λεπτομερώς η απόκριση του υλικού των σωλήνων σε κόπωση στην κρίσιμη περιοχή της βλάβης. Αυτό επιτεύχθηκε με την επιλογή μίας αξονισυμμετρικής τοπικής προσέγγισης του φαινομένου της δημιουργίας τοπικής παραμόρφωσης και της περαιτέρω κυκλικής καταπόνησης της κρίσιμης περιοχής. Έτσι κόπηκαν διαμήκεις **λωρίδες** σωλήνα (μήκους 30cm και πλάτους 4cm) από υλικό σωλήνα X52, όπου η κάθε μία, θεωρητικά, διαπερνά εγκάρσια και κεντρικά τον κύριο άξονα ενός εγκολπώματος ή μίας ομαλής ύβωσης.

Έτσι, οι λωρίδες κάμπτονται μονοτονικά (κάμψη τριών (3) σημείων) σε γωνίες έως 90° ή 120°, προσομοιώνοντας τη δημιουργία ύβωσης ή εγκολπώματος σε τοίχωμα σωλήνα και στη συνέχεια υποβάλλονται σε κυκλική κατακόρυφη φόρτιση (Εικόνα 6α), σε αντιστοιχία με την κυκλική φόρτιση στα πειράματα μεγάλης κλίμακας.Οι καμπύλες φορτίου-μετατόπισης έχουν δημιουργηθεί (Εικόνα 6β) και οι τοπικές παραμορφώσεις έχουν καταγραφεί στην εσωτερική και εξωτερική όψη στη γωνία της καμπτώμενης λωρίδας. Τα αποτελέσματα αυτών των πειραμάτων έχουν συγκριθεί με τα αντίστοιχα των πειραμάτων μεγάλης κλίμακας.



Εικόνα 6: *(α) Η διάταξη των πειραμάτων μικρής κλίμακας και (β) διάγραμμα φορτίου μετατόπισης υπό την επιβολή κυκλικής φόρτισης*



(α) (β)

Εικόνα 7: *(α) Μονοτονική κάμψη τριών σημείων και (β) κυκλική φόρτιση του μοντέλου της λωρίδας*

Επιπλέον, μη-γραμμική ανάλυση πεπερασμένων στοιχείων έχει διεξαχθεί για την προσομοίωση της μονοτονικής κάμψης και της κυκλικής φόρτισης των λωρίδων (Εικόνα 7). Μοντέλα πλαστικότητας J2- flow theory (von Mises) με ισοτροπική, γραμμική και μη γραμμική κινηματική κράτυνση έχουν εφαρμοστεί. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων έχουν συγκριθεί με τα πειραματικά για καμπύλες φορτίου-μετατόπισης και για τις μέγιστες μεταβολές τοπικών παραμορφώσεων για τους πρώτους κύκλους φόρτισης.

Σύμφωνα με τον αρχικό στόχο της έρευνας αυτής, τα πειραματικά και αριθμητικά αποτελέσματα χρησιμοποιήθηκαν για την ανάπτυξη αξιόπιστων μεθοδολογιών οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον έλεγχο, την αξιολόγηση και την επισκευή αγωγών που έχουν υποστεί τοπικές παραμορφώσεις μορφής εγκολπώματος ή ύβωσης.

Λέξεις κλειδιά: ύβωση, εγκόλπωμα, τοπικές παραμορφώσεις, μεταλλικοί αγωγοί υδρογονανθράκων, φυσικό αέριο, πετρέλαιο, δομική ακεραιότητα, έλεγχος, αξιολόγηση, διάρκεια ζωής, πειράματα, δοκίμια, λωρίδες, συντελεστής συγκέντρωσης παραμορφώσεων, μοντέλα πεπερασμένων στοιχείων, κυκλική κάμψη, κυκλική πίεση, ρωγμή, αστοχία,κόπωση, διαρροή, διάρρηξη, βλάβη, υλικό X52

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Σπύρος Α. Καραμάνος, Καθηγητής, Υπολογιστικές Μέθοδοι-Πεπερασμένα Στοιχεία των Κατασκευών, Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας (*επιβλέπων*)

Αλέξης Τ. Κερμανίδης, Επίκουρος Καθηγητής, Μηχανική Συμπεριφορά Μεταλλικών Υλικών, Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

A. Limam, Καθηγητής, Εργαστήριο Πολιτικών Μηχανικών και Μηχανικών Περιβάλλοντος, Τμήμα Θετικών Επιστημών και Τεχνολογίας, INSA de Lyon

Aglaia Evgenia Pournara

Structural integrity of steel hydrocarbon pipelines with local wall distortions

Summary

Local distortions on pipeline wall in the form of **dents** or **buckles** may constitute a threat for the structural integrity of **oil** and **gas** transmission **pipeline systems**. Evaluating the severity of pipe wall distortions constitutes a crucial step towards safeguarding the structural integrity of aging hydrocarbon pipeline infrastructure. For numerous pipeline systems that have been in service for more than four decades, monitoring and maintaining a reliable level of their operational condition has motivated significant amount of research, which is reflected in relevant standards and guidelines.

Dents could be developed on a pipe wall, mainly, by external interference due to excavating tools (for onshore/ buried pipelines) or by anchor damping (for offshore pipelines) etc., while buckles may be produced during field cold bending of pipes or permanent ground motion in geohazard areas (Figure 1) etc.

In the event of pipe wall dent or buckle, the pipeline may appear to fulfill its transportation function, provided that the steel material is adequately ductile and no **cracks** occur. However, the damaged area is associated with significant strain concentrations and, in the case of repeated loading cracks may develop, leading to **fatigue** failure.

(a) (b)

Figure 1: *Examples of damage on pipelines; (a) dents with gouges and (b) buckles*

Most of the international pipeline codes usually refer to the case of dented (gouged or non-gouged) pipelines; the dent severity and the fatigue life estimation under internal **pressure** variations and corrosion.

On the other hand, limited information is currently available for the structural capacity of buckled pipelines, especially under cyclic bending loadings caused by temperature variations or permafrost actions. Furthermore, the criteria to determine local buckle severity have not yet been clarified.

In this work, experimental research, consisting of small-scale and full-scale tests, supported by numerical simulation, has been conducted to investigate the structural integrity of buckled and dented steel pipes.

At first, material properties of X52 steel have been obtained performing four (4) tensile tests on strip specimens extracted from X52 pipe material, along the longitudinal direction of the pipe. These tests have been performed in the facilities of the University of Porto.

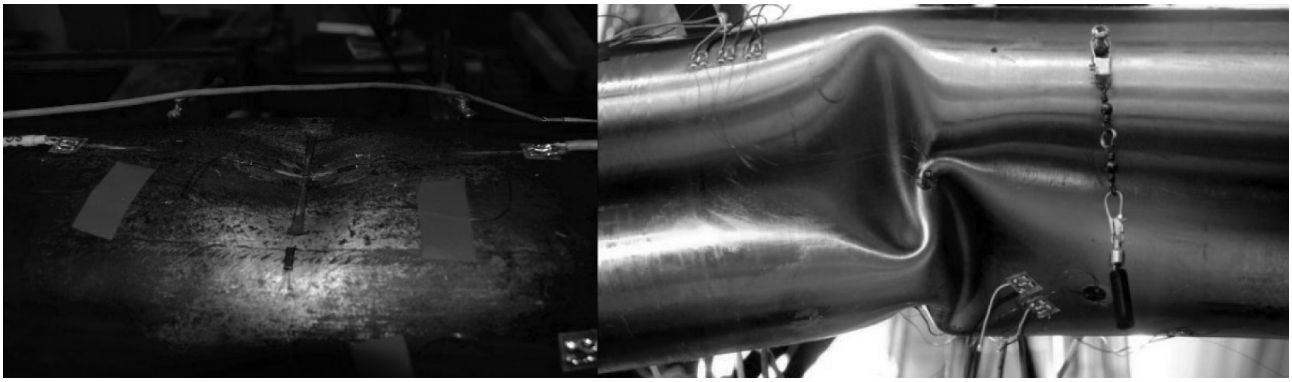
At the same time, several cyclic coupon tests on **strips** were performed, in order to obtain the fatigue curve and determine the cyclic response of the **material X52**.

As far as the main experimental investigation is concerned, a series of eighteen (18) full-scale **experiments** on 6-inch (API 5I, 2004) have been performed. The specimens have been, at first buckled or dented up to certain level and then **cyclic bending** and pressure has been applied until fatigue failure.

Prior to testing, the thickness values of the specimens have been recorded via an ultrasonic device at several points around the circumference of the piped and along their length. Moreover, strain gauges have been implemented in critical locations during both loading stages; the first stage of denting/buckling and the stage of cyclic loading, excluding the pressure tests.

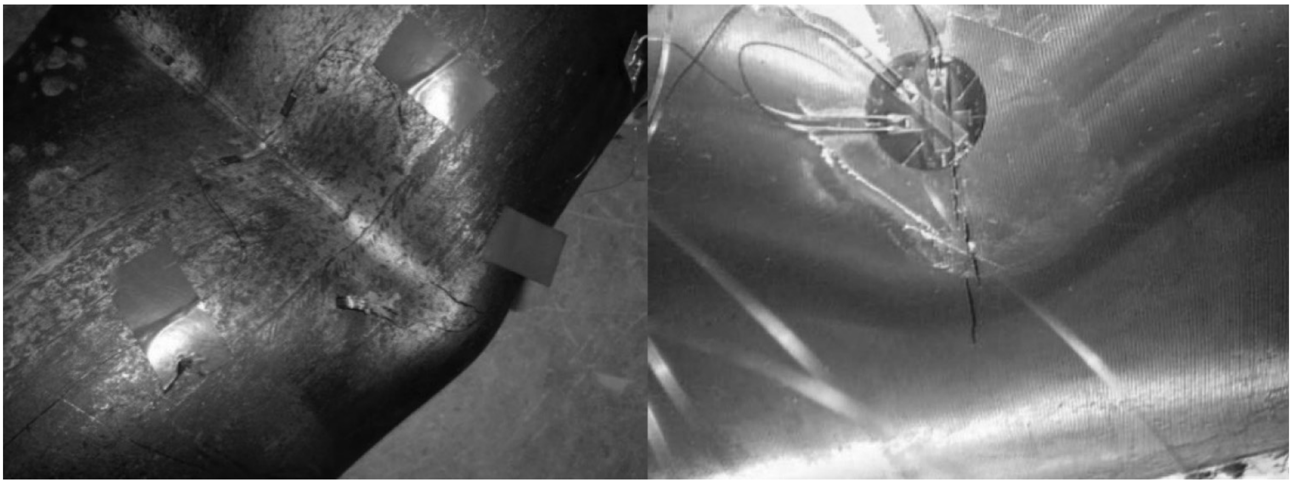
Initially, one group of specimens have been dented with the use of a steel wedge tool (Figure 2a) and subsequently subjected to cyclic bending (Figure 3a) or internal cyclic and **burst** pressure (Figure 4a). Whereas the other group of **specimens** have been buckled via four-point-bending conditions (Figure 2b) and then subjected to cyclic bending (Figure 3b) or monotonic and cyclic pressure (Figure 4b). In the case of cyclic bending procedure, internal gas pressure was applied, before testing, up to 0.1 bar, in order to detect **leakage** due to fatigue failure.

Subsequently, stress-strain and load displacement curves have been obtained from the processing of the experimental results. Except from the life cycles, crack development and crack propagation was captured and recorded during cyclic bending. Most importantly, after further elaboration of the experimental results, maximum local strain variations ($\Delta\varepsilon_{max}$) and strain concentration factors have been calculated throughout the application of cyclic bending. During pressure application, the fatigue life or **burst strength** was obtained while strain values could not be recorded. The experimental procedure related to the stage of dent/buckle development and the cyclic four-point bending has taken place at the laboratory of Civil Engineering Department while the cyclic pressure



(a) (b)

Figure 2: *(a) Detail of dented region and (b) the non-symmetric buckle developed on the pipe specimens*



(a) (b)

Figure 3: *The final fatigue crack (a) on the dent and (b) on the buckle region under cyclic bending*

(a) (b)

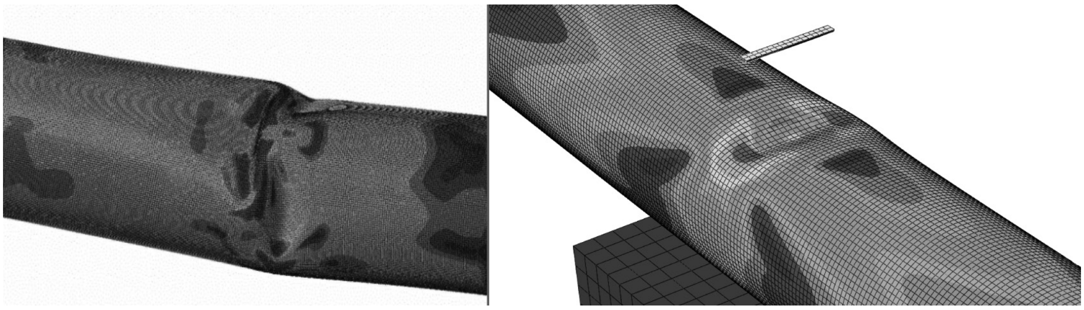
Figure 4: *(a) Rupture of dented specimen due to monotonic pressure and (b) leakage on buckled specimen due to fatigue cracking under cyclic internal pressure*

was applied in the EBETAM laboratories.

Furthermore, **finite element models** were developed, using the ABAQUS tool, in order to simulate the experimental procedure for each type of deformation and loading case (Figure 5).For the description of the material properties, an appropriate constitutive material model has been implemented through a material-user subroutine that employs an Euler-backward integration method, providing reliable cyclic response predictions.

The fatigue life is predicted and compared well with the experimental results using a macroscopic approximate methodology which combines the finite element results and the fatigue curve of the material.

Additionally, a series of small experiments has been performed to investigate thoroughly the response of the pipe material in the critical area of **damage** under cyclic loading. This was achieved by selecting an axisymmetric local approach in order to simulate the phenomenon of dent/buckle



(a) (b)

Figure 5: *Distribution of (a) Von Mises stress on the buckle region and (b) axial (longitudinal) strain around the dent region*

development and the further application of cyclic loading in the critical region. Therefore, longitudinal **strips** were extracted (30cm- long and 4cm-wide) from the pipe material X52, where each strip is assumed to lay along the pipe axis transversely to the main axis of a dent or a smooth buckle.

Following the full-scale testing, the strips have been bent monotonically (under three (3) point-bending conditions) up to 90 ° or 120 °, simulating the creation of a dent or a smooth buckle on the pipe wall and then subjected to cyclic vertical loading (Figure 6a), in correspondence with the full-scale pipes undercyclic bending. The load-displacement curves have been created (Figure 6b) and local deformations have been recorded in the inner and outer face on the crest of the bent strip. The results of these tests have been well compared with the ones obtained from the full-scale experiments.

Moreover, non linear finite element tools have been employed to perform simulations on the monotonic bending and the lateral cyclic loading of the strips (Figure 7). The J_2 (von Mises) plasticity models with isotropic, linear and non-linear kinematic hardening have been employed. The results on the bent model-strips have been compared with the experimental ones in terms of load-displacement curves and the maximum strain ranges during the first loading cycles.

According to the initial objective of this research, the experimental and numerical results have been used to develop reliable methodologies that can be used for the monitoring, the **assessment** or the repair of dented/buckled pipelines.

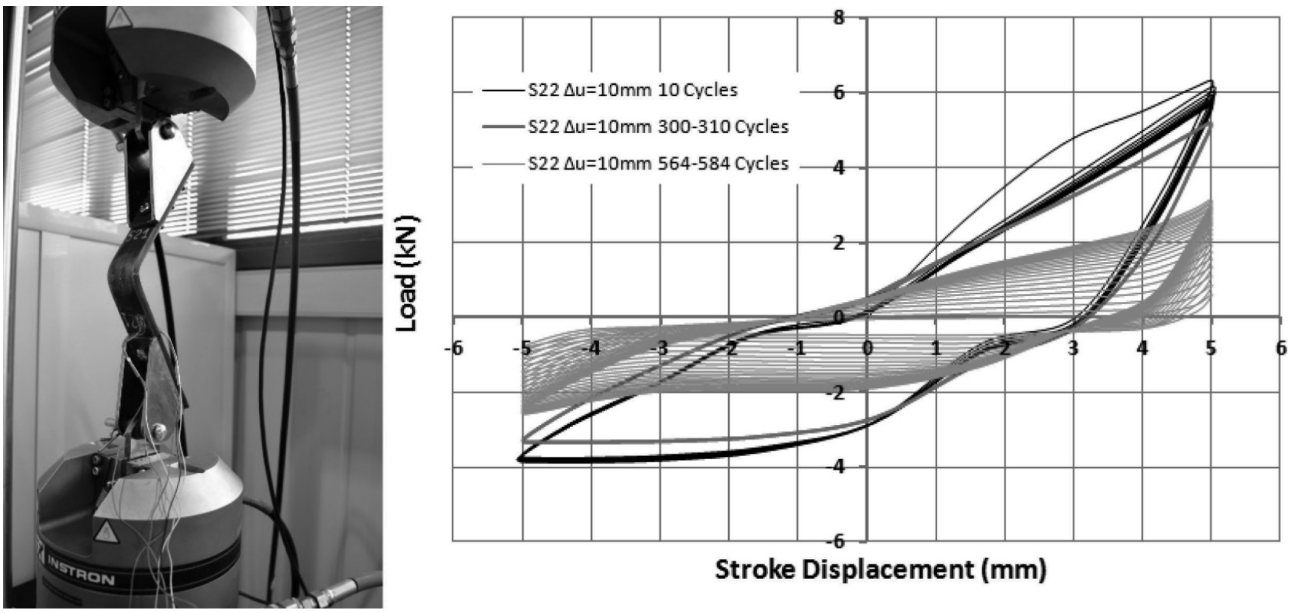
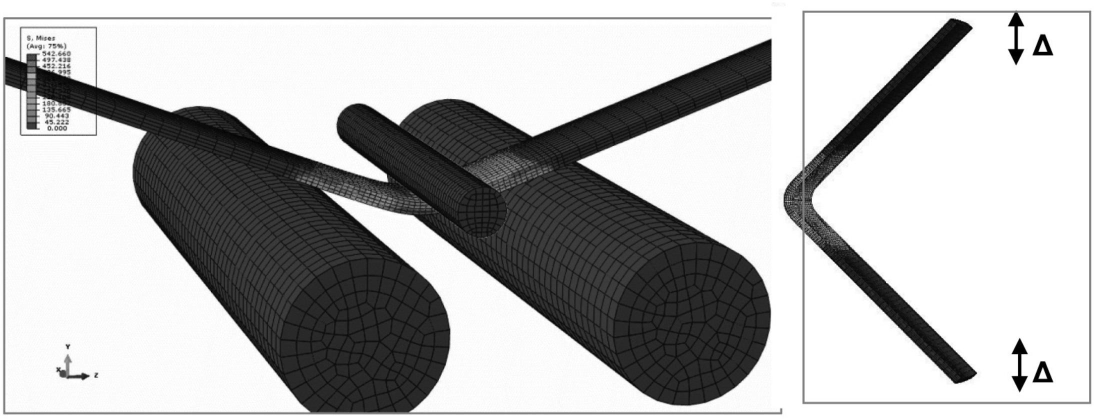


Figure 6: *(a) The test set-up and (b) load vs stroke curves under cyclic loading*



(a) (b)

Figure 7: *(a) Monotonic three –point bending and (b) cyclic loading of the model strip*

Key words: dents, buckles, local distortions, hydrocarbon steel pipelines, oil, gas,structural integrity, assessment, fatigue life, fatigue curve, local strain variations, strain concentration factor, experiments, specimens, strips, finite element models, cyclic bending, cyclic pressure, cracks, leakage, burst strength, damage, material X52

Three - Member Supervisory Committee

Spiros A. Karamanos, Professor, Computational Mechanics - Finite Element Analysis of Structures, Department of Mechanical Engineering, University of Thessaly, Greece *(supervisor)*

Alexis T. Kermanidis, Assistant Professor, Mechanical Behaviour of Materials, Department of Mechanical Engineering, University of Thessaly, Greece

A. Limam, Professor, Civil and Environmental Engineering, Department of Science and Technology, INSA de Lyon, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme “Heraclitus II”

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων - βιβλία περιλήψεων Publications in conference proceedings - books of abstracts

1 **Pournara, A. E.**, Karamanos, S. A., Papatheocharis, T., Perdikaris, P. C. (2015). Structural Integrity of Buckled Steel Pipes. *34th International Conference on Ocean*, *Offshore and Arctic Engineering*, *OMAE 2015* http://asme.pinetec.com/omae2015. St. John’s, NL, ASME, Canada.

2. **Pournara, A.E.**, & Karamanos, S.A. (2014). Structural Integrity of Steel Hydrocarbon Pipelines with Local Wall Distortions.*10th International Pipeline Conference*, *IPC 2014 (*pp. 117-118). Calgary, Alberta, Canada: ASME .

3. **Pournara, A.E.**, & Karamanos, S.A. (2012).Mechanical Behavior of Steel Pipes with Local Wall Distortions Under Cyclic Loading. *Pressure Vessels & Piping Division Conference*, *PVP 2012* http://proceedings.asmedigitalcollection.asme.org/volume.aspx?volumeid=16041#tocHeading_48458. ASME, Toronto, Ontario, Canada.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Αγλαΐα -Ευγενία Πουρνάρα** είναι Πολιτικός Μηχανικός. Γεννήθηκε στις 15 Νοεμβρίου του 1985 στο Βόλο. Σπούδασε στο Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (Σεπτέμβριος 2003 - Ιούλιος 2008), απ' όπου πήρε το Πτυχίο της με βαθμό 8.0 / 10. Η διπλωματική της εργασία με τίτλο «Θεωρία Πλακών με Ελαστικότητα Βαθμίδας» συντάχθηκε υπό την επίβλεψη του καθηγητή Αντώνιου Γιαννακόπουλου. Στη συνέχεια, παρακολούθησε το Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών του Τμήματος Μηχανολόγων Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (Σεπτέμβριος 2008 - Μάρτιος 2011) . Η εκπόνηση της μεταπτυχιακής της εργασίας με θέμα " Δομική Ακεραιότητα Σωληνωτών Μελών Υψηλής Αντοχής υπό Αξονική Θλίψη και Συνδυασμένη Φόρτιση- Σύγκριση με Ισχύοντες Κανονισμούς», πραγματοποιήθηκε υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Σπύρου.Α. Καραμάνου.

Εργάστηκε πάνω στη διδακτορική της διατριβή με τίτλο "Δομική Ακεραιότητα Αγωγών Υδρογονανθράκων με Τοπικές Παραμορφώσεις Τοιχώματος", στο Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, υπό την επίβλεψη του καθηγητή Σπύρου Α. Καραμάνου . Η εκπόνηση της διδακτορικής της διατριβής χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα διδακτορικών υποτροφιών «Ηράκλειτος ΙΙ».

Παράλληλα με τις σπουδές της, έχει εργαστεί σε διάφορα ευρωπαϊκά ερευνητικά προγράμματα και συμμετάσχει σε επιστημονικά συνέδρια σε Ευρώπη και Αμερική. Το επιστημονικό της άρθρο με τίτλο «Δομική Ακεραιότητα Μεταλλικών Αγωγών Υδρογονανθράκων με Τοπικές Παραμορφώσεις Τοιχώματος" που σχετίζεται με το αντικείμενο της διατριβής της, δημοσιεύτηκε στο 10ο Διεθνές Συνέδριο Αγωγών (Κάλγκαρι, Καναδάς) και επιλέχθηκε ανάμεσα στα 7 καλύτερα άρθρα που παρουσιάστηκαν από συνέδρους διδακτορικούς φοιτητές.

Short CV

Aglaia – Evgenia Pournara is a civil engineer. She was born in Volos on 15th November 1985. She studied engineering in the Department of Civil Engineering at University of Thessaly, Greece (September 2003 until July 2008, 5-year professional Degree), from where she graduated with a Degree of 8.0/10. Her Graduate Thesis "Theory of plates with Gradient Elasticity" was prepared under the supervision of Professor Antonios Giannakopoulos.

She continued her studies in the M.Sc. programme of the Department of Mechanical Engineering at University of Thessaly (September 2008 - March 2011). Her post-graduate thesis on the "Structural capacity of HSS tubular members under axial compression and combined loading-Comparison with current provisions" was conducted under the supervision of Professor Spyros. A. Karamanos.

She worked on her PhD dissertation, titled "Structural Integrity of Steel Hydrocarbon Pipelines with Local Wall Distortions," at the Department of Mechanical Engineering of the University of Thessaly, under the supervision of Professor Spyros Karamanos. Her PhD work has been financed by the "Heraclitus II" PhD scholarship programme.

At the meantime, she has been also working on various European research projects and has participated in European and American conferences. Her technical paper "Structural integrity of steel hydrocarbon pipelines with local wall distortions" related to her PhD research, was presented in 10th International Pipeline Conference (Calgary, Canada) and was selected among the 7 finalist papers of the students' paper competition.

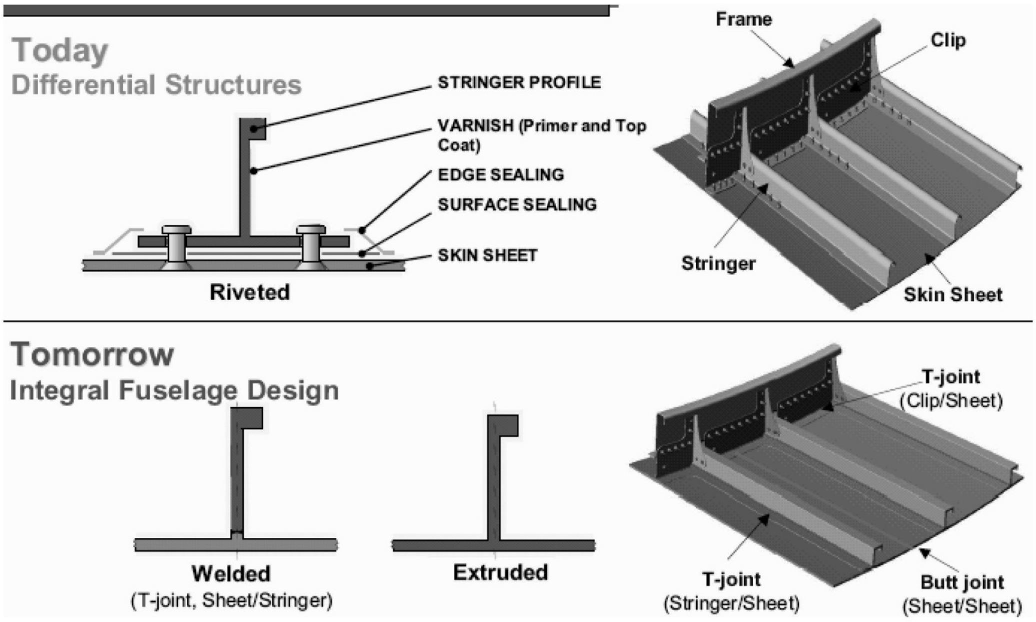
Ανδρέας Τζαμτζής

Πρόβλεψη εξέλιξης ρωγμής κόπωσης τύπου θραύσης I σε συγκόλληση τριβής με ανάδευση κράματος αλουμινίου

Περίληψη

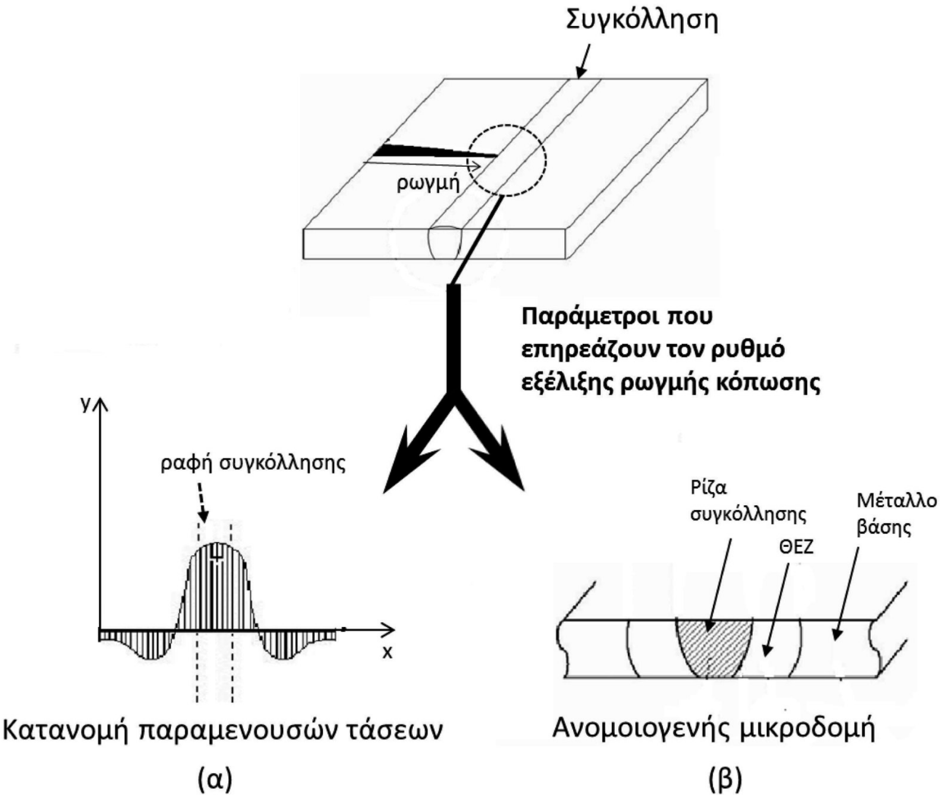
Από τη δεκαετία του ’70, ο σχεδιασμός με ανοχή στη βλάβη χρησιμοποιείται ευρύτατα στη βιομηχανία, ειδικότερα στον τομέα αερομεταφορών, για τη δημιουργία ‘ελαφρών’ κατασκευών. Φιλοσοφία αυτού του τύπου σχεδιασμού είναι ότι σε ένα κατασκευαστικό στοιχείο επιτρέπεται η ύπαρξη βλάβης κατά τη λειτουργία του, αρκεί αυτή να μην οδηγήσει σε αστοχία μέχρι τον επόμενο έλεγχο της κατασκευής. Για το λόγο αυτό, πρωταρχικό ρόλο στη χρήση του σχεδιασμού με ανοχή στη βλάβη έχει η κατανόηση και η πρόβλεψη της συμπεριφοράς της κατασκευής που περιέχει βλάβη κατά τη διάρκεια λειτουργίας της.

Στην αεροναυπηγική, οι συνδέσεις των δομικών μερών του αεροσκάφους πραγματοποιούνται με χρήση ήλων. Τα τελευταία χρόνια η αυξημένη απαίτηση για μείωση του λειτουργικού κόστους και του κόστους παραγωγής,έχουν οδηγήσει στην αναζήτηση νέων τεχνολογικών λύσεων με στόχο την αντικατάσταση των ηλωτών συνδέσεων και τη δημιουργία ενιαίων δομικών στοιχείων. Μία από τις λύσεις προς αυτή την κατεύθυνση είναι η εφαρμογή προηγμένων τεχνολογιών συγκόλλησης σε δομικά μέρη του αεροσκάφους τόσο σε στρατιωτικά όσο και σε πολιτικά αεροσκάφη (Σχήμα 1). Η χρήση συγκολλήσεων σε συνδυασμό με τη χρήση κραμάτων αλουμινίου υψηλής αντοχής, με αυξημένη αντοχή στην εξέλιξη βλάβης, μπορεί να συνεισφέρει σημαντικά στη δημιουργία ελαφρότερων και χαμηλότερου κόστους δομικών μερών του αεροσκάφους.

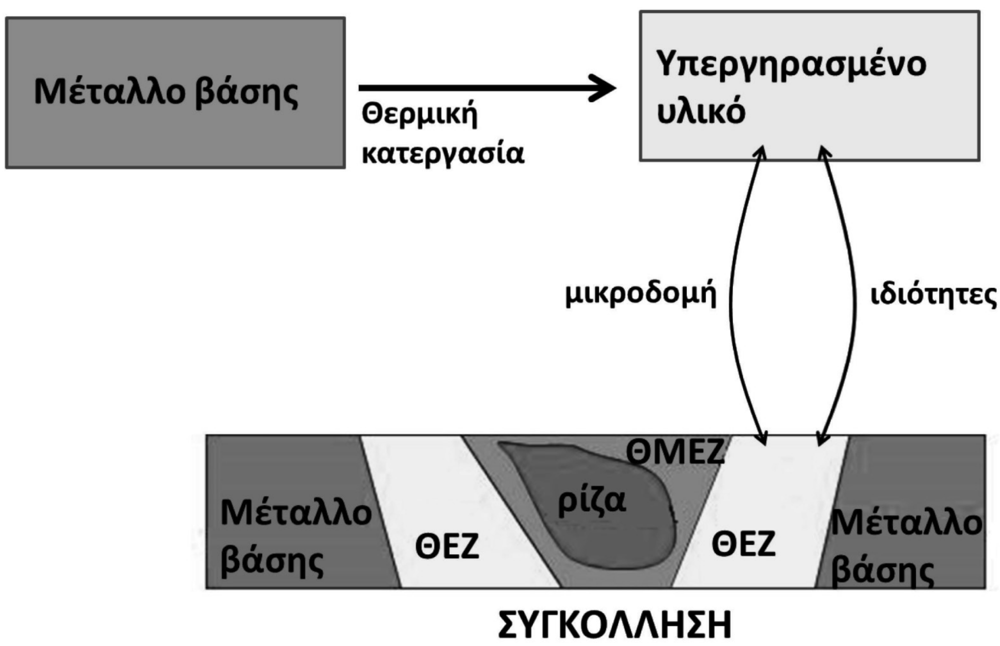


Σχήμα 1. *Σύνδεση ελασμάτων με ήλους συγκριτικά με αντίστοιχη συγκολλητή ένωση*

Στις συγκολλητές κατασκευές, η ύπαρξη ατελειών, ανομοιόμορφης μικροδομής και παραμενουσών τάσεων που προκύπτουν κατά τη διαδικασία της συγκόλλησης, επηρεάζουν σημαντικά την εξέλιξη ρωγμής κόπωσης κατά τη φόρτιση λειτουργίας του αεροσκάφους. Αυτό είναι ένα κρίσιμο πρόβλημα που πρέπει να ληφθεί υπόψη κατά το σχεδιασμό. Ταυτόχρονα, η ανάπτυξη αναλυτικών μοντέλων για την πρόβλεψη εξέλιξης ρωγμής σε συγκολλητές κατασκευές απαιτεί προσεκτική μελέτη των μηχανισμών που επηρεάζουν την εξέλιξη ρωγμής μέσα στην περιοχή συγκόλλησης. Η ανάλυση της συμπεριφοράς εξέλιξης ρωγμής κόπωσης σε στοιχεία που περιέχουν συγκόλληση είναι πολύπλοκη λόγω: i) της ανομοιογενούς μικροδομής στην περιοχή της συγκόλλησης και ii) των παραμενουσών τάσεων που δημιουργούνται στο υλικό κατά τη διάρκεια της συγκόλλησης (Σχήμα 2).



Σχήμα 2. *Παράμετροι που επηρεάζουν την εξέλιξη ρωγμής κόπωσης τύπου θραύσης 1 στην περιοχή συγκόλλησης (α) παραμένουσες τάσεις (β) ανομοιογενής μικροδομή*

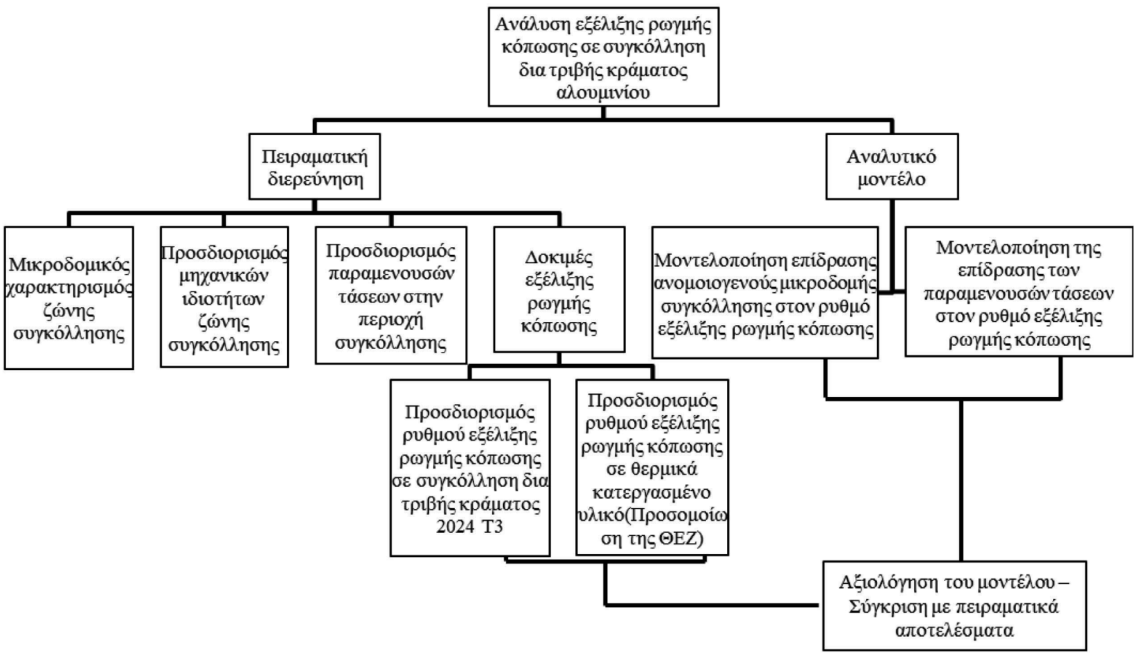


Σχήμα 3. *Μεθοδολογία για την προσομοίωση της ΘΕΖ μέσω θερμικής κατεργασίας του μετάλλου βάσης (κράμα αλουμινίου 2024 T3)*

Στην διατριβή αυτή, πραγματοποιήθηκε πειραματική και αναλυτική μελέτη της συμπεριφοράς εξέλιξης ρωγμής κόπωσης τύπου θραύσης I σε συγκόλληση τριβής με ανάδευση κράματος αλουμινίου. Η μεθοδολογία περιλαμβάνει τη μελέτη της επίδρασης της ανομοιογενούς μικροδομής και των παραμενουσών τάσεων συγκόλλησης στην εξέλιξη ρωγμής κόπωσης. Προκειμένου να μελετηθεί η εκάστοτε παράμετρος ξεχωριστά, η επίδραση της ανομοιογενούς μικροδομής συγκόλλησης στο ρυθμό εξέλιξης ρωγμής απομονώθηκε από τις παραμένουσες τάσεις της συγκόλλησης με χρήση ειδικής θερμικής κατεργασίας στο μέταλλο βάσης για την παραγωγή υλικού που να προσομοιάζει τη μικροδομή της θερμικά επηρεασμένης ζώνης (ΘΕΖ) της συγκόλλησης (Σχήμα 3). Η θερμική κατεργασία οδήγησε στη δημιουργία υλικού με μικροδομικά χαρακτηριστικά και μηχανικές ιδιότητες όμοιες με αυτές που παρατηρήθηκαν στη ΘΕΖ.

Για την προσομοίωση της ΘΕΖ, πραγματοποιήθηκαν δύο διαφορετικές θερμικές κατεργασίες. Η πρώτη αφορούσε δημιουργία υλικού με ομοιόμορφες ιδιότητες σε όλο το πλάτος του, ώστε να διερευνηθεί η επίδραση της υπεργήρανσης στις μηχανικές ιδιότητες του υλικού και η δεύτερη αφορούσε τη δημιουργία βαθμίδας των μηχανικών ιδιοτήτων κατά το πλάτος του υλικού, συνθήκη η οποία προσομοιάζει με μεγαλύτερη ακρίβεια την ΘΕΖ. Η αποτίμηση των μηχανικών ιδιοτήτων και η συμπεριφορά θραύσης του συγκολλητού υλικού καθώς και του υλικού μετά τη θερμική κατεργασία πραγματοποιήθηκε με δοκιμές εφελκυσμού, δυσθραυστότητας και εξέλιξης ρωγμής σε κόπωση. Ιδιαίτερη προσοχή δόθηκε στη μελέτη της επίδρασης της υπεργήρανσης στα χαρακτηριστικά εργοσκλήρυνσης του υλικού. Μέσω δοκιμών κόπωσης υπό σταθερό εύρος παραμόρφωσης, αποτιμήθηκε η κυκλική συμπεριφορά εργοσκλήρυνσης του υλικού και τα αποτελέσματα χρησιμοποιήθηκαν στην ανάλυση, για να εξηγήσουν τη συμπεριφορά εξέλιξης ρωγμής σε κόπωση του υλικού σε κατάσταση υπεργήρανσης σε σχέση με το μέταλλο βάσης. Τέλος, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις μικροσκληρότητας στην τομή της συγκόλλησης καθώς και προσδιορισμός των διαμήκων παραμενουσών τάσεων της συγκόλλησης.

Στο αναλυτικό μέρος της διατριβής, αναπτύχθηκε μοντέλο για την πρόβλεψη εξέλιξης ρωγμής κόπωσης τύπου θραύσης I σε συγκόλληση τριβής με ανάδευση κράματος αλουμινίου. Το μοντέλο λαμβάνει υπόψη για την πρόβλεψη της εξέλιξης ρωγμής σε κόπωση την επίδραση της τοπικά μεταβαλλόμενης μικροδομής του υλικού στην περιοχή συγκόλλησης, καθώς και των παραμενουσών τάσεων που δημιουργούνται στο υλικό λόγω της συγκόλλησης. Βασική παραδοχή του μοντέλου είναι ότι η εξέλιξη



Σχήμα 4. *Αναπαράσταση της μεθοδολογίας που χρησιμοποιήθηκε στη διατριβή*

ρωγμής σε κόπωση πραγματοποιείται βηματικά. Η κρίσιμη ενέργεια για βηματική εξέλιξη της ρωγμής προσδιορίστηκε με χρήση του κριτηρίου πυκνότητας της ενέργειας παραμόρφωσης (SED criterion). Για την πρόβλεψη, η επίδραση της τοπικά μεταβαλλόμενης μικροδομής του υλικού λήφθηκε υπόψη μέσω των κυκλικών μηχανικών ιδιοτήτων του υλικού σε κατάσταση υπεργήρανσης. Η επίδραση των παραμενουσών τάσεων συγκόλλησης στον ρυθμό εξέλιξης ρωγμής έγινε με χρήση του υπολογισμού με υπέρθεση (super position approach). Τα αναλυτικά αποτελέσματα συγκρίθηκαν με τα αντίστοιχα πειραματικά. Αρχικά, πραγματοποιήθηκε εφαρμογή του μοντέλου για πρόβλεψη του ρυθμού εξέλιξης ρωγμής κόπωσης στο θερμικά κατεργασμένο υλικό που προσομοιάζει την ΘΕΖ ώστε να μελετηθεί η ικανότητα του μοντέλου να προβλέπει την επίδραση της μικροδομής της ΘΕΖ στον ρυθμό εξέλιξης της ρωγμής. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε εφαρμογή του μοντέλου σε υλικό συγκόλλησης και η σύγκριση των αποτελεσμάτων με τα αντίστοιχα πειραματικά έδειξε ότι το μοντέλο έχει την ικανότητα να προβλέπει ικανοποιητικά τη συμπεριφορά εξέλιξης ρωγμής κόπωσης στην περιοχή της συγκόλλησης λαμβάνοντας υπόψη την ξεχωριστή επίδραση της ανομοιόμορφης μικροδομής και των παραμενουσών τάσεων της συγκόλλησης.

Στο διάγραμμα του σχήματος 4 παρουσιάζεται συνοπτικά η μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε στη διατριβή.

Λέξεις κλειδιά: πρόβλεψη εξέλιξης ρωγμής κόπωσης, κράματα αλουμινίου, ανοχή στη βλάβη, συγκόλληση τριβής με ανάδευση, κλείσιμο ρωγμής, κυκλική εργοσκλήρυνση, όριο διαρροής

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Δρ. Νικόλαος Αράβας, Καθηγητής, Υπολογιστική Μηχανική των Κατασκευών Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Δρ. Αλέξης Κερμανίδης, Επίκουρος Καθηγητής, Μηχανική Συμπεριφορά Μεταλλικών Υλικών, Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Δρ. Γρηγόρης Χαϊδεμενόπουλος, Καθηγητής, Φυσική Μεταλλουργία - Ανάπτυξη Κραμάτων & Σύγχρονες Κατεργασίες Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Andreas Tzamtzis

Fatigue Crack Growth Prediction under Mode I Loading in Aluminum Alloy Friction Stir Weld

Abstract

The damage tolerance approach has been used in the design of light structures in the transport sector since the early 1970's. It refers to the ability of a structure to withstand damage and therefore understanding and predicting the behaviour of a damaged structure is the basis for successful implementation of this design philosophy.

In aeronautics industry, airframes are primarily made of riveted Al-alloy panels, with a skin and stringer configuration. The requirement of reducing manufacturing and operational cost has lead aerospace industries to look for new, attractive ways to substitute conventional riveting components with large structural elements manufactured as integral structures. In the frame of this concept, implementation of advanced welding technologies (such as friction stir and laser beam welding) in both military and commercial airplanes combined with high-strength aluminum alloys with improved damage tolerance performance, has received significant attention (Figure 1). Apart from the attractive mechanical properties, welded integral structures can offer a cost saving of up to 60% over built-up (differential) structures.

In welded structures, the distribution of defect sizes, inhomogeneous microstructure and residual stresses arising from the weld process, influence fatigue crack propagation, a problem that has to be considered in design. A reliable damage tolerance analysis requires knowledge on how parameters like weld residual stresses and microstructural variations influence the rate of a propagating fatigue crack (Figure 2).

In this work, the problem of a crack propagating perpendicular to a FSW under mode I loading has been investigated experimentally and analytically. In the analysis, the effects of microstructural variations and weld residual stresses on fatigue crack growth have been independently studied and the weight of each influence on crack growth rate has been assessed. To investigate the influence of weld microstructure on the propagating crack, a special heat treatment method was developed to simulate the heat affected zone (HAZ) microstructure of the weld region (Figure 3) in the parent 2024 T3 material.

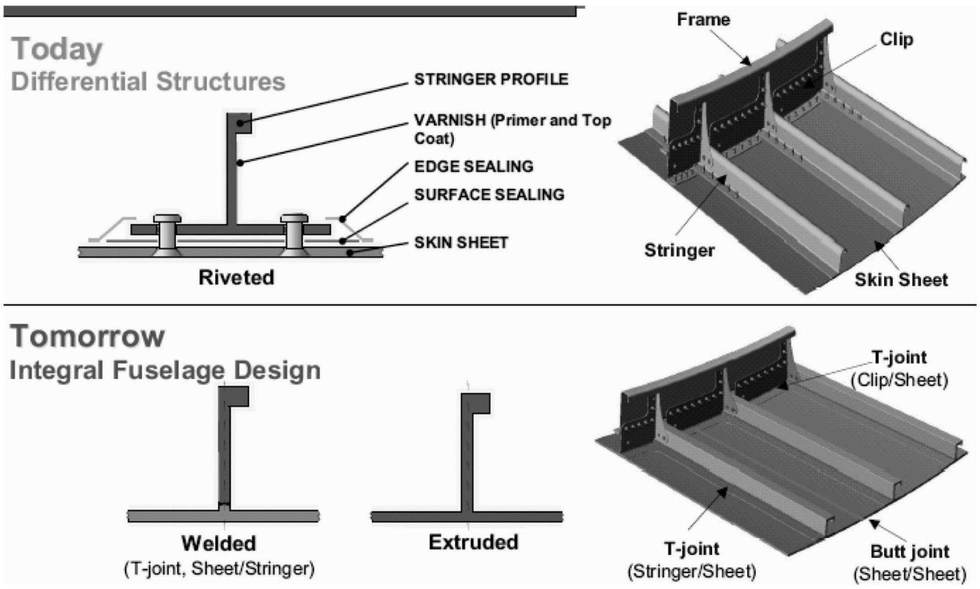


Figure 1. *Riveted vs Integral structures*

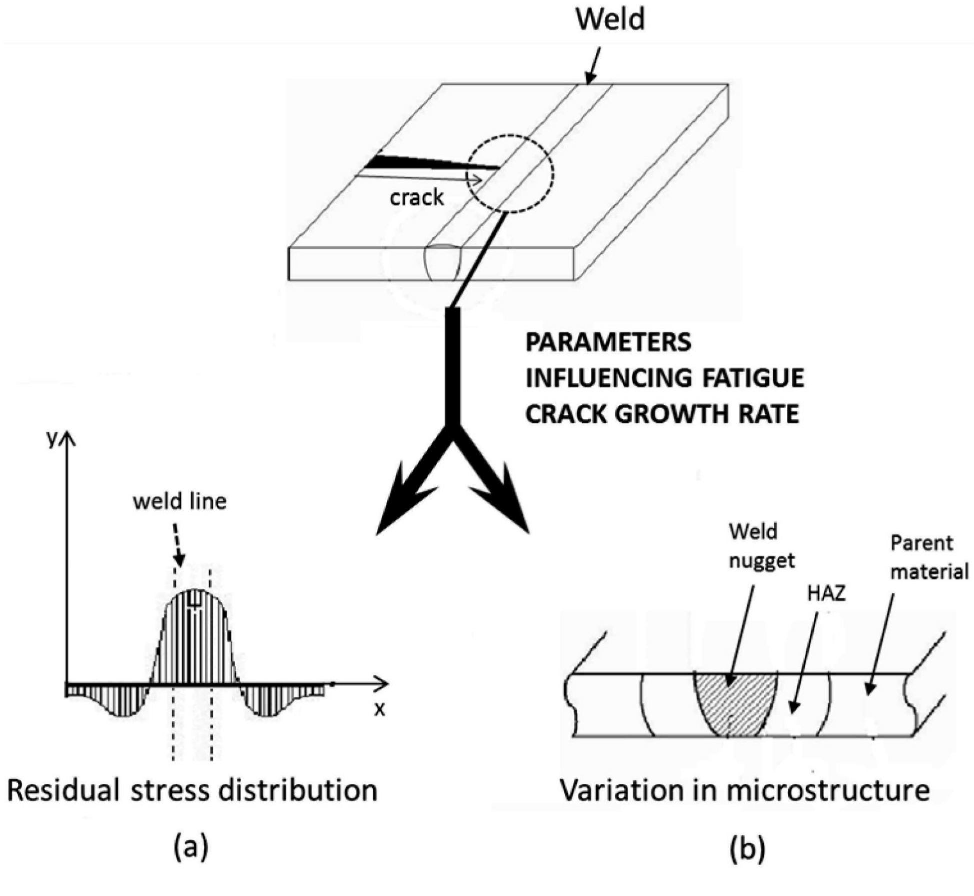


Figure 2. *Parameters influencing mode I fatigue crack propagation in weld region*

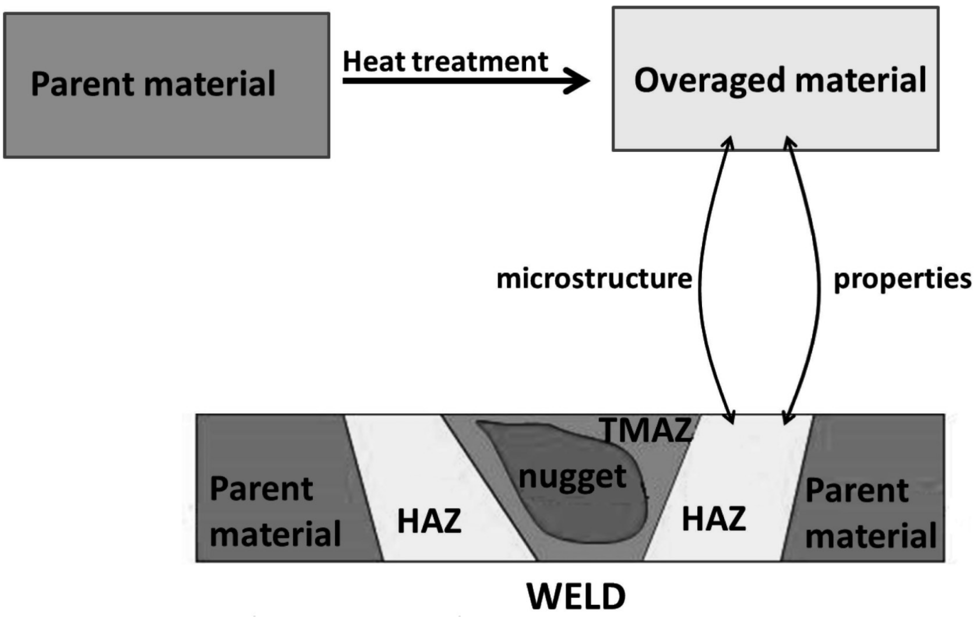


Figure 3. *Methodology used for the simulation of HAZ microstructure in parent 2024 T3 aluminum alloy*

With the implemented heat treatment process, overaged 2024 aluminum alloy was produced with microstructural characteristics and local property variation similar to the HAZ.

Two conditions of overaged 2024 alloy were investigated, one with uniform strength to assess the influence of overaging on the material mechanical properties and one with strength gradient, which is a more accurate simulation of the local property variation in the HAZ. The mechanical performance and fracture behaviour of the weld and heat treated material were assessed by means of tensile, fracture toughness and fatigue crack growth tests. Additionally, fractography was performed to examine the change of fracture characteristics due to overaging of the material. Special attention was paid to the modifications in strain hardening characteristics, due to overaging treatment. The cyclic strain hardening behaviour was investigated with strain controlled cyclic tests and was used in the analysis to explain the dissimilar FCG performance between parent and overaged material. Finally, microhardness measurements in the cross-section of the weld and residual stress measurements perpendicular to the FSW line were conducted.

In the analytical part of the work, a model was developed to predict FCG rate under mode I loading in the FSW. The model takes into account the effects of weld microstructure and weld residual stresses on fatigue crack propagation. It is assumed that crack growth occurs incrementally by damage accumulation. The critical energy for incremental crack growth is determined using the strain energy density (SED) criterion. For prediction of fatigue crack growth the cyclic properties of the overaged material are used. In the model the weld residual stresses are accounted for with the method of the superposition approach. The analytical simulations have been compared to experimental results. Firstly, the model is implemented to predict fatigue crack growth rate in uniformly heat treated material to evaluate the ability of the model to simulate the overaged microstructure on crack propagation rate. Then, the ability of the model to simulate the growth of a fatigue crack propagating in the specimen with the strength gradient is evaluated. Finally, the model is implemented to simulate fatigue crack growth rate in the FSW material and the analytical simulations have been compared to experimental results in FSW 2024 T3 aluminum alloy.

A schematic representation of methodology used in the thesis is shown in Figure 4.

From this investigation, additional knowledge is extracted concerning the basic mechanisms that contribute to fatigue crack propagation in a friction stir weld region. The effect of weld microstructure on FCG was examined by simulating the HAZ microstructure in a parent 2024 T3 material with appropriate

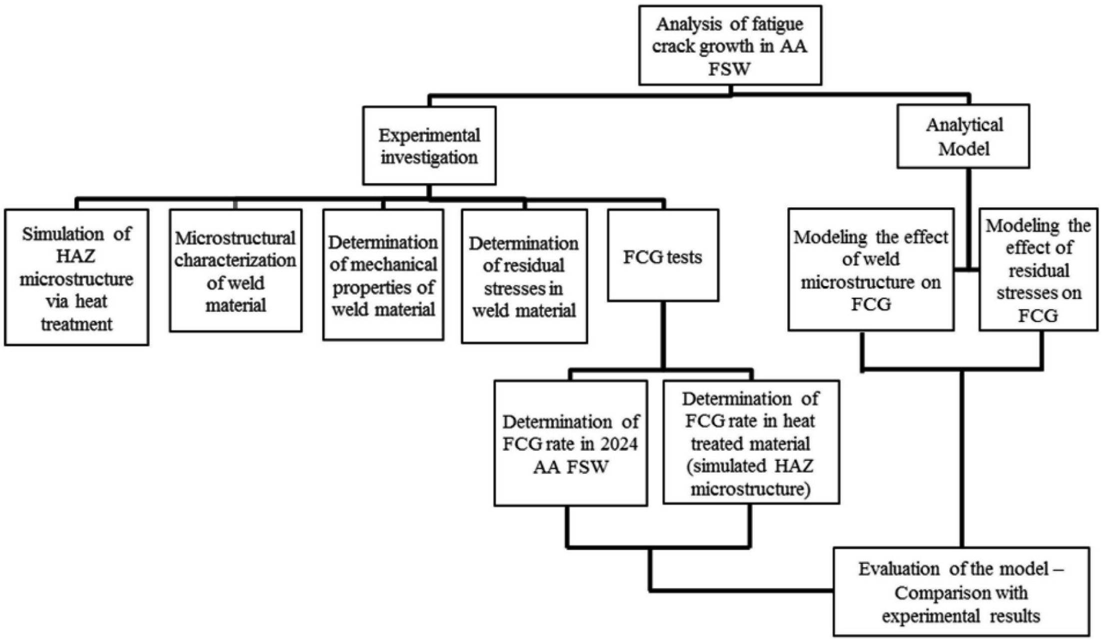


Figure 4. *Methodology used in the thesis.*

overaging treatment and the experimental results showed that in the overaged material fatigue crack growth rates were lower compared to the base metal and were associated with high crack closure levels. Lower fatigue crack growth rates were associated with higher overaging temperatures corresponding to HAZ regions approaching the weld nugget. Concerning the effect of residual stresses on FCG, low tensile residual stresses prevail in the boundary of base metal with HAZ, which result in low fatigue crack growth rates and high tensile residual stresses prevail in the weld nugget, which result in high crack propagation rates. In the analytical part of the thesis, the proposed model takes into account the combined effect of weld microstructure and residual stress profile for the calculation of fatigue crack growth rate and the analytical results showed that the model has the ability to predict satisfactory the fatigue crack growth behaviour inside the FSW region considering the independent effect of weld microstructure and residual stresses on fatigue crack propagation. In the proposed model an attempt is made to give a physical meaning for the increment of the growing fatigue crack. It is correlated quantitatively to the striation spacing observed experimentally during fatigue crack growth. Also an effective stress ratio threshold is estimated for the specimen and loading configuration examined, which indicates when the effect of residual stresses is dominant on fatigue crack propagation and when microstructural influences should be accounted for in the analysis.

Key words: fatigue crack growth, aluminum alloys, damage tolerance, friction stir weld, crack closure, cyclic strain hardening, yield strength

Three - Member Supervisory Committee

Dr. Nikolaos Aravas, Professor, Computational Mechanics of Structures, Department of Mechanical Engineering, University of Thessaly, Greece

Dr. Alexis Kermanidis, Assistant Professor, Mechanical Behaviour of Metallic Materials Department of Mechanical Engineering, University of Thessaly, Greece

Dr. Gregory Haidemenopoulos, Professor, Physical Metallurgy, Department of Mechanical Engineering, University of Thessaly

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Publications within the programme “Heraclitus II”

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Tzamtzis, A.**, Kermanidis, A. T. (2014). Improvement of fatigue crack growth resistance by controlled overaging in 2024-T3 aluminum alloy. *Fatigue & Fracture of Engineering Materials & Structures*, *37*(7), 751-763.

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες
Presentations in scientific conferences and meetings-workshops

1. **Tzamtzis, A.**, & Kermanidis, A. T. (2014, July). *The role of existing strength gradient on fatigue crack growth rate of bare and clad 2024 AA*. Paper presented at 2nd International Conference on Airworthiness & Fatigue – 8th ICSAELS Series Conference, Patras, Greece.
2. **Tzamtzis, A**., & Kermanidis, A.T. (2013, June). *Effect of Overaging on fatigue Crack Propagation of 2024 T3 Aluminum Alloy*. Paper presented at 3rd International Conference of Engineering Against Failure,Kos,Greece.
3. Kermanidis, A. T., & **Tzamtzis, A.** (2012, September). *Prediction of fatigue crack propagation in aluminum alloy with local yield strength gradient at the crack path*. Paper presented at 14th International Congress on Mesomechanics, Budapest, Hungary.
4. **Tzamtzis, A.**, & Kermanidis, A. T. (2012, September). *Experimental investigation of fatigue crack propagation in 2xxx aluminum alloy with local yield strength gradient at the crack path*. Paper presented at 4th International Conference on Crack Paths, Gaeta, Italy.

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων–βιβλία περιλήψεων
Publications in conference proceedings-books of abstracts

1. **Τζαμτζής, Α**., & Κερμανίδης, Α. Θ. (2013). Επίδραση υπεργήρανσης στην κυκλική συμπεριφορά τάσης – παραμόρφωσης κράματος Αλουμινίου 2024-T3. *5ο Πανελλήνιο Συνέδριο Μεταλλικών Υλικών* (σελ. 123 – 128). Βόλος: Ελληνική Μεταλλουργική Εταιρεία.

   Tzamtzis, A., & Kermanidis, A. T. (2013). Effect of overaging on cyclic stress-strain behaviour of 2024-T3 Aluminum alloy. *5th Greek National Conference of Metallic Materials* (pp.123-128). Volos, Greece:Hellenic Metallurgical Society.

Σύντομο Βιογραφικό

Ο **Ανδρέας Τζαμτζής** γεννήθηκε στην Αθήνα το 1984 και μεγάλωσε στην πόλη του Βόλου. Σπούδασε Μηχανολόγος Μηχανικός στην Πολυτεχνική Σχολή του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και αποφοίτησε το 2007, με βαθμό πτυχίου 7.06. Το 2008, συνέχισε με μεταπτυχιακές σπουδές στο Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, απ' όπου και απέκτησε Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης στις «Σύγχρονες μεθόδους Μηχανικής, Υλικών και Κατεργασιών» το 2011, με βαθμό 8.13 και Διδακτορικό Δίπλωμα το 2015. Στο πλαίσιο του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης, ασχολήθηκε με την επίδραση της τοπικής μεταβολής του ορίου διαρροής λόγω υπεργήρανσης στη διάδοση ρωγμής σε κόπωση κράματος Αλουμινίου 2024-T3, ενώ η διδακτορική του διατριβή αφορούσε την «Πρόβλεψη εξέλιξης ρωγμής κόπωσης τύπου θραύσης I σε συγκόλληση τριβής με ανάδευση κράματος αλουμινίου». Η εκπόνηση της διδακτορικής του διατριβής, χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα διδακτορικών υποτροφιών «Ηράκλειτος ΙΙ».

Κατά τη διάρκεια των σπουδών του, διετέλεσε μέλος του Εργαστηρίου Μηχανικής & Αντοχής Υλικών του Τμήματος Μηχανολόγων Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, όπου συμμετείχε ενεργά σε πληθώρα παροχών υπηρεσιών προς τη βιομηχανία καθώς και ερευνητικών έργων που αφορούσαν τη μελέτη της μηχανικής συμπεριφοράς μεταλλικών υλικών. Παράλληλα, στο διάστημα 2008-2014, παρείχε διδακτική υποβοήθηση στα μαθήματα Τεχνολογία των Υλικών και Μηχανική Συμπεριφορά των Υλικών του Τμήματος.

Short CV

Andreas Tzamtzis was born in Athens (1984) and raised in Volos, Greece. He studied in the Mechanical Engineering Department at the University of Thessaly and he graduated in 2007. He received his Postgraduate Specialization Diploma in “State-of-the-Art Design and Analysis Methods in Industry” in the track Mechanics, Materials and Manufacturing Processes, in 2011 and his Ph.D. in 2015, from the Mechanical Engineering Department of the University of Thessaly.

His Postgraduate Diploma thesis concerned the effect of local yield strength gradient due to overaging at the crack path on fatigue crack propagation of 2024 T3 Aluminum Alloy and his Ph.D. thesis concerned the “Fatigue Crack Growth Prediction under Mode I Loading in Aluminum Alloy Friction Stir Weld”. His PhD work was financed by the “Heraclitus II” PhD Scholarship Programme.

During his studies he was a member of Mechanics & Strength of Materials Laboratory of the University of Thessaly. He has participated in many technical and scientific works dealing with mechanical behaviour of metallic materials. Also, during the years 2008-2014, he supported the Lectures and Laboratories of Courses “Introduction to Materials Science and Engineering” and “Mechanical Behavior of Materials” at the Mechanical Engineering Department of the University of Thessaly.

Φωτεινή Τζορμπατζόγλου

Σχεδιασμός και ανάπτυξη συστήματος Κυψελίδας Καυσίμου (τύπου PEM) – Κυψελίδας Ηλεκτρόλυσης νερού (τύπου PEM): Παρασκευή και χαρακτηρισμός νέων

Περίληψη

Τα τελευταία χρόνια, η απαίτηση για καθαρές και βιώσιμες πηγές ενέργειας έχει γίνει μια ισχυρή κινητήριος δύναμη για τη συνέχιση της οικονομικής ανάπτυξης καθώς επίσης και για τη βελτίωση των συνθηκών διαβίωσης του ανθρώπου. Για το λόγο αυτό, η παγκόσμια ερευνητική κοινότητα έχει στρέψει το ενδιαφέρον της στην ανάπτυξη νέων συστημάτων μετατροπής ενέργειας, όπως είναι οι κυψέλες καυσίμου πολυμερικής μεμβράνης (PEM), δηλαδή μεμβράνες ανταλλαγής πρωτονίων, στοχεύοντας σε υψηλότερες ενεργειακές αποδόσεις και χαμηλές ή μηδενικές εκπομπές καυσίμου. Στις κυψέλες καυσίμου τύπου PEM, το προτιμώμενο καύσιμο θεωρείται το καύσιμο του υδρογόνου, λόγω της υψηλότερης απόδοσής του (έως 70%), Οι κυψέλες καυσίμου θεωρούνται από τα πιο ελπιδοφόρα συστήματα μετατροπής της ενέργειας του 21ου αιώνα, καθώς μπορούν να ανταγωνιστούν, από την άποψη της αποτελεσματικότητας, με τις μπαταρίες, τους κινητήρες εσωτερικής καύσης και τα ηλεκτρικά δίκτυα. Ωστόσο, το μεγάλο μειονέκτημα και ο βασικός λόγος που περιορίζεται η μαζική εμπορευματοποίηση των συστημάτων αυτών είναι το υψηλό τους κόστος. Το υψηλό κόστος οφείλεται κυρίως στην υψηλή τιμή και στα λίγα αποθέματα της πλατίνας (λευκόχρυσος Pt), η οποία μέχρι σήμερα θεωρείται ο αποδοτικότερος και σταθερότερος καταλύτης των κυψελίδων καυσίμου. Έτσι, στόχος της επιστημονικής κοινότηταw, καθώς και της συγκεκριμένης διδακτορικής διατριβής είναι η ανάπτυξη νέων καταλυτών μικρής (μg_{Pt}) ή μηδενικής περιεκτικότητας σε λευκόχρυσο, επιλύοντας ως ένα βαθμό το πρόβλημα κόστους.

Την τελευταία δεκαετία, ένας σοβαρός αριθμός ερευνητικών ομάδων παγκοσμίως επικεντρώθηκαν στην έρευνα των ηλεκτροκαταλυτών με μικρή ποσότητα Pt ή χωρίς Pt, τόσο για την αντίδραση της οξείδωσης του υδρογόνου (HOR) όσο και για την αντίδραση αναγωγής του οξυγόνου (ORR). Με εξαίρεση την πλατίνα, η ηλεκτροκαταλυτική δραστηριότητα του παλλαδίου (Pd) είναι μια από τις υψηλότερες μεταξύ των καθαρών μέταλλων και για την HOR και την ORR. Αυτό, σε συνδυασμό με το γεγονός ότι το κόστος του παλλαδίου είναι περίπου το ήμισυ του κόστους της πλατίνας, μας το καθιστά μια ελκυστική εναλλακτική λύση.

Στη διδακτορική διατριβή, διεξήχθη βιβλιογραφική ανασκόπηση, με σκοπό να προσδιοριστούν οι πιο αποτελεσματικοί ηλεκτροκαταλύτες για τις κυψέλες καυσίμου πολυμερικής μεμβράνης τροφοδοσίας υδρογόνου. Το πρώτο βήμα του σχεδιασμού και της ανάπτυξης των κυψελών καυσίμου είναι η αναγνώριση των πιο δραστήριων ηλεκτροκαταλυτών ως προς την αντίδραση της ανόδου και της καθόδου. Για το σκοπό αυτό, στην εργασία αυτή, διμεταλλικοί ηλεκτροκαταλύτες που έχουν ως βάση το παλλάδιο (Pd-based) κατασκευάστηκαν και εξετάστηκαν ως ανοδικοί και καθοδικοι ηλεκτροκαταλύτες, για HOR και ORR, αντίστοιχα. Πιο συγκεκριμένα, μια σειρά διμεταλλικών καταλυτών Pd_xRh_y/ Vulcan XC-72, Pd_xIr_y / Vulcan XC-72 με ατομική αναλογία (x,y = 3:1, 1:1, 1:3) και PdPt (97:3, 98:2, 99:1) μελετήθηκαν ως ανοδικοί και καθοδικοί καταλύτες για PEMFCs.

Για την παρασκευή των εξεταζόμενων ηλεκτροκαταλυτών, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος σύνθεσης πολυόλης με παλμικά μικροκύματα. Η μέθοδος παρασκευής είναι μια πολύ σημαντική παράμετρος για την απόδοση των καταλυτών, καθώς επηρεάζει τις ιδιότητές τους (παράμετρος πλέγμα, διάμετρος των νανοσωματιδίων).Τα αξιοσημείωτα πλεονεκτήματα της μεθόδου της πολυόλης με τη βοήθεια μικροκυμάτων είναι τα εξής: i) η ταχεία ογκομετρική θέρμανση ii) η υψηλότερη ταχύτητα και εκλεκτικότητα αντίδρασης iii) λιγότερος χρόνος αντίδρασης και iv) υψηλότερη απόδοση του προϊόντος σε σύγκριση με τις συμβατικές μεθόδους θέρμανσης. Ως αποτέλεσμα, η θέρμανση με μικροκύματα καθιστά γρήγορη την παρασκευή νάνο-υλικών με σχετικά χαμηλό κόστος, με μεγαλύτερη απόδοση προϊόντος και με τη δυνατότητα περισσότερων πρακτικών εφαρμογών. Για τους παραπάνω λόγους, η μέθοδος σύνθεσης πολυόλης με τη βοήθεια παλμικών μικροκυμάτων είναι η πιο διαδεδομένη στην επιστημονική κοινότητα.

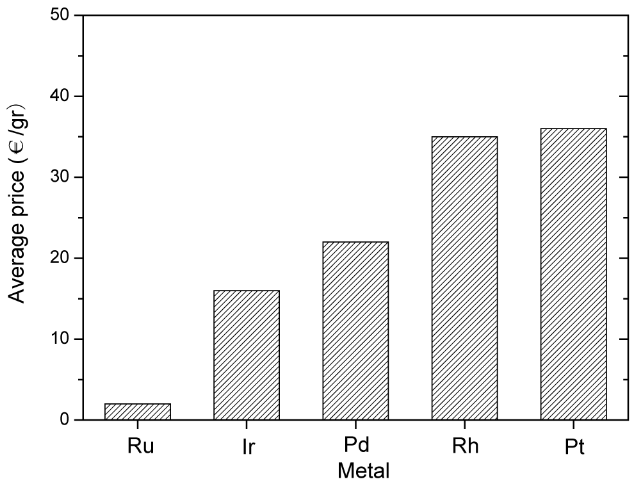
Οι φυσικοχημικοί χαρακτηρισμοί των παρασκευασθέντων καταλυτών έγιναν με χρήση των τεχνικών της περίθλασης ακτίνων X (XRD) και της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας διέλευσης (TEM).Τα φάσματα περίθλασης ακτίνων X ελήφθησαν με χρήση περιθλασίμετρου D/Max-IIIA (Rigaku Co., Japan) εξοπλισμένου με λάμπα Cu και φίλτρο Ni (ώστε να παρέχεται η ακτινοβολία Kα του Cu, λ=1.54056 nm). Οι μικρογραφίες των δειγμάτων με την τεχνική της ηλεκτρονικής μικροσκοπίας διέλευσης (Transmission Electron Microscopy - TEM) ελήφθησαν με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο τύπου JEOL JEM-2010 (HR).Οι ηλεκτροχημικές μετρήσεις διεξήχθησαν με τον ηλεκτροχημικό

σταθμό AMEL 5000 με την μέθοδο της κυκλικής βολταμετρίας (CV), ηλεκτρόδιο περιστρεφόμενου δίσκου (RDE) και την τεχνική χρονοαμπερομετρίας (CA). Στο τέλος κάθε κεφαλαίου, συνοψίζονται τα επιστημονικά αποτελέσματα των εξεταζόμενων ηλεκτροκαταλυτών. Ταυτόχρονα, δίνονται κάποιες προοπτικές για περαιτέρω συνέχιση της έρευνας αυτής.

Για τον ηλεκτροχημικό χαρακτηρισμό των συστοιχιών άνοδος/ηλεκτρολύτης/κάθοδος (membrane electrode assembly, MEA) χρησιμοποιείται κυψέλη καυσίμου τύπου (PEM) (Εικόνα 2Α) με κανάλια ροής "σερπεντίνη"(Εικόνα 2Β) συνολικής επιφάνειας A=5cm^2 (2.24x2.24), της εταιρείας Fuel Cell Technologies, Inc. Το υδρογόνο τροφοδοτείται στην άνοδο και το οξυγόνο στην κάθοδο. Οι ροές της τροφοδοσίας ελέγχονται από ψηφιακά ροόμετρα μάζας (Brooks Instruments). Για λόγους ασφάλειας, αμέσως μετά την έξοδο από τα ροόμετρα έχουν τοποθετηθεί διοδικές βαλβίδες on/off στη ροή του υδρογόνου και του οξυγόνου. Στη συνέχεια οι ροές εισέρχονται στους κορεστές υγρασίας, όπου τα αντιδρώντα αέρια εμπλουτίζονται σε υδρατμούς και οδηγούνται προς την κυψέλη καυσίμου. Τα αέρια αντιδρώντα χρειάζεται να εμπλουτίζονται σε υδρατμούς πριν την είσοδο τους στην κυψέλη καυσίμου έτσι ώστε η μεμβράνη να ενυδατώνεται συνεχώς και να μην επηρεάζεται αρνητικά η αγωγιμότητά της. Το τμήμα των γραμμών τροφοδοσίας από την έξοδο των κορεστών μέχρι την είσοδο της ανόδου και της καθόδου θερμαίνεται. Η θερμοκρασία των συγκεκριμένων γραμμών δεν πρέπει να έχει μεγάλη απόκλιση (±5 ^{o}C) από τη θερμοκρασία της κυψέλης καυσίμου, καθώς μπορεί να προκληθεί συμπύκνωση των υδρατμών στο εσωτερικό της κυψέλης και να παρατηρηθούν φαινόμενα πλημμύρισης (flooding). Οι ηλεκτροχημικές μετρήσεις λαμβάνουν χώρα με τη βοήθεια ηλεκτροχημικού σταθμού (AMEL 7050) και τα δεδομένα καταγράφονται σε υπολογιστή αυτόματα.

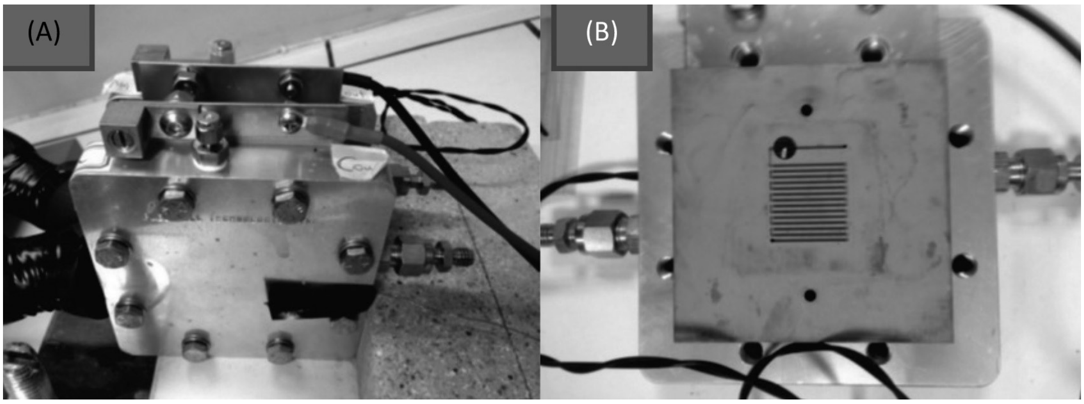
Το υδρογόνο μπορεί να παρασκευαστεί με πολλούς και διάφορους τρόπους, όπως για παράδειγμα από την πυρηνική ενέργεια μέσω θερμικής αποσύνθεσης του νερού ή από την ηλιακή ενέργεια μέσω ηλεκτρόλυσης του νερού και έχει προταθεί από την επιστημονική κοινότητα σαν το πιο πιθανό καύσιμο του μέλλοντος λόγω των σημαντικών ιδιοτήτων του σε αντικατάσταση των παραγώγων του πετρελαίου, καυσίμων του σήμερα. Στο δεύτερο μέρος της εργασίας αυτής, συζητούμε για μία από τις κύριες πηγές που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή του υδρογόνου. Η ηλεκτρόλυση του νερού είναι η αντίστροφη διαδικασία της αντίδρασης οξείδωσης του υδρογόνου σε ένα κελί καυσίμου. Κατά την ηλεκτρόλυση του νερού, το νερό διασπάται στα βασικά στοιχεία, υδρογόνο και οξυγόνο, με την παροχή ηλεκτρικού ρεύματος. Η απαιτούμενη ηλεκτρική ενέργεια μπορεί να προέλθει από οποιαδήποτε ανανεώσιμη πηγή ενέργειας. Ένα από τα πλεονεκτήματα αυτής της μεθόδου είναι το υψηλής καθαρότητας υδρογόνο που παράγεται. Επίσης, το παραγόμενο οξυγόνο μπορεί να αξιοποιηθεί για βιομηχανική η άλλη χρήση.

Μια συσκευή ηλεκτρόλυσης μπορεί να είναι μικρή σε μέγεθος και κατάλληλη για μικρής κλίμακας παραγωγή υδρογόνου. Ωστόσο, η μέθοδος της ηλεκτρόλυσης αντιμετωπίζει το βασικό πρόβλημα που αντιμετωπίζουν και οι κυψέλες καυσίμου. Το απαγορευτικό κόστος τους, το οποίο προέρχεται κυρίως από τη χρήση των πολύτιμων μετάλλων, αναβάλλει εφαρμογές στη βιομηχανία. Σε αυτό το κεφάλαιο μελετάται η αποτελεσματικότητα και η καταλυτική δράση ηλεκτροκαταλυτών μηδενικής περιεκτικότητας σε πλατίνα και με βάση το παλλάδιο, για την αντίδραση σχηματισμού υδρογόνου (HER) σε όξινο περιβάλλον.



Εικόνα 1*: Η μέση τιμή σε ευρώ ανά γραμμάριο για τα πολύτιμα μέταλλα για το έτος 2014.*

[1] Platinum Today Available from: http://www.platinum.matthey.com/prices/price-charts.



***Εικόνα 2:** (A) Μοναδιαία κυψέλη καυσίμου (Fuel Cell Technologies, Inc.), (B) Οφιοειδή κανάλια ροής του εσωτερικού της μοναδιαίας κυψέλης καυσίμου πολυμερικής μεμβράνης της Εικόνας 2Α.*

Λέξεις-κλειδιά: μέθοδος σύνθεσης πολυόλης με παλμικά μικροκύματα, οξείδωση του υδρογόνου, πλατίνα, παλλάδιο, ιρίδιο, κυψέλες καυσίμου

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Παναγιώτης Τσιακάρας, Καθηγητής, Τομέας: Συστήματα μετατροπής ενέργειας: κατάλυση, ηλεκτροκατάλυση και μηχανική κυψελίδων καυσίμου, Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας *(επιβλέπων)*

Συμεών Μπεμπέλης, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τομέας Χημικής Τεχνολογίας & Εφαρμοσμένης Φυσικοχημείας, Τμήμα Χημικών Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Πατρών

Στυλιανός Νεοφυτίδης, Δρ.: Ερευνητικό Ινστιτούτο Χημικής Μηχανικής και Διεργασιών Υψηλής Θερμοκρασίας (ΕΙΧΗΜΥΘ)

Foteini Tzorbatzoglou

Design and development of a fuel cell system (Type PEM)-Water electrolysis type PEM: Preparation and characterization of low-cost electrocatalytic materials

Abstract

In today's world, the demand for clean and sustainable energy sources has become a strong driving force in continuing economic development, and thus as well in the improvement of human living conditions. Proton exchange membrane (PEM) fuel cells, as clean energy-converting devices, have drawn a great deal of attention in recent years, due to their high efficiency, high energy density and low or zero emissions. In these systems, hydrogen is considered as the preferred fuel, in virtue of its high activity and environmental benignity. Fuel cell is considered as one of the most promising products of 21st Century, as it can compete, in terms of efficiency, with batteries, internal combustion engines and power grids. However, the major barrier to the widespread use of fuel cells is their a) high cost and b) low reliability/durability. This high cost of the catalyst is due to the extensively adopted platinum (Pt) based nanomaterials for the desirable PEMFC performance with high activity and high stability. The limited resources of platinum are the major factors in these challenges increasing the interest of the scientific community towards the exploration of Pt-free electrocatalysts.

The last decade, a severe number of research groups world-widely have focused on the investigation of electrocatalysts with small amount of Pt or without Pt, for both the hydrogen oxidation reaction (HOR) and the oxygen reduction reaction (ORR). With the exception of Pt, the electrocatalytic activity of palladium (Pd) is one of the highest among the pure metals for both HOR and ORR. This, combined with the fact that the cost of Pd is about the half of Pt, makes it an attractive alternative (Figure 1).

In the Ph.D thesis, literature review was conducted, in order to identify the most efficient and studied electrocatalysts for proton exchange membrane fuel cells fed with hydrogen. The first step of design and development of fuel cells is

the recognition of the most active electrocatalysts towards anode and cathode reaction. To this purpose, in this work, binary Pd-based electrocatalysts were made and were investigated as anode and cathode electrocatalysts for HOR and ORR, respectively. More precisely, Pd_xRh_y (20 wt%)/ Vulcan XC-72, Pd_xIr_y (20 wt%)/Vulcan XC-72,Pd_xPt_y (20 wt%)/ Vulcan XC-72 and PdPt@WC/OMC are studied as anode and cathode materials for PEMFCs.

For the preparation of the examined electrocatalysts, a modified-microwave assisted polyol method was used. Preparation method is a very important parameter for catalysts' preparation as it affects their properties (lattice parameter, diameter of nanoparticles, catalysts dispersion on the support). The modified microwave assisted polyol method was chosen because of the following remarkable advantages: i) rapid volumetric heating ii) higher reaction rate and selectivity iii) shorter reaction time and iv) higher yield of the product compared to the convention heating methods. As a result, the microwave heating makes the fast preparation of nanomaterials possible, leading to relative low cost, energy saving and high efficiency for materials production, thus advancing rapidly towards their practical applications. Therefore, the use of microwave heating is more popular in scientific world.

The physicochemical characterization of electrocatalysts was conducted by X-ray Diffraction (XRD) and Transmission Electron Microscopy (TEM). The X-ray Diffraction (XRD) measurements were carried out with the aid of a D/Max-IIIA (Rigaku Co., Japan) employing Cu Kα (λ = 0.15406 nm) as the radiation source at 40 kV and 40 mA. Catalysts were investigated by TEM using a Philips CM12 microscope (resolution 0.2 nm), provided with high resolution camera, at an accelerating voltage of 120 kV. The electrochemical characterization was carried out with the Cyclic Voltammetry (CV), Rotating Disk Electrode Technique (RDE) and Chronoamperometry techniques (CA). At the end, a chapter summarizes the scientific results of the examined electrocatalysts in the framework of the PhD dissertation. At the same time, some outlooks for further continuation of this research are provided.

Thereafter, a PEM made of Nafion 212, with PdPt loading $0.5 mgPtcm^{-2}$ as an anode and Pt loading $0.5 mgPtcm^{-2}$ as a cathode, was used (Figure 2). The performance of the MEA was evaluated, as depicted in Figure 2B, using serpentine flow channels with total surface area = $5 cm^2$ (2.24x2.24) of Fuel Cell Technologies, Inc. company. Polarization studies were conducted at various cell temperatures with humidified hydrogen and oxygen gas reactants. Cyclic voltammetry and rotating disk electrode studies were also carried out to estimate the electrochemical active surface area and to characterize the electrocatalyst for the Hydrogen Oxidation Reaction (HOR) and Oxygen Reduction Reaction (ORR). Impedance measurements were carried out using a Materials M 520 frequency response analyser (AMEL) coupled to 7050 AMEL electrochemical station.

Hydrogen in molecular form can be produced from many different sources and in many different ways. In the second part of this work, we discuss about one of the main sources used for the production of hydrogen. Electrolysis is the reverse of the hydrogen oxidation reaction in a fuel cell. This reaction takes place in a unit called an electrolyzer. Electrolyzers can be small, appliance-size equipment and well-suited for small-scale distributed hydrogen production. However, electrolyzers are facing the main problem that fuel cells faced with. Their prohibitive cost which comes mainly from the use of noble metals as electrocatalysts, postpones applications in the industry. Many concerns are related to the high costs of catalysts used, based on Ir and Pt black with high metal loading. It is suggested that capital costs could be reduced by reducing the loading and/ or substituting the expensive noble materials used for the fabrication of catalyst layers. In this work, we study the efficiency and the catalytic activity of some prepared electrocatalysts in $0.5 mol L^{-1} H_2SO_4$ for Hydrogen evolution reaction (HER) and oxygen evolution reaction (OER).

Key Words: Microwave-assisted polyol, Hydrogen oxidation reaction, Platinum, Palladium, Iridium low-Pt, hydrogen, fuel cell

Three - Member Supervisory Committee

Dr. Panagiotis Tsiakaras, Professor: Energy Conversion Systems: Catalysis, Electocatalysis and Fuel Cells engineering, Department of Mechanical Engineering, University of Thessaly, Greece (*supervisor*)

Symeon Bebelis, Associate Professor: Chemical Technology & Applied Physical Chemistry, Department of Chemical Engineering, University of Patras, Greece

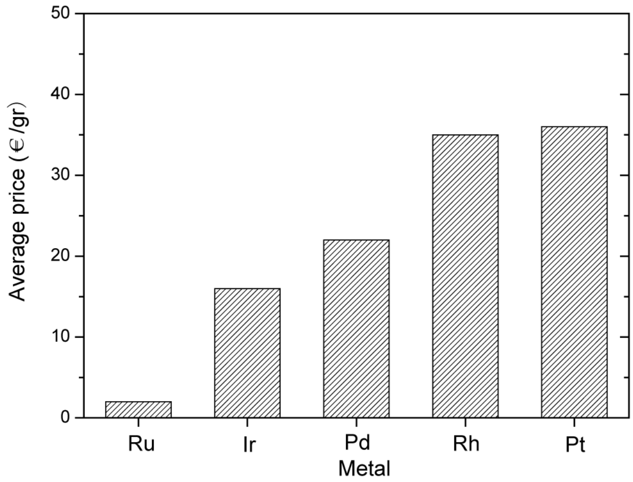


Figure 1: *The average price in Euro per gram in the last year [1].*

[1] Platinum Today Available from: http://www.platinum.matthey.com/prices/price-charts.

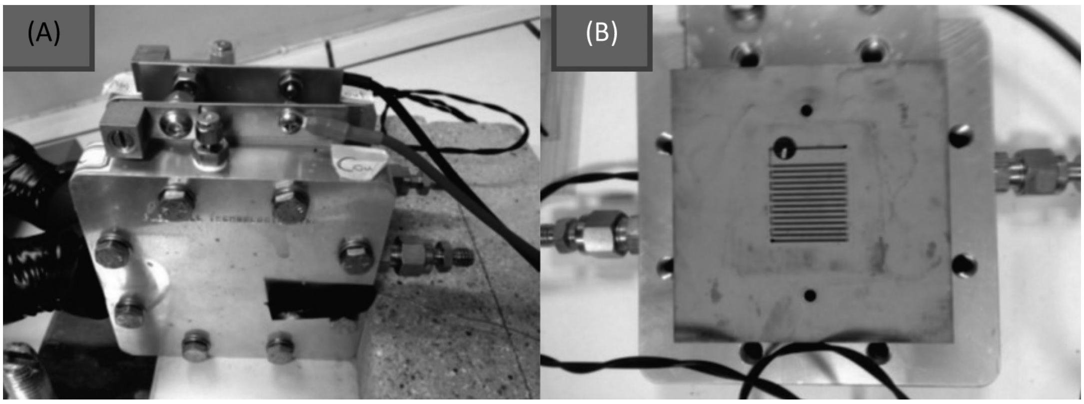


Figure 2: *(A) Fuel cell (Fuel Cell Technologies, Inc.)*
(B) Internal flow channels of polymer electrolyte fuel cell unit membrane.

Stylianos Neophytides, Research Director: Institute of Chemical Engineering and High Temperature Processes (ICE/HT), Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Tzorbatzoglou, F.**, Brouzgou, A., & Tsiakaras, P. (2015). Electrocatalytic Activity of Vulcan-XC-72 Supported Pd, Rh and PdxRhy towards HOR and ORR. *Applied Catalysis B: Environmental*, 174-175, 203-211.

2. Wang, K., Pana, Z., **Tzorbatzoglou, F.**, Zhang, Y., Wang, Y., & Tsiakaras, P .(2015). An investigation of WC stability during the preparation of Pt@WC/OMC via a pulse microwave assisted polyol method. *Applied Catalysis* B: Environmental,166-167,224-230.

3. Yuan, X., Yuan, D., Zeng, F., Zou, W., **Tzorbatzoglou, F.**,Tsiakaras, P., & Wang, Y. (2013).Preparation of graphitic mesoporous carbon for the simultaneous detection of hydroquinone and catechol. *Applied Catalysis B: Environmental*,129, 367-374.

4. Stamatis, A., Vinni, Ch., Bakalis, D., **Tzobatzoglou, F.**, & Tsiakaras, P. (2012). Exergy analysis of an intermediate temperature solid oxide fuel cell-gas turbine hybrid system fed with ethanol. *Energies* 2012,5, 4268-4287.

Ανακοινώσεις σε συνέδρια-ημερίδες
Presentations in conferences and meetings-workshops

1. **Tzorbatzoglou, F.**, Brouzgou, A., & Tsiakaras, P. (2013, December). *A review of the most efficient low-Pt and Pt-free electrocatalysts for Hydrogen PEMFCs*. Paper presented at Fifth European Fuel Cell Technology & Applications Conference - Piero Lunghi Conference, Rome, Italy.

2. Murashkina, A., Pikalova, E., Medvedev, D., Demin, A., **Tzorbatzoglou, F.**, & Tsiakaras, P. (2013, December). *New mixed ionic –electronic composite materials based on* $SRTI_{0.5}\,FE_{0.5}O_{3\text{-}\Delta}$ *and* $CE_{0.8}(SM0.8SR_{0.2})_{0.2}\,O_{2\text{-}\Delta}$. Paper presented at Fifth European Fuel Cell Technology & Applications Conference - Piero Lunghi Conference, Rome, Italy.

3. **Τζορμπατζόγλου, Φ.**, & Τσιακάρας, Π. (2012, Σεπτέμβριος). *Ηλεκτροκαταλύτες για κυψέλες καυσίμου με τροφοδοσία Υδρογόνου: Παρούσα κατάσταση, προκλήσεις και προοπτικές*. Προφορική ανακοίνωση στο 1ο Περιβαλλοντικό Συνέδριο Θεσσαλίας, Σκιάθος, Ελλάδα.

   Tzorbatzoglou, F., & Tsiakaras, P. (2012, September). *Electrocatalysts for Fuel Cells fed with Hydrogen: Current Status, challenges and Perspectives*. Paper presented at 1st Environmental Conference of Thessaly, Skiathos, Greece.

4. Vinci, A., Brouzgou, A., Papagerides, K., Tzorbaztoglou, F., Cavallaro, S., & Tsiakaras, P. (2012,July). *Low temperature production of hydrogen through ethanol catalytic decomposition over commercial copper chromite*. Paper presented at the Cat4Bio Conference Advances in Catalysis for Biomass Valorization,Thessaloniki, Greece.

5. Song, S., Brouzgou, A., **Tzorbatzoglou, F.**, & Tsiakaras, P. (2012, April). *Electro-oxidation of ethanol and its intermediate products: a two-step sequence of efficient PtSn@Rh/C synthesis*. Conference Grove Fuel Cell 2012. Germany, Berlin.

6. Brouzgou, A., **Tzorbatzoglou, F**., & Tsiakaras, P.(2011, July). Direct alcohol fuel cells: Challenges and future trends. 3rd International Youth Conference on Energetics, *IYCE 2011, Portugal*

7. Brouzgou, A., Song, S., **Tzorbatzoglou, F.**, & Tsiakaras, P. (2011, June). *Low and Non-Platinum Electrocatalysts for PEMFC: Current Status, Challenges and Prospects*. Paper presented at 9th European Symposium on Electrochemical Engineering(9th ESEE), Chania, Crete, Greece.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Φωτεινή Τζορμπατζόγλου** γεννήθηκε στη Λάρισα, στις 17 Ιουνίου 1984. Σπούδασε στο Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών του Πανεπιστημίου Δυτικής Μακεδονίας. Το 2008, πήρε το Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης: :«Σύγχρονες Μέθοδοι Σχεδιασμού και Ανάλυσης στη Βιομηχανία» στα Ενεργειακά Συστήματα, Βιομηχανικές Διεργασίες και Τεχνολογίες Αντιρρύπανσης, από το Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Έπειτα, πραγματοποίησε το διδακτορικό της, με υποτροφία από το πρόγραμμα "Ηράκλειτος ΙΙ", στο Εργαστήριο Εναλλακτικών Συστημάτων Μετατροπής Ενέργειας του Τμήματος Μηχανολόγων Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Έχει εμπειρία δύο χρόνων στα φωτοβολταϊκά συστήματα και στα εναλλακτικά συστήματα μετατροπής ενέργειας ως μηχανολόγος μηχανικός.

Μιλάει άπταιστα Αγγλικά (Certificate of Proficiency in English, The University of Michigan).

Είναι κάτοχος ECDL Core Certificate: Concepts of IT, Using Computer and Managing Files, Microsoft Office (Excel, Word, Power Point, Access), Information and Communication (Internet, Outlook) και Certificate of Completion of the Autodesk Authorized Training Center (ACT), Autocad 2008.

Short CV

Fotini Tzorbatzoglou was born in Larissa, Greece, on 17th June 1984. She studied Mechanical Engineering, at the Department of Mechanical Engineering of the University of Western Macedonia, Greece. In 2008, she acquired the Postgraduate Specialization Diploma: "State-of-the-Art Design and Analysis Methods in Industry" in the Energy Systems, Industrial Processes and Pollution-Abatement Technologies, from the Division of the Department of Mechanical Engineering, University of Thessaly, Greece.

Afterwards, she worked on a PhD thesis, with a scholarship by the programme «Heraclitus II» in the Laboratory of Alternative Energy Conversion Systems at the Department of Mechanical Engineering of the University of Thessaly.

She has two-year experience on photovoltaic systems and alternative energy conversion systems as a mechanical engineer.

She speaks English fluently (Certificate of Proficiency in English, The University of Michigan).

She has an ECDL Core Certificate: Concepts of IT, Using Computer and Managing Files, Microsoft Office (Excel, Word, Power Point, Access), Information and Communication (Internet, Outlook) and a Certificate of Completion of the Autodesk Authorized Training Center (ACT), Autocad 2008.

Ευαγγελία Χρυσοχόου

On-line αλγόριθμοι δρομολόγησης για στοχαστικά δίκτυα σε πραγματικό χρόνο

Περίληψη

Η διδακτορική διατριβή πραγματεύεται το γενικό πρόβλημα δρομολόγησης στόλου, γνωστό στην ξένη βιβλιογραφία ως "Vehicle Routing Problem". Νοείται ως ένα από τα πιο σημαντικά προβλήματα των εφαρμοζομένων μαθηματικών της σύγχρονης εποχής και ίσως το δημοφιλέστερο πρόβλημα επιχειρησιακής έρευνας στον τομέα των μεταφορών. Ορίζεται ως το πρόβλημα του σχεδιασμού διαδρομών ελάχιστου κόστους ενός στόλου οχημάτων από ένα κεντρικό σημείο σε ένα δίκτυο πελατών, ικανοποιώντας ταυτόχρονα κάποιους συστημικούς περιορισμούς. Το φάσμα των εφαρμογών του εκτείνεται από τη διαχείριση στόλων διανομής προϊόντων έως τη σχολική μετακίνηση, αλλά και τη συλλογή απορριμμάτων.

Η μελέτη του προβλήματος της δρομολόγησης σε συνθήκες αβεβαιότητας(πχ. μεταβαλλόμενη ζήτηση), καθώς και η ανάλυση και ενσωμάτωση της στοχαστικότητας στην ανάπτυξη μαθηματικών προτύπων (μοντέλων) και αλγορίθμων, τέθηκαν πρωταρχικοί στόχοι της έρευνας που εκπονήθηκε. Όταν ένα πρόβλημα βελτιστοποίησης επιλύεται υπό συνθήκες αβεβαιότητας, το ζητούμενο είναι η διαμόρφωση της πολιτικής που ελαχιστοποιεί το κόστος των αποφάσεων αλλά και το κόστος των εφικτών μέτρων αναπροσαρμογής των αρχικών επιλογών. Με γνώμονα την εύρωστη αξιολόγηση των επιλογών που προκύπτουν στο μοντέλο βελτιστοποίησης σε συνθήκες αβεβαιότητας, καθοριστικό ρόλο λαμβάνει η σαφής διατύπωση (μαθηματική τεκμηρίωση) των δυνατών μελλοντικών αποφάσεων – προοπτικών, αλλά και η διαδικασία ενσωμάτωσής τους στις εκ των προτέρων επιλογές.

Οι μεθοδολογικοί πυλώνες διερεύνησης του προβλήματος της δρομολόγησης σε συνθήκες αβεβαιότητας ήταν αρχικά η προσέγγιση του στοχαστικού προγραμματισμού και η "on–line'' βελτιστοποίηση. Ο μεν στοχαστικός προγραμματισμός προάγεται ως επέκταση του γραμμικού προγραμματισμού, όπου κάποιες από τις παραμέτρους του μοντέλου θεωρούνται τυχαίες μεταβλητές. Η δε "on–line" βελτιστοποίηση θεωρείται επέκταση του δυναμικού προγραμματισμού, οπού οι πληροφορίες του συστήματος που μελετάται εμφανίζονται στιγμιαία και σταδιακά στη διάρκεια εξέλιξής του. Οι δύο μεθοδολογικές προσεγγίσεις παρουσιάζονται αναλυτικά και γίνεται μια συγκριτική αξιολόγησή τους. Στόχος της αξιολόγησης αυτής τέθηκε η αναγνώριση των κοινών στοιχείων τους, αλλά και η τελική επιλογή του μεθοδολογικού πλαισίου της συνέχισης του ερευνητικού έργου.

Το πρώτο μέρος της εργασίας επικεντρώνεται στους ακριβείς αλγορίθμους επίλυσης του γενικού προβλήματος της δρομολόγησης στόλου. Εκτενής παρουσίαση των εναλλακτικών μορφοποιήσεών τους γίνεται αλλά με ιδιαίτερη αναφορά στους έγκυρους περιορισμούς που έχουν προταθεί ως μοχλοί ενδυνάμωσης. Συνάμα παρατίθενται συνοπτικά οι ευρετικοί και μεθευριτικοί αλγόριθμοι που έχουν προταθεί, δίνοντας μια πιο σφαιρική παρουσίαση των επιστημονικών ευρημάτων .

Εστιάζοντας στις εμπορευματικές μεταφορές, το πρόβλημα δρομολόγησης νοείται περισσότερο ως πρόβλημα διανομής, όπου στόχος είναι η εύρωστη μεταφορά προϊόντων εκπληρώνοντας τη ζήτηση και ελαχιστοποιώντας το κόστος μετακίνησης. Όταν η ζήτηση των προϊόντων είναι μεταβαλλόμενη, το πρόβλημα της διαμόρφωσης πλάνων διανομής μετατρέπεται από ντετερμινιστικό σε στοχαστικό. Η στοχαστικότητα της ζήτησης συσχετίζεται άμεσα με το ρυθμό απορρόφησης των προϊόντων, τις δυνατότητες διατήρησης αποθεμάτων αλλά και τη μεταξύ τους αλληλεπίδραση. Επικεντρώνοντας το ενδιαφέρον στη στοχαστικότητα της ζήτησης σε συνάφεια με τους παράγοντες που την επηρεάζουν (δηλ. χωρητικότητα αποθηκών, ρυθμός απορρόφησης προϊόντων), εξετάζεται στο διδακτορικό η συνδυαστική διαχείριση της διανομής προϊόντων και εφοδιασμού αποθηκών, γνωστή στην ξένη βιβλιογραφία ως "Inventory Routing Problem", η οποία αποτελεί επέκταση του κλασικού προβλήματος δρομολόγησης.

Ο προσανατολισμός της έρευνας προς την κατεύθυνση αυτή οφείλεται αφενός στις τάσεις των μεγάλων επιχειρηματικών μοντέλων, όπου ανακύπτει η ανάγκη ανάπτυξης αντίστοιχων μαθηματικών προτύπων που να αναπαριστούν και μετέπειτα επιλύουν το πρόβλημα. Αφετέρου η στοχαστικότητα της ζήτησης σε προβλήματα δρομολόγησης παρουσιάζει ακόμη περισσότερο ενδιαφέρον σε μεγάλα συνδυαστικά προβλήματα, όπου προκύπτουν σύνθετες ανελίξεις με έντονες αλληλεπιδράσεις.

Το πρόβλημα της συνδυαστικής διαχείρισης διανομής προϊόντων και εφοδιασμού αποθηκών

έρχεται να δώσει λύση σε σύνθετα συστήματα διαχείρισης της εφοδιαστικής αλυσίδας – logistics. Τα τελευταία χρόνια κερδίζει ολοένα και περισσότερη αποδοχή το επιχειρηματικό μοντέλο διαχείρισης «Vendor Managed Inventory», όπου ο κεντρικός προμηθευτής, που πολλές φορές αποτελεί και τον κατασκευαστή, διαχειρίζεται τη διαδικασία τροφοδοσίας και διαχείρισης των αποθηκών των προμηθευτών του. Ο κεντρικός προμηθευτής λοιπόν λαμβάνει αποφάσεις για την ποσότητα προϊόντων, τη συχνότητα διανομής αλλά και τη διαδικασία προμήθειας των σημείων πώλησης προϊόντων. Οπότε το πρόβλημα ανάγεται σε συνδυαστικό πρόβλημα διαχείρισης διανομής προϊόντων και εφοδιασμού αποθηκών. Ουσιαστικά, το πρόβλημα στοχεύει στην επίλυση του βέλτιστου σχεδιασμού επαναλαμβανόμενων πλάνων δρομολόγησης για ένα σύνολο αποθηκών για ένα βραχυπρόθεσμο χρονικό ορίζοντα. Στόχος του βέλτιστου σχεδιασμού η ενσωμάτωση των μακροπρόθεσμων στόχων στις βραχυπρόθεσμες αποφάσεις των επαναλαμβανόμενων διανομών.

Στο δεύτερο μέρος της εργασίας γίνεται εκτενής αναφορά των επιστημονικών συγγραμμάτων της συνδυαστικής διαχείρισης διανομής προϊόντων και εφοδιασμού των αποθηκών, επικεντρώνοντας και πάλι το ενδιαφέρον σε ακριβείς μεθόδους επίλυσης του προβλήματος, δίχως να παραβλεφθούν και τα σημαντικά ευρήματα που αναπτύχθηκαν στο πεδίο των ευρετικών αλγορίθμων.

Με αφορμή την αναθεώρηση βασικής υπόθεσης των έως τώρα προτεινόμενων μαθηματικών προτύπων, αναδείχτηκε η δυναμική μιας νέας πολιτικής, των προληπτικών διανομών όταν το μοντέλο εξετάζεται σε συνθήκες βεβαιότητας. Η πολιτική αυτή βασίζεται στη διαπίστωση ότι στο πλαίσιο του ντετερμινιστικού μοντέλου η ζήτηση των αποθηκών είναι γνωστή για το σύνολο του χρονικού ορίζοντα. Άρα η πληροφορία μπορεί να χρησιμοποιηθεί εξ αρχής και να εξεταστούν πλάνα διανομής που εξυπηρετούν αθροιστικά την παρούσα αλλά και μεταγενέστερη ζήτηση. Η πολιτική τεκμηριώνεται μαθηματικά με την πρόταση δύο έγκυρων περιορισμών.

Με γνώμονα την προοπτική επίλυσης του προβλήματος της συνδυαστικής διαχείρισης διανομής προϊόντων και εφοδιασμού αποθηκών σε συνθήκες αβεβαιότητας και στόχο τη δημιουργία ενός ευέλικτου συστήματος αποφάσεων, η διαδικασία της μεταφόρτωσης εισάγεται ως διορθωτική πολιτική ενός μοντέλου στοχαστικού προγραμματισμού. Αναπτύχθηκε ένα καινοτόμο μοντέλο δύο σταδίων στοχαστικού προγραμματισμού δρομολόγησης στόλου σε συνθήκες αβεβαιότητας. Η επίλυσή του επιτεύχθηκε εφαρμόζοντας τη μεθοδολογική προσέγγιση της αποσύνθεσης «L–Shaped». Το προτεινόμενο στοχαστικό μοντέλο αξιολογήθηκε επιλύοντας κατάλληλες τροποποιήσεις πρότυπων προβλημάτων (Archetti et al.) .

Συμπερασματικά, η απόφαση της πλαισίωσης του προβλήματος της συνδυαστικής διαχείρισης διανομής προϊόντων και εφοδιασμού των αποθηκών σε συνθήκες αβεβαιότητας υπό το πρίσμα του στοχαστικού προγραμματισμού των μοντέλων δύο σταδίων μας έδωσε τη δυνατότητα να οριοθετήσουμε την αλληλεπίδραση του κόστους της μεταφόρτωσης σε συνάφεια με το κόστος των προληπτικών διανομών και την αύξησητων επιπέδων διατήρησης των αποθεματικών.

Συνοψίζοντας, η διατριβή χωρίστηκε σε δύο διακριτά μέρη. Στο πρώτο μέρος γίνεται αναφορά των μεθοδολογικών προσεγγίσεων σε συνάφεια με το γενικό πρόβλημα της δρομολόγησης στόλου και ιδιαίτερα σε συνθήκες αβεβαιότητας. Στο δεύτερο εστιάζεται η έρευνα στη συνδυαστική διαχείριση της διανομής προϊόντων και εφοδιασμού αποθηκών σε συνθήκες αβεβαιότητας.

Λέξεις κλειδιά: Πρόβλημα δρομολόγησης στόλου σε συνθήκες αβεβαιότητας, Συνδυαστική διαχείριση διανομής προϊόντων και εφοδιασμού αποθηκών, στοχαστικός προγραμματισμός, μοντέλο δύο σταδίων, μοντέλο προσφυγής, μέθοδος αποσύνθεσης L – Shaped

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Αθανάσιος Ζηλιασκόπουλος, Καθηγητής, Βελτιστοποίηση Συστημάτων Παραγωγής/Μεταφορών , Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών, Πολυτεχνική Σχολής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Γεώργιος Κοζανίδης, Καθηγητής, Μέθοδοι Βελτιστοποίησης Συστημάτων Παραγωγής/Υπηρεσιών , Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών, Πολυτεχνική Σχολή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Γεώργιος Λυμπερόπουλος, Καθηγητής, Στοχαστικές Μέθοδοι στη Διοίκηση Παραγωγής,Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών, Πολυτεχνική Σχολή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Evangelia Chrisohoou

On-line optimization algorithms for real time stochastic vehicle routing problem

Abstract

This thesis investigates the general truck dispatching problem known as the "Vehicle Routing Problem" (VRP). It is currently one of the most significant problems in the field of applied mathematics and perhaps the most renowned problem of operational research in the transport sector. It is defined as the determination of the least cost distribution plans of a fleet of vehicles to a network of customers, while concurrently ensuring indicative systematic constraints. Applications range from fleet management and product distribution to bus school routing and waste collection.

The primary goals of this study are to analyze the VRP under uncertainty (e.g. demand variation) and embed stochasticity in the development of the corresponding mathematical models and algorithms. When an optimization problem is solved under uncertainty the goal is to determine the policies that minimize the cost of initial decisions and the cost of feasible recourse actions. Taking into account the necessity of robust assessments of revealed choices in the optimization model under uncertainty, it is crucial to clearly formulate (mathematical modelling) all possible future decisions – outcomes and to incorporate their effect into a priori decisions.

The initial methodological pillars that were settled for the investigation of the VRP under uncertainty in this study are stochastic programming and on line optimization. Stochastic programming is an extension of linear programming, where parameters of the model are considered to be random variables. On line optimization on the other hand is considered as an extension of dynamic programming, where information regarding the system is gradually and instantly revealed. These two methodologies are investigated extensively. A comparison analysis was performed. The objective of the comparison is the recognition of common elements. Additionally, the methodological framework for further research is also proposed.

The first part of the research thesis focused on investigating exact algorithms for the VRP. Extended literature review was performed, focusing on alternative model formulation. The contribution of valid inequalities to strengthen formulation was highlighted. However, a concrete presentation of alternative heuristics and meta – heuristics was given also, in order to integrate to a more holistic illustration of scientific findings.

With focus to freight transportation, the VRP can be seen as a distribution problem. The aim is to identify a route plan for delivering products fulfilling demand and minimizing transportation cost. When the demand of products varies the problem of determining route plans from deterministic becomes stochastic. Stochastic demand is directly related to product absorption rate, level of inventory control as well as their correlation. Concentrating interest to stochasticity of demand in coherent to factors affected (capacity of inventories, product absorption rate) the dissertation is studying the collaboration of transportation management and inventory control, known as "Inventory routing problem".

Thesis orientation to this direction is due to business models trends of logistic companies, especially large ones, where there is a need for development of such models. On the other hand, stochastic demand of VRP is much more interesting in large scale combinatoric problems, where composite processes with intense correlations arised.

Inventory routing problem constitutes the solution of a join system of managing supply chain and logistic. Recent years the "Vendor managed inventory" business model is gaining even more acceptance, where the distribution manager in most cases the manufacturer; controls the inventories and solves the routing problem of all suppliers jointly. Central supplier known as vendor is making decisions for the quantities of delivered products, frequencies of deliveries and the distribution plan. Therefore, the problem is becoming a join problem of inventory control and transportation management. Essentially, the problem aims to solve a repeated VRP for a network of inventories for a short term planning horizon. Overall aim is to include long term goals into short term decisions of repeated distribution plans.

In the second part of the thesis, an extended review of the relevant literature of inventory routing problem was performed. Focus was given again to the exact method proposed without leaving the significant finding developed in the area of heuristics.

Excluding a basic assumption of all previous proposed models, it was proved that a new policy

called proactive deliveries was powerful in the framework of deterministic modelling. The policy is based on the frame of a deterministic model where demand of the whole planning horizon is known from the beginning. Policy is formulated mathematically by the proposal of two valid inequalities.

Aiming to solve the inventory routing problem under uncertainty and securing flexibility, a recourse action of transshipment was proposed, in the framework of two stage stochastic programming model. An innovative model was developed of two stage recourse action for the stochastic inventory routing problem. An L – Shaped decomposition method was adopted to solve the problem exactly. Proposed model was tested using modification of know benchmark instances (Arhetti et al).

Conclusively, the decision of formulating the inventory routing problem under uncertainty in the framework of stochastic programming of two stage recourse action model gave us the opportunities to clearly state the tradeoff among transshipment cost in coherence with proactive distribution plans and increase of inventory levels.

Summarizing, the thesis was structured in two concrete parts. First part referred to methodological approaches in context to the general vehicle routing problem. Second part was focused in the inventory routing problem under uncertainty.

Key words: Stochastic Vehicle Routing Problem, Inventory routing problem, stochastic programming, two stage recourse models, L – Shaped decomposition method

Three - Member Supervisory Committee

Athanasios Ziliaskopoulos, Professor, Optimization of Production/Transportation Systems, Department of Mechanical Engineering, School of Engineering, University of Thessaly, Greece

George Kozanidis, Assistant Professor, Optimization Methods of Production/Service Systems, Department of Mechanical Engineering, School of Engineering, University of Thessaly, Greece

George Liberopoulos, Professor, Stochastic Methods in Production Management, Department of Mechanical Engineering, School of Engineering, University of Thessaly, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Chrysochoou, E.**, & Ziliaskopoulos, A. (2015). Stochastic inventory routing problem with transhipment recourse action. *International Journal* of Production Research (under review).

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων – βιβλία περιλήψεων Publications in conference proceedings - books of abstracts

1. **Chrysochoou, E.**, & Ziliaskopoulos, A. (2015). Stochastic inventory routing problem with transshipment recourse action. In George Liberopoulos (Ed.), *10th Conference on Stochastic Models of Manufacturing and Service Operations* (pp. 17 - 24). Volos, Greece: University of Thessaly.
2. **Chrysochoou, E.**, Ziliaskopoulos, A., & Lois, A. (2015). Exact algorithm for the stochastic inventory routing problem with transhipment. In Transportation Research Board (Ed.), *Transportation Research Board 94th Annual Meeting Compendium of Papers (pp. 16p)*. Washington D.C., United States: Transport Research Board of National Academies.
3. **Chrysochoou, E.**, & Ziliaskopoulos, A. (2014). An exact method for the stochastic inventory routing problem. In George Saharidis (Ed.), *3rd International Symposium & 25th National Conference on Operational Research* (pp. 209 - 217). Volos, Greece: Hellenic Operational Research Society & University of Thessaly.
4. **Χρυσοχόου, Ε.**, & Ζηλιασκόπουλος, Α. (2012). Το στοχαστικό πρόβλημα δρομολόγησης εμπορευματικών μεταφορών. Στο Ι. Ψαρράς, & Ν. Ματσατσίνης (Επιμ.), *23ο Εθνικό Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρίας Επιχειρησιακών Ερευνών* (pp. 179 -186). Αθήνα: Εργαστήριο Συστημάτων Αποφάσεων & Διοίκησης, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.

   Chrysochoou, E., & Ziliaskopoulos, A. (2012). Stochastic vehicle routing problem. In J. Psarras & N. Matsatsinis (Ed.), *23rd National Conference on Operational Research* (pp. 179 – 186). Athens, Greece: Hellenic Operational Research Society & Decision Support Systems Laboratory

- Electrical and Computer Engineering of the National Technical University of Athens (NTUA).

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες
Presentations in scientific conferences and meetings-workshops

1. **Chrysochoou, E.**, Ziliaskopoulos, A. (2015, June). *Stochastic inventory routing problem with transsshipment recourse action*. Paper presented at 10th Conference on Stochastic Models of Manufacturing and Service Operations, Volos, Greece.

2. **Χρυσοχόου, Ε.**, Ζηλιασκόπουλος, Α. (2015, Μάιος). *Online αλγόριθμοι δρομολόγησης για στοχαστικά δίκτυα σε πραγματικό χρόνο: Η περίπτωση της συνδυαστικής διαχείρισης της διανομής προϊόντων και εφοδιασμού αποθηκών σε συνθήκες αβεβαιότητας*. Προφορική ανακοίνωση στην Ημερίδα του Προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ», Βόλος, Ελλάδα.

   Chrysochoou, E., Ziliaskopoulos, A. (2015, May). *Online – real time routing algorithms for stochastic networks: The case of Stochastic Inventory Routing Problem*. Paper presented at the Workshop of “Heraclitus II” ,Volos,Greece.

3. **Chrysochoou, E.**, Ziliaskopoulos, A., & Lois, A. (2015, January). *Exact algorithm for the stochastic inventory routing problem with transhipment.* Paper presented at 94th Transportation Research Board Annual Meeting, Washington D.C., United States.

4. **Chrysochoou, E.**, Ziliaskopoulos, A., (2014, June). *An exact method for the stochastic inventory routing problem*. Paper presented at 3rd International Symposium & 25th National Conference on Operational Research, Volos, Greece.

5. **Chrysochoou, E.**, Ziliaskopoulos, A. (2013, July). *A stochastic vehicle routing model and its specifications*. Paper presented at theEuro – INFORMS, Rome, Italy.

6. **Χρυσοχόου, Ε.**, Ζηλιασκόπουλος, Α. (2012, Νοέμβριος). O*nline αλγόριθμοι δρομολόγησης για στοχαστικά δίκτυα σε πραγματικό χρόνο*. Προφορική ανακοίνωση στην Ημερίδα του Προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ», Βόλος, Ελλάδα.

   Chrysochoou, E., Ziliaskopoulos, A. (2012, November). *Online – real time routing algorithms for stochastic networks*. Paper presented at the Workshop of “Heraclitus II”, Volos, Greece.

7. **Χρυσοχόου, Ε.**, Ζηλιασκόπουλος, Α. (2012, Σεπτέμβριος). *Το στοχαστικό πρόβλημα δρομολόγησης εμπορευματικών μεταφορών*. Προφορική ανακοίνωση στο 23ο Εθνικό Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρίας Επιχειρησιακών Ερευνών, Αθήνα, Ελλάδα.

   Chrysochoou, E., Ziliaskopoulos, A. (2012, September). *Stochastic vehicle routing problem*. Paper presented at 23rd National Conference on Operational Research, Athens, Greece.

Σύντομο βιογραφικό

Η **Ευαγγελία Χρυσοχόου** είναι μαθηματικός, με μεταπτυχιακές σπουδές ειδίκευσης στον Τομέα της Στατιστικής και Επιχειρησιακής Έρευνας της Σχολής Θετικών Επιστημών του Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης. Η διδακτορική της έρευνα ανήκει στο ευρύτερο πεδίο της επιχειρησιακής έρευνας και ειδικότερα σε προβλήματα βελτιστοποίησης συστημάτων δρομολόγησης στόλου οχημάτων. Η εργασία της εστιάζει στη συνδυαστική διαχείριση της διανομής προϊόντων και εφοδιασμού αποθηκών σε συνθήκες αβεβαιότητας. Ανέπτυξε ένα μοντέλο στοχαστικού προγραμματισμού δύο φάσεων. Πρότεινε την πολιτική των προληπτικών διανομών για τη βέλτιστη διαχείριση συστημάτων εφοδιαστικής αλυσίδας και logistics.

Εργάζεται ως αναλύτρια επιχειρησιακών ερευνών στο Εθνικό Κέντρο Έρευνας & Τεχνολογικής Ανάπτυξης (ΕΚΕΤΑ) / Ινστιτούτο Βιώσιμης Κινητικότητας & Δικτύων Μεταφορών (ΙΜΕΤ), από το 2006. Το ερευνητικό ενδιαφέρον της επικεντρώνεται στο σχεδιασμό και στη διαχείριση συστημάτων μεταφορών, διαχείριση στόλου και Logistics, αλλά και στη στατιστική ανάλυση μεγάλων βάσεων κυκλοφοριακών δεδομένων που συλλέγονται είτε ενεργητικά είτε παθητικά και συσχετίζονται με τη συμπεριφορά μετακινούμενων και το σύστημα κινητικότητας. Εργασίες της έχουν δημοσιευτεί σε διεθνή επιστημονικά περιοδικά (όπως Journal of the Transportation Research Board) και σε πρακτικά επιστημονικών συνεδρίων (όπως Transportation Research Board Annual Meetings TRB, European Conference on Operational Research EURO - INFORMS).

Short CV

Evangelia Chrisohoou is a mathematician with an MSc in “Statistics and Operational Research” from the School of Mathematics, Faculty of Sciences, Aristotle University of Thessaloniki. Her PhD research belongs to the domain of operational research and more specifically to vehicle routing optimization problems. Her study focuses to the inventory routing problem under uncertainty. She developed a two stage stochastic programming model with recourse action. She proposed the policy of proactive deliveries for the optimization of supply chain and logistics system.

She is an operation research analyst at the Center for Research and Technology Hellas / Hellenic Institute of Transport since 2006. Her research interests are in transportation planning and management; operational research applied in transportation problems fleet management and logistics; as well as statistical analysis of big traffic data and passively collected datasets relates to travel behaviour and mobility schemes. Her work has been published in international academic journals (such as Journal of the Transportation Research Board) and presented in international conferences (such as Transportation Research Board Annual Meetings TRB, European Conference on Operational Research EURO - INFORMS).

Τμήμα Μηχανικών Χωροταξίας Πολεοδομίας και Περιφερειακής Ανάπτυξης
Department of Planning and Regional Development

Παύλος Μπαλτάς

Η εξέλιξη της γονιμότητας στην Ελλάδα μετά το 1960: Ιδιαιτερότητες και πρόσφατες τάσεις.

Περίληψη

Η διδακτορική διατριβή εξετάζει την εξέλιξη του δημογραφικού φαινομένου της γονιμότητας στην Ελλάδα, με τις μεθόδους και τεχνικές της δημογραφικής ανάλυσης, κατά τη μεταπολεμική περίοδο μέχρι και την πρόσφατη οικονομική κρίση. Για το σκοπό αυτό, πραγματοποιήθηκε η συγχρονική και διαγενεακή ανάλυση του φαινομένου τόσο σε εθνικό επίπεδο όσο και σε επίπεδο Νομού, με στόχο να αναδειχθούν οι όποιες χωρικές διαφοροποιήσεις. Οι αναλύσεις αφορούν τη συνολική γονιμότητα, τη γονιμότητα ανά βιολογική τάξη έλευσης του τέκνου, την εντός και εκτός γάμου γονιμότητα, καθώς επίσης και τη γονιμότητα ανά υπηκοότητα της μητέρας. Χρησιμοποιήθηκαν τα δεδομένα της φυσικής κίνησης της χώρας, οι εκτιμήσεις πληθυσμού και οι πληροφορίες που μας δίνουν οι ανά δεκαετία, από το 1951 και μετά, απογραφές πληθυσμού. Τα παραπάνω δεδομένα αντλήθηκαν από τη βάση δεδομένων του Observatoire Demographique Europeen (ODE,INED), το Εργαστήριο Δημογραφικών και Κοινωνικών Αναλύσεων του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και την Ελληνική Στατιστική Αρχή (ΕΛΣΤΑΤ).

Η κατάρρευση του συγχρονικού δείκτη γονιμότητας κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του 1980 ήταν αποτέλεσμα της αλλαγής του ημερολογίου μέσα στις γενεές γυναικών που γεννήθηκαν από το 1955 και μετέπειτα. Οι γυναίκες υιοθέτησαν ένα πιο ώριμο ημερολόγιο αποκτώντας τα παιδιά τους σε μεγαλύτερη ηλικία και περιορίζοντας τον τελικό τους αριθμό. Η προσπάθεια αναπλήρωσης των αναβληθέντων γεννήσεων σε μεγαλύτερες ηλικίες είναι ατελής με αποτέλεσμα οι γυναίκες που γεννήθηκαν μετά το 1965 να παρουσιάζουν μείωση της τελικής τους γονιμότητας σε σχέση με τις προγενέστερες γενεές από 10 μέχρι και 20% για τη γενεά του 1971.

Από την ανάλυση της γονιμότητας κατά βιολογική τάξη έλευσης του τέκνου προκύπτει η κυριαρχία του μοντέλου οικογένειας με δύο παιδιά, καθώς ήδη από τις γυναίκες που γεννήθηκαν από το 1940, ο αριθμός των παιδιών 3ης και άνω τάξης μειώνεται συνεχώς, γεγονός που επιβεβαιώνει ο υπολογισμός των πιθανοτήτων διεύρυνσης της οικογένειας, αφού όλο και λιγότερες γυναίκες με 2 παιδιά επιλέγουν να αποκτήσουν ένα 3ο κοκ. Η ηλικία απόκτησης του 1ου παιδιού αυξάνει συνεχώς ενώ από τη γενεά των γυναικών που γεννήθηκαν από το 1960 και μετά αυξάνουν σημαντικά τα ποσοστά της τελικής ατεκνίας.

Ο θεσμός του γάμου παραμένει ισχυρός στην Ελλάδα και ιδιαίτερα σε ό,τι αφορά την απόκτηση ενός παιδιού, ο γάμος αποτελεί ικανή και αναγκαία συνθήκη. Το ποσοστό γεννήσεων εκτός γάμου, παραμένει το χαμηλότερο ανάμεσα στις χώρες της ΕΕ (κάτω από 10%). Από τις απογραφές προκύπτει ότι από το σύνολο των γυναίκων που πραγματοποίησαν ένα 1ο γάμο μόλις το 10% δεν απέκτησε ένα παιδί, αντίθετα όσες παρέμειναν άγαμες καταγράφουν ποσοστά τελικής ατεκνίας γύρω από το 90%. Η αύξηση της μέσης ηλικίας στον πρώτο γάμο συμπαρασύρει τη μέση ηλικία στην απόκτηση του 1ου παιδιού, γεγονός το οποίο, σε συνδυασμό με την αύξηση της τελικής αγαμίας μέσα στις γενεές αποτελεί το βασικό παράγοντα αύξησης της τελικής ατεκνίας.

Η μεταναστευτική εισροή , ιδιαίτερα κατά τη δεκαετία του 1990, δείχνει να έχει επιπτώσεις στη γονιμότητα. Συγκεκριμένα, η μικρή χρονοσειρά για την οποία διαθέτουμε στοιχεία, σε συγχρονικό επίπεδο ανάλυσης υπολογίζουμε ότι αύξησε το ΣΔΓ κατά 0,15 παιδιά/γυναίκα (+10% το 2009) ενώ συγκρατεί τη μέση ηλικία στη γέννηση κατά 1 με 0,5 του έτους. Η απότομη πτώση της γονιμότητας των αλλοδαπών χρήζει πολλών ερμηνειών και είναι ένα από τα ερωτήματα που ανοίγει η έρευνα αυτή. Οι αιτίες θα πρέπει να αναζητηθούν στην οικονομική κρίση που έχει

διττές επιπτώσεις, οδηγεί ένα μέρος των αλλοδαπών στο να φύγουν από την χώρα, με επικρατέστερους τους άγαμους και τα άτεκνα ζευγάρια, ενώ ταυτόχρονα δυσχεραίνει τις συνθήκες διαβίωσης για αυτούς που παραμένουν, αναγκάζοντάς τους να αναπροσαρμόσουν τον οικογενειακό τους προγραμματισμό. Επιπλέον, η μείωση των θέσεων εργασίας αλλοδαπών κατά 33% δεν κάνει την χώρα ελκυστική ώστε να υπάρξει ένα νέο κύμα εισροής οικονομικών μεταναστών. Τέλος, θα πρέπει να εξεταστεί η πιθανότητα να βρισκόμαστε στο ξεκίνημα της αλλαγής του ημερολογίου των γυναικών με αλλοδαπή υπηκοότητα, οι οποίες υιοθετούν ένα πιο ώριμο ημερολόγιο, αποτέλεσμα της σταδιακής ενσωμάτωσής τους στην ελληνική κοινωνία. Η τελευταία αυτή παράμετρος ενθαρρύνεται και από τις οικονομικές συνθήκες, που οδηγούν στην αναβολή ενός παιδιού, που δεδομένου του νεανικού τους ημερολογίου οι αλλοδαπές έχουν τα χρονικά περιθώρια να το κάνουν.

Σε χωρικό επίπεδο χαμηλότερο της χώρας, προκύπτει σύγκλιση των δεικτών σε σχέση με το σημείο εκκίνησης, άλλα οι διαφορές παραμένουν. Επιπλέον, από τα στοιχεία της απογραφής του 2001 προκύπτει η σταδιακή κυριαρχία του οικογενειακού μοντέλου με τα δύο παιδιά σε όλη την χώρα, ανάμεσα στις γυναίκες που γεννήθηκαν το 1925-29 σε σχέση με τις γυναίκες των νεότερων γενεών του 1950-54. Το επίπεδο του Νομού παρόλο το πλεονέκτημα της συγκρισιμότητας των δεδομένων που μας προσφέρει για ένα σχετικά μεγάλο χρονικό διάστημα (1981-2012), παραμένει προβληματικό και αποτελεί πρόκληση μελλοντικά η δημιουργία ενός δημογραφικού-στατιστικού επιπέδου για καλύτερη σύγκριση, χωρίς όμως να απαλειφθούν οι όποιες πολιτισμικές και κοινωνικές ιδιαιτερότητες της κάθε περιοχής.

Οι ιδιαιτερότητες που παρουσίαζαν ως προς τη δημογραφική τους συμπεριφορά (χαμηλά ποσοστά γεννήσεων εκτός γάμου και η καθολικότητα του θεσμού του γάμου) οι χωρες της νότιας Ευρώπης (Ισπανία, Ιταλία, Ελλάδα) κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του 1990, φαίνεται να διατηρούνται πλέον μόνο στην Ελλάδα. Παρ' όλα αυτά, η συγχρονική και διαγενεακή ένταση της γονιμότητας συγκλίνει, καταγράφοντας διαφορές και στους δυο τύπους ανάλυσης από χώρα σε χώρα της τάξης του 0,1 παιδιά/γυναίκα.

Αν και είναι νωρίς, από τα έως τώρα δεδομένα, η οικονομική κρίση που ξεκίνησε στην Ελλάδα από το 2009 και μετέπειτα μοιάζει να επηρεάζει τη γονιμότητα σε δύο επίπεδα, θίγοντας τους νέους και τους αλλοδαπούς. Οι γεννήσεις από μητέρα με αλλοδαπή υπηκοότητα μειώνονται ανάμεσα στο 2009-2012, ανεξαρτήτως τάξης γέννησης. Αντίθετα, από την ανάλυση των γεννήσεων κατά τάξη προκύπτει, για το ίδιο χρονικό διάστημα, ότι μόνο οι γεννήσεις 1ης τάξης αυξάνουν για τις γυναίκες με ελληνική υπηκοότητα άνω των 30, οι οποίες έχουν μικρότερο περιθώριο αναβολής σε σχέση με τις νεότερες. Είναι νωρίς για να γνωρίζουμε αν οι μειώσεις σε συγχρονικό επίπεδο της γονιμότητας στα χρόνια της οικονομικής ύφεσης θα καταφέρουν να μεταγραφούν στη διαγενεακή γονιμότητα, γεγονός που θα εξαρτηθεί από τη διάρκεια της οικονομικής ύφεσης.

Η εξέλιξη της γονιμότητας δε μοιάζει να είναι ικανή να αντιστρέψει την ένταση της δημογραφικής γήρανσης του πληθυσμού, επιπλέον με δεδομένη τη μεταναστευτική εκροή λόγω της συνεχιζόμενης οικονομικής κρίσης που θίγει κυρίως τους νέους, το φαινόμενο με το πέρασμα του χρόνου θα γίνεται πιο έντονο.

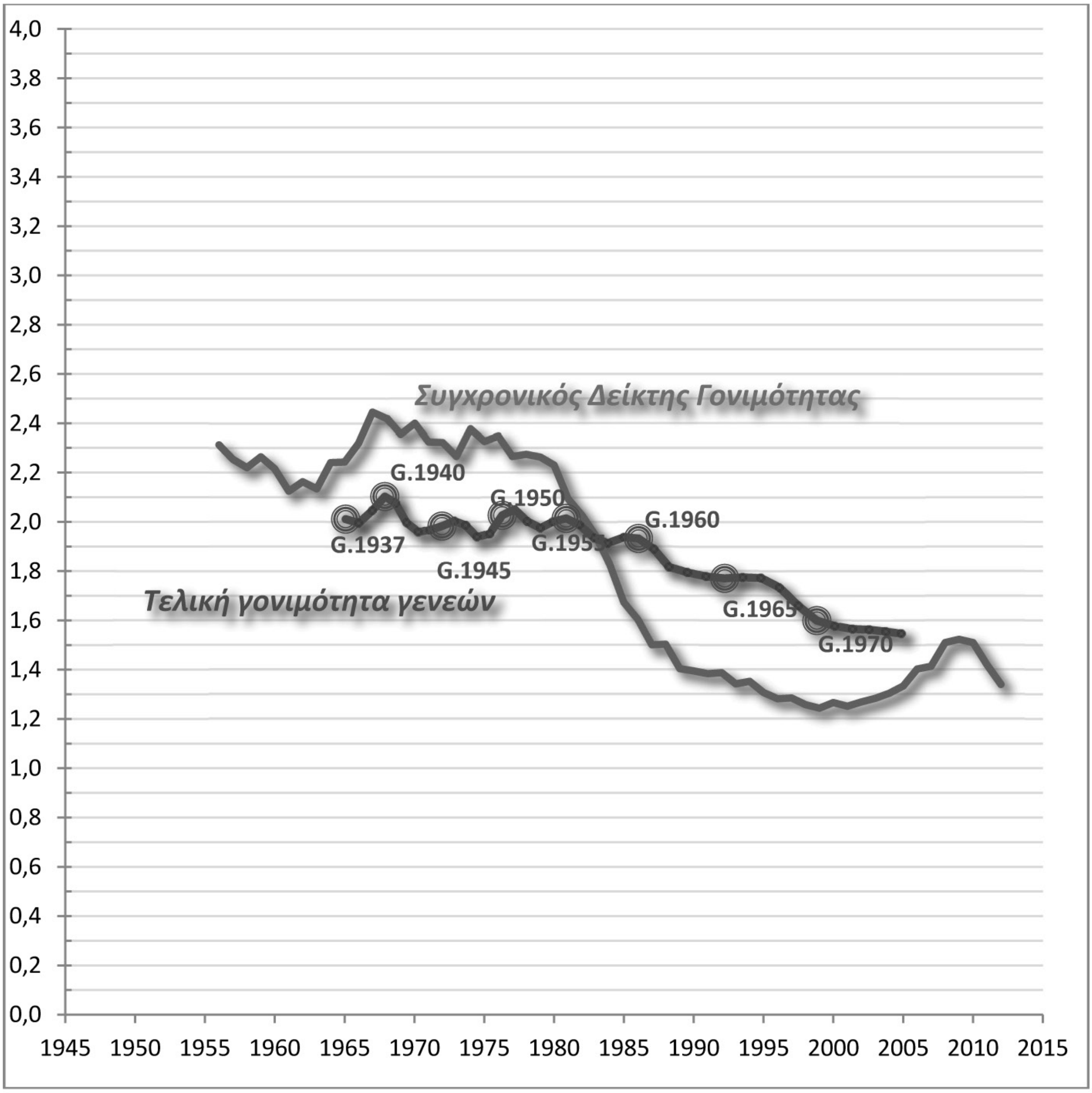
Λέξεις κλειδιά: Ελλάδα, Συγχρονική Γονιμότητα, Διαγενεακή Γονιμότητα, Βιολογική τάξη γέννησης, Τελική Ατεκνία, Πρωτο-Γαμηλιότητα, Οικογενειακό Πρότυπο

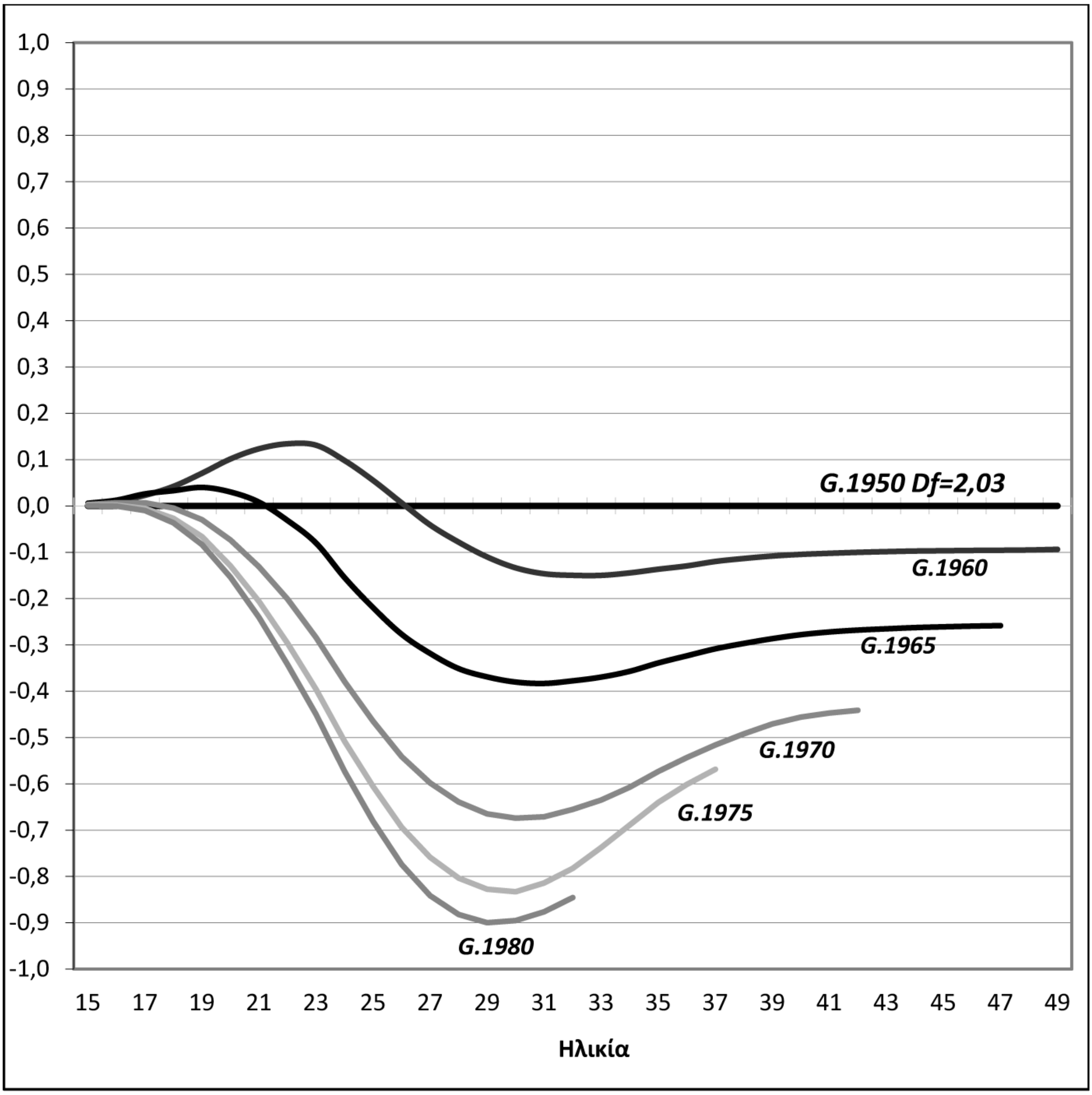
Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Βύρων Κοτζαμάνης, Καθηγητής Δημογραφίας, Τμήμα Μηχανικών Χωροταξίας και Περιφερειακής Ανάπτυξης, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Christophe Bergouignan, Καθηγητής Δημογραφίας, Ινστιτούτο Δημογραφικών Ερευνών, Πανεπιστήμιο Μπορντώ - Γαλλία

Jean-Paul Sardon, Διευθυντής Έρευνας, Παρατηρητήριο Ευρωπαϊκής Δημογραφίας, Εθνικό Ινστιτούτο Δημογραφικών Ερευνών της Γαλλίας


Συγχρονικός Δείκτης Γονιμότητας
Τελική γονιμότητα γενεών
G.1937
G.1940
G.1945
G.1950
G.1955
G.1960
G.1965
G.1970
4,0
3,8
3,6
3,4
3,2
3,0
2,8
2,6
2,4
2,2
2,0
1,8
1,6
1,4
1,2
1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
0,0
1945 1950 1955 1960 1965 1970 1975 1980 1985 1990 1995 2000 2005 2010 2015


1,0
0,9
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0,0
-0,1
-0,2
-0,3
-0,4
-0,5
-0,6
-0,7
-0,8
-0,9
-1,0
G.1950 Df=2,03
G.1960
G.1965
G.1970
G.1975
G.1980
15 17 19 21 23 25 27 29 31 33 35 37 39 41 43 45 47 49
Ηλικία

Pavlos Baltas

Low Fertility, trends and prospects in developed countries: The Greek case

Abstract

This work explores the evolution of fertility in Greece after 1960 (period and cohort fertility).Using the techniques of demographic analysis is exploring: fertility by birth order, fertility by marital status, the influence of immigration on childbearing trends, the spatial variability of fertility, a comparative analysis between Greece and selected countries of southern Europe (Spain, Italy and Portugal) and the impact of the recent economic recession on fertility.

The methodological approach is quantitative and relies mainly on the database of Observatoire démographique européen (ODE-INED) and the vital statistics from the Hellenic Statistical Authority (ELSTAT).

The findings of the current research are shown below:

- The longitudinal analysis of fertility shows that the low values of the period TF from 1980 to 2000 was the result of the postponement of births, as women who were born after 1960 were putting off parenthood to later ages which depressed period fertility rates. The increase of period TF in the first years of 2000 (+0,2 child/woman between 2000-2010) is due to fertility “recuperation”, through the increase in fertility rates at ages over 30 years old. The recuperation is incomplete and the cohort fertility has significantly reduced over time (-20% for women born in 1970 compared to the 1955 cohort).
- Analysis of cohort fertility by biological birth order enriches our research. It shows a mean age of childbearing in first child increasingly high and a significant increase of childlessness. The 20-25% of women born from 1970 to 1975 in Greece will remain childless. The reduction of complete fertility in generations is largely due to the fact that more and more women reach the age of 49 years old without having a child.
  Also the family size is reduced over the generations, two children per family becoming the norm. The parity progression ratios reduced at all birth orders and especially a2 and a3 (the proportion of women with x children who go on to have a x+1).
- The low percentage of births outside marriage in Greece (6,7% 2013) revealed the important role of marriage in childbearing. Data from the censuses (1991,2001,2011) show that unmarried women over 49 years old, had on average a total fertility between 0,05 to 0,15 children/women and a childlessness rate between 85 and 95%.
  The reduction of first marriages, the increasing percentage of unmarried women combined with the current social norms who do not facilitate births outside marriage contribute to the increase of childlessness.
- The increase in period fertility rates during the first decade of 2000s, was also due to the stabilization of fertility rates at younger ages (below 30 years old). The fertility of foreign women contributes at national TF, 0,15 child/woman (10% of TFR in2009). The reduction of the period fertility from 2010 is largely due to a sharp decline in fertility of foreign women.
- Between 1981 and 2012, the period TF converged to all Greek departments (NUTS3). The percentages of women who have more than two children reduced everywhere between generations 1920 - 1924 and those born after 1950, while the percentage of women having only one child continually increases. In addition, the two most urbanized regions of the country are those where the percentages of childless women are well above the national average.
- The examination of a series of economic indicators like GDP and unemployment rate alongside with period TF reveals the strong correlation between the two phenomena. The short time series (2009-2013) does not allow us to know whether this reduction of period fertility will have an impact on the cohort fertility. A number of parameters, such as the long duration of the recession (already 5 years) and the high mean age at first child’s birth might not allow the postponement of childbearing.

Key words: Greece, Fertility, period analysis, cohort analysis, birth order, Marriage, Childlessness, Family model

Three - Member Supervisory Committee

Byron Kotzamanis, Professor in Demography, Department of Planning and Regional Development, University of Thessaly, Greece

Christophe Bergouignan, Professor in Demography, Institute of Demographic Research, University of Bordeaux, France

Jean - Paul Sardon, Director of Research, Observatory of European Demography/ National Institute of Demographic Research of France

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within "Heraclitus II" program

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Μπαλτάς, Π.** (2013). Αναβολή, αναπλήρωση και τελική ατεκνία, τρία αναδυόμενα φαινόμενα στην εξέλιξη της -προ της κρίσης- γονιμότητας στην Ελλάδα: μια πρώτη προσέγγιση. *ΕΔΚΑ Discussion Paper*,10,1-42. http://www.demographylab.prd.uth.gr/abstract/FINAL_WP%20EDKA%20BALTAS%20KOTZAMANIS_10.pdf ISSN:17909325

   Baltas, P. (2013). Postponement, replacement and childlessness, three emergent phenomena in the evolution of fertility in Greece: a first approach. *LDSA Discussion Paper*, 10,1-42. http://www.demographylab.prd.uth.gr/abstract/FINAL_WP%20EDKA%20BALTAS%20KOTZAMANIS_10.pdf ISSN: 1790-9325

2. **Μπαλτάς, Π.** (2014). Αύξηση της τελικής ατεκνίας των γυναικών και μείωση του μεγέθους της οικογένειας στην Ελλάδα: Μια διαγενεακή προσέγγιση. *Δημογραφικά Νέα*, 22,1-4. http://www.demography-lab.prd.uth.gr/DemoNews/DEMONEWS_22_BALTAS.pdf ISSN: 1791-5880

   Baltas, P. (2014). Childlessness and Family size in Greece: a cohort approach. *Demonews*, 22,1-4. http://www.demography-lab.prd.uth.gr/DemoNews/DEMONEWS_22_BALTAS.pdf ISSN: 1791-5880

3. **Μπαλτάς, Π.** (2010). Η Δημογραφία των Βαλκανικών Χωρών, *Δημογραφικά Νέα*,Τεύχος Μαρτίου – Απριλίου,10,1-6. http://www.demography-lab.prd.uth.gr/DemoNews/demonews_2010_03_04.pdf, ISSN: 1791-5880

   Baltas, P. (2010).The demography of the Balkans, *Demonews*, vol. March – April,10,1-6. http://www.demography-lab.prd.uth.gr/DemoNews/demonews_2010_03_04.pdf ISSN: 1791-5880

Κεφάλαια σε Συλλογικά Έργα/ Book Chapters

1. **Μπαλτάς, Π.**, & Γαβαλάς, Β., (2015). Η αναπαραγωγή του πληθυσμού. Στο Β. Γαβαλάς (Επιμ.), *Ο Κόσμος που κερδίσαμε*. Βόλος: Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Θεσσαλίας.

   s **Baltas, P.,** & Gavalas, V., (2015). Population Reproduction (fertility). In. Gavalas (Ed.), *The World we have Gained, Population Geography of modern Greece*. Volos: University of Thessaly Press

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες Presentations in scientific conferences and meetings-workshops

1. **Baltas, P.**, Kotzamanis, V. (2015, October). *La fécondité en Grèce de l'après-guerre, tendances lourdes et ruptures*. Paper presented at The Population of the Balkans at the dawn of the 21st century, Fifth International Conference of Balkans demography, Ohrid, Former Yugoslav Republic of Macedonia.

   Baltas, P., Kotzamanis, V. (2015, October). *Fertility in Greece: trends and discontinuities*. Paper presented at The Population of the Balkans at the dawn of the 21st century, Fifth International Conference of Balkans demography, Ohrid, Former Yugoslav Republic of Macedonia.

2. **Μπαλτάς, Π.**, Κοτζαμάνης, Β. (2015, Σεπτέμβριος). *Η αναπαραγωγή των γυναικών στην μεταπολεμική Ελλάδα, μακροχρόνιες τάσεις και πρόσφατες ρήξεις*. Προφορική ανακοίνωση στο 4ο Πανελλήνιο Συνέδριο Πολεοδομίας, Χωροταξίας και Περιφερειακής Ανάπτυξης, του ΤΜΧΠΠΑ, Βόλος.

   Baltas, P., Kotzamanis, V. (2015, September). *Reproduction of women in post-war Greece, long-term trends and recent reversals.* Paper presented at 4th National Conference of Planning and Regional Development, University of Thessaly, Volos, Greece.

3. Μπαλτάς, Π. (2013, Μαϊος). *Υπογεννητικότητα, τάσεις και προοπτικές στις ανεπτυγμένες χώρες, η περίπτωση της Ελλάδας: Συγχρονική και διαγενεακή ανάλυση- χωρικές διαφοροποιήσεις- επιπτώσεις στη δομή του πληθυσμού και πολιτικές ενίσχυσης της γονιμότητας*. Προφορική ανακοίνωση στην Ημερίδα Ερευνητικής Δραστηριότητας, Πολυτεχνικής Σχολής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Βόλος.

   Baltas, P. (2013, May). *Below replacement level fertility, trends and prospects in European Countries: The case of Greece, Period and Cohort fertility analysis.* Paper presented at the Research Activity Workshop of School of Engineering, University of Thessaly, Volos, Greece.

4. **Baltas, P.** (2011, October). *La démographie des Balkans:tendances lourdes, L' Union européenne et la fracture balkanique*. Paper presented at Séminaire de valorisation de la recherche, INED, Salle Alfred Sauvy, Paris, France.

Baltas, P. (2011, October). *The demography of the Balkans: main trends, The European Union and the Balkan divide*. Paper presented at the Research Seminar, INED, Salle Alfred Sauvy, Paris, France

Σύντομο Βιογραφικό

Ο **Παύλος Μπαλτάς** είναι απόφοιτος του Τμήματος Μηχανικών Χωροταξίας, Πολεοδομίας και Περιφερειακής Ανάπτυξης του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και κάτοχος δύο μεταπτυχιακών τίτλων (Master), ο πρώτος στη Χωροταξία και Περιφερειακή Πολιτική από το Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας και ο δεύτερος στη Δημογραφία και Δημογραφική Ανάλυση (με τίτλο Πληθυσμός, Ανάπτυξη και Προοπτικές) του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και του Université Montesquieu Bordeaux-IV (Γαλλία). Είναι Διδάκτορας του Université de Bordeaux σε συνεργασία με το Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας (διακρατικό συν-διδακτορικό), έχοντας λάβει την υποτροφία « Ηράκλειτος ΙΙ » για το διάστημα 2010-2013.

Έχει εργασθεί ως ερευνητής στο Εργαστήριο Δημογραφικών και Κοινωνικών Αναλύσεων του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, στο εργαστήριο του Τομέα Γεωγραφίας και Περιφερειακού Σχεδιασμού του ΕΜΠ, στο Ευρωπαϊκό Παρατηρητήριο Δημογραφίας (ODE) που αποτελεί ενότητα (UE15) του Εθνικού Ινστιτούτου Δημογραφίας της Γαλλίας (INED) στο Παρίσι, καθώς επίσης και στο Ινστιτούτο Δημογραφίας του Πανεπιστημίου του Μπορντό (IEDUB). Τα ερευνητικά του ενδιαφέροντα εστιάζονται στη Δημογραφική Ανάλυση και στη Χωρική Δημογραφία.

Short CV

Pavlos Baltas is an Urban & Regional Planning Engineer, holding a Degree (Ptychion) from the University of Thessaly (5-year compulsory studies). He has a PhD1 in Demography (University of Bordeaux/University of Thessaly), with a "Heraclitus II" scholarship (2010-2013), a MSc in Demography, (University of Thessaly/University of Bordeaux) and a MSc in Planning and Regional Development (University of Thessaly).

He has worked as Research Assistant at Observatory of European Demography (ODE), Institut National d' Etudes Démographiques (INED-France), at Institut d' Etudes Démographiques in University of Bordeaux (France) and today is a research associate at the Laboratory of Demographic and Social Analyses (LDSA-University of Thessaly). His research agenda focuses on two aspects of demography: (1) Demographic Analysis (especially Fertility) and (2) Spatial Demography.

Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών
Department of Civil Engineering

Αλέξης Κορδολέμης

Έξυπνες υφασμάτινες κατασκευές

Περίληψη

Οι υφασμάτινες κατασκευές χρησιμοποιούνται σε πολλές καθημερινές δραστηριότητες του ανθρώπου. Η χρήση των υφασμάτων είναι διττή: πρώτον, για λόγους αισθητικής προκειμένου να βελτιωθεί η εξωτερική εμφάνιση και δεύτερον, για λόγους λειτουργικότητας οι οποίοι σχετίζονται κυρίως με την προστασία από τις καιρικές συνθήκες όπως είναι το κρύο, η ζέστη, η ηλιακή ακτινοβολία κλπ.

Τα υφάσματα, πέραν της κλασικής τους χρήσης όμως, μπορούν να χρησιμοποιηθούν και σε πολλούς τομείς προηγμένης τεχνολογίας και γι' αυτό το λόγο προσέλκυσαν το ενδιαφέρον πολλών ερευνητών από όλο τον κόσμο. Τα κύρια χαρακτηριστικά τους, που αποτέλεσαν και τον πόλο έλξης, είναι το χαμηλό κόστος παραγωγής, ο χαμηλός λόγος βάρος/αντοχή και γενικά οι εξαιρετικές τους μηχανικές ιδιότητες. Δομικά στοιχεία από ύφασμα χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία και σε πολλές τεχνολογικές εφαρμογές υψηλών απαιτήσεων. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν οι αερόσακοι και οι ζώνες ασφαλείας των αυτοκινήτων, τα αλεξίπτωτα και τα αλεξίσφαιρα γιλέκα στην πολεμική βιομηχανία, τα σχοινιά και τα στέγαστρα στην εμπορική βιομηχανία κλπ. Όλες αυτές οι εφαρμογές μπορούν να βελτιστοποιηθούν με τη χρήση αποτελεσματικών μεθόδων μοντελοποίησης αυτών των υλικών. Η μοντελοποίηση των υφασμάτων είναι μια επίπονη και πολύπλοκη διαδικασία που χρήζει ιδιαίτερης προσοχής λόγω της δομικής αρχιτεκτονικής τους. Η πολυπλοκότητα οφείλεται, κατά κύριο λόγο, στον τρόπο της πλέξης τους καθώς και στον τρόπο με τον οποίο παραμορφώνονται υπό την επίδραση μηχανικών φορτίων. Παρόλο που έχουν γίνει πολλές προσπάθειες από πολλούς ερευνητές σε όλο τον κόσμο, μέχρι και σήμερα δεν υπάρχει ένα αξιόπιστο αντιπροσωπευτικό μοντέλο για αυτά τα υλικά που να είναι ικανό να προβλέψει τη μηχανική τους συμπεριφορά. Σκοπός της εργασίας αυτής είναι να διαμορφώσει και να υλοποιήσει ένα θεωρητικό μοντέλο το οποίο θα είναι ικανό να προβλέψει τη μηχανική απόκριση αυτών των κατασκευών υπό την επίδραση μηχανικών φορτίων.

Το κύριο χαρακτηριστικό των υφασμάτων είναι ο τρόπος πλέξης των νημάτων και των υφαδιών. Ο τρόπος πλέξης απεικονίζει με τον πλέον ξεκάθαρο τρόπο τη μικροδομή τους. Τοπικά, τα νήματα και τα υφάδια, παρουσιάζουν μετατοπίσεις, στροφές και καμπτικές ροπές, με αποτέλεσμα να εκδηλώνονται φαινόμενα κλίμακας. Αυτού του είδους τα φαινόμενα επηρεάζουν σε σημαντικό βαθμό τη μακροσκοπική απόκριση της κατασκευής και θα πρέπει να ληφθούν υπόψη στην ανάλυση. Είναι ευρέως γνωστό ότι η κλασική θεωρία της ελαστικότητας στηρίζεται στην παραδοχή ότι οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των υλικών σωματιδίων εντός του σώματος μπορούν να περιγραφούν πλήρως με τον ελκυστή των τάσεων (αξίωμα του Cauchy). Αυτή η παραδοχή ισχύει σε αρκετά καλό βαθμό για την πλειονότητα των δομικών υλικών, ειδικά στις περιπτώσεις όπου η κλίμακα της μελέτης είναι τέτοια όπου οι λεπτομέρειες της μικροδομής δε λαμβάνονται υπόψη. Η κλασική θεωρία του συνεχούς μέσου δεν είναι σε θέση να περιγράψει φαινόμενα κλίμακας και η αναζήτηση και χρήση πιο γενικευμένων θεωριών είναι απαραίτητη. Σε μια γενικευμένη θεωρία, η οποία θα ικανοποιεί αυτή την αναγκαιότητα, θεωρείται ότι οι αλληλεπιδράσεις των υλικών σωματιδίων μέσα στο συνεχές μέσο δεν περιγράφονται από ένα μόνο διάνυσμα, τον ελκυστή των τάσεων που αποτυπώνει τις σχετικές μετατοπίσεις τους, αλλά και από ένα πρόσθετο διάνυσμα, τον ελκυστή των ροπών, που αποτυπώνει τις σχετικές στροφές τους.

Στην περιοχή των γενικευμένων θεωριών του συνεχούς μέσου, δύο είναι οι σχολές σκέψης που έχουν επικρατήσει. Η πρώτη σχολή σκέψης υιοθετεί την ιδέα ότι η μικροδομή του υλικού μπορεί να μοντελοποιηθεί με καλύτερο τρόπο εισάγοντας περισσότερους βαθμούς ελευθερίας στο μέσο. Η πρώτη προσπάθεια προς αυτή την κατεύθυνση έγινε από τους αδερφούς Cosserat, στις αρχές του περασμένου αιώνα, οι οποίοι διαμόρφωσαν με τη θεωρία τους την σπονδυλική στήλη των λεγόμενων γενικευμένων θεωριών ανώτερης τάξης. Οι αδερφοί Cosserat (1909) διατύπωσαν μια μη γραμμική θεωρία για τα στερεά σώματα προσαρμόζοντας μια τριάδα διανυσμάτων σε κάθε υλικό σωματίδιο του σώματος. Συνεπώς, με αυτή την προσέγγιση, το κάθε υλικό σωματίδιο αντιμετωπίζεται ως ένα στερεό σώμα, το οποίο είναι ενσωματωμένο μέσα στο συνεχές μέσο και το οποίο μπορεί να συστρέφεται ανεξάρτητα από το συνεχές μέσο όταν το τελευταίο παραμορφώνεται. Αυτού του είδους η προσέγγιση, αν και είναι ακριβής, παρουσιάζει κάποια μειονεκτήματα κυρίως λόγω των περίπλοκων μαθηματικών σχέσεων που οδηγεί, οι οποίες μπορούν να λυθούν δύσκολα, αλλά και για τη φυσική σημασία των επιπρόσθετων παραμέτρων που προκύπτουν, που θα πρέπει να μεταφραστούν με φυσικούς όρους. Η ανάγκη να εδραιωθούν αυτού του είδους οι θεωρίες, σε πιο ρεαλιστικό επίπεδο, οδήγησε σε κάποιες απλοποιήσεις των αρχικών παραδοχών σχετικά με την τριάδα των διανυσμάτων στο υλικό σημείο. Η απλούστερη έκδοση της θεωρίας Cosserat είναι η θεωρία των τάσεων διπόλου.

Η δεύτερη σχολή σκέψης προσεγγίζει τη μοντελοποίηση της μικροδομής από μια διαφορετική οπτική και λαμβάνει ως βάση της τη συνάρτηση της πυκνότητας της ελαστικής ενέργειας, στην έκφραση της οποίας περιλαμβάνονται οι βαθμίδες της παραμόρφωσης. Διάφορες εκδοχές αυτής της προσέγγισης έχουν παρουσιασθεί στη διεθνή βιβλιογραφία και η κυρίαρχη διαφορά μεταξύ των είναι στους ανώτερους όρους της βαθμίδας που λαμβάνονται υπόψη κάθε φορά. Η γενικότερη περίπτωση αυτής της κατηγορίας είναι η πολυπολική θεωρία (multipolar theory) στην οποία περιλαμβάνονται όλοι οι ανώτεροι όροι της βαθμίδας παραμόρφωσης. Η θεωρία της πρώτης βαθμίδας (first gradient ttheory) και η θεωρία της δεύτερης βαθμίδας (second gradient theory) αποτελούν υποπεριπτώσεις αυτής της κατηγορίας.

Η μικροπολική θεωρία (micropolar theory) αποτελεί αντιπροσωπευτικό παράδειγμα των θεωριών γενικευμένου μέσου και το βασικό της χαρακτηριστικό είναι ότι ο επιπλέον βαθμός ελευθερίας που εισάγεται στο συνεχές μέσο που περιγράφει τη σχετική στροφή μεταξύ των υλικών σωματιδίων είναι ανεξάρτητος από την μακροσκοπική στροφή του συνεχούς μέσου. Αυτή η παραδοχή επιφέρει κάποιες σημαντικές τροποποιήσεις στην κλασική θεωρία της ελαστικότητας όπως: α) ο τανυστής των τάσεων δεν είναι πλέον συμμετρικός, καθώς η εξίσωση της αρχής διατήρησης της ορμής τροποποιείται β) η συνάρτηση της πυκνότητας της ελαστικής ενέργειας λαμβάνει μια επαυξημένη μορφή, υπό την έννοια ότι περιλαμβάνει πλέον της παραμόρφωσης και τη βαθμίδα της στροφής.

Οι υφασμάτινες κατασκευές συμπεριλαμβάνονται στην κατηγορία των υλικών με μικροδομή εκ των πραγμάτων, λόγω της δομικής αρχιτεκτονικής τους η οποία καθιστά την μικροδομή τους ορατή ακόμη και με γυμνό οφθαλμό. Τα έξυπνα υφασμάτινα υλικά μπορούν να δημιουργηθούν από νήματα και υφάδια τα οποία μπορούν να ενεργοποιηθούν μηχανικά μέσω θερμικών, ηλεκτρικών και μαγνητικών πεδίων, εάν κατασκευαστούν από υλικά τα οποία μπορούν να αντιδράσουν σε τέτοιου είδους πεδία. Επιπλέον, πιεζομαγνητικά και πιεζοηλεκτρικά φορτία μπορούν να μετατρέψουν τα υφάσματα σε συσκευές αποθήκευσης ενέργειας μετατρέποντας τη μηχανική ενέργεια σε ηλεκτρική.

Μικροδομικά, τα υφάσματα μπορούν να αναλυθούν και με τη μέθοδο των καλωδίων, έχοντας ως χαρακτηριστικό τους γνώρισμα τη μεταφορά φορτίων υπό τη μορφή εφελκυστικών ορθών τάσεων, παρουσιάζοντας πολύ μικρή διατμητική και καμπτική ακαμψία. Συνεπώς, τα καλώδια αποκρίνονται σε εξωτερικά φορτία και μαζικές δυνάμεις προσαρμόζοντας τη γεωμετρία τους παρά αναπτύσσοντας τάσεις.

Λέξεις κλειδιά: υφάσματα, ίνες, καλωδιωτοί φορείς, γενικευμένες θεωρίες συνεχούς μέσου, δομική ευφυΐα, συζευγμένα ηλεκτρομηχανικά συστήματα, μη γραμμική ανάλυση, αριθμητικές μέθοδοι

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Αντώνιος Γιαννακόπουλος, Καθηγητής, Τομέας Δομοστατικής Μηχανικής, Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών Πολυτεχνικής Σχολής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας *(επιβλέπων)*

Νικόλαος Αράβας, Καθηγητής, Τομέας Υπολογιστικής Μηχανικής των Κατασκευών, Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών Πολυτεχνικής Σχολής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας *(συνεπιβλέπων)*

Γρηγόρης Χαϊδεμενόπουλος, Καθηγητής, Τομέας Φυσικής Μεταλλουργίας – Ανάπτυξη Κραμάτων & Σύγχρονες Κατεργασίες, Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών Πολυτεχνικής Σχολής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Alexis Kordolemis

Smart Textiles

Abstract

Textiles are used in many cases in human's everyday life. The main usage is twofold: firstly, is aesthetics in order to improve the image of the people and secondly, the functionality which has to do with the protection from weather conditions like cold, rain, sun, ultraviolet radiation, etc.

Fabrics attract a lot of attention from researchers all over the world due to production low cost, low weight to strength ratio and generally the extraordinary

mechanical properties they exhibit. Textile structural components are commonly used in industry and in many advanced technological applications. Characteristic examples are airbags and seat belts in automotive industry, parachutes and bulletproof wests in the army, ropes and tents in commercial industry, etc. All these applications can be improved and optimized by using effective modelling techniques for the fabrics. Fabric modelling is an elegant task, due to high complexity of the structure. High complexity is due to the weaving process and the various modes of deformation. Even though a lot of attempts from a great number of researchers have been made, there is no reliable and sufficient model for predicting the mechanical behaviour of fabrics till today. So, the first target of the study is to formulate a model adequate to predict and simulate the mechanical behaviour of fabrics in a sufficient and reliable way.

The main characteristic of the fabrics is the weave between the warps and the yarns. Weave depicts transparently the material's microstructure. Locally, the yarns translate, twist and bend independently to each other, so size effects are inevitably present. The macroscopic fabric response is influenced very much from the microstructure. It is well known that classic theory of elasticity is founded in the assumption that the interactions between the material particles within the body can be fully described through the force traction vector (Cauchy postulate). This assumption is valid for the majority of materials, especially in the case, where the scale of study is such, that the microscopic details of the material are not taken into account. Classical continuum mechanics theories cannot take into account such size effect phenomena and the usage of a generalized continuum theory is necessary. The necessity of studying in detail the mechanical behaviour of materials, in conjunction with the inability of the classical theory to incorporate coupling effects that stem from the underlying microstructure, calls for a modified theory which can capture the emerging microstructural and coupling phenomena. For example, it is often assumed that except the traction force vector which implies the translation of the particles, an additional moment vector is introduced which implies the internal rotation between the material particles.

In the simplest generalized continuum theories era, two main schools of thought were established. The first school adopts the idea that the material's underlying microstructure can be better addressed by inserting additional degrees of freedom within the continuum. The first attempt to this direction was made by Cosserat brothers, in the beginning of the past century, establishing the backbone of the so called higher order generalized theories. Cosserats (1909) formulated a nonlinear theory for solids, assigning a triad of director vectors to each material particle within the body. That is, each material particle is faced as a rigid body, embedded in the continuum and has the ability to rotate independently from the local rotation of the medium in the course of deformation. The main shortcoming of this approach, on one hand, was the complex form of the governing equations, which, in many cases, was very difficult to be tackled mathematically and on the other hand, the physical interpretation of the additional material constants that came in the foreground. The need to establish such kind of theories in a more physical ground lead to some simplifications of the initial assumption dealing with the director vectors within the body. A simpler version of Cosserat theory is the couple stress theory.

The second school of thought adopts another approach to interpret the effects of the underlying microstructure, having as a basis the gradient of strain taken into account into the strain energy density function. Various versions of these theories were established in the literature and the key difference among them is related to the high order gradients taken under consideration each time. The more general case is the multipolar theory where all the higher gradients of the strain are taken into account. First strain gradient and second strain gradient theories are simplified versions of this category.

Micropolar theory is a prominent representative of the generalized continuum theories and its characteristic feature is that the additional degree of freedom introduced, rotation between the material particles, is independent from the macroscopic rotation of the body. This assumption entails a set of significant modifications of the classical elasticity theory, such as: a) the stress tensor is no longer symmetric due to the modified balance equation of angular momentum b) the strain energy density function takes an augmented form, including both the strain and the gradient of rotation. Several micromechanical analyses of two dimensional models composed of connected elastic rods exist, which lead to micropolar continuum.

Textile components fall to this class of materials, a fortiori, due to their structural architecture which makes the microstructure visible even with the naked eye. Smart textiles incorporate yarns that can be mechanically activated through thermal electric and magnetic fields, due to the thermomechanical, mechanochemical, piezoelectric and piezomagnetic properties of the yarn's matter. Piezomagnetic and piezoelectric properties can be also utilized so that textiles can be used as energy harvesting devices, transforming the mechanical energy to electric energy. Similar methodologies can be applied to other coupling phenomena (thermomechanical, piezoelectric, etc.).

Cable structures have the characteristic of transferring loads as tensile normal stresses, exhibiting very small shear and bending stiffness. Thus, the cables respond to the application of external loads and body forces by adopting their geometry rather than developing stresses. The classic problem of the cable structures is the hanging chain which, under its own weight, takes the form of a catenary in tension (the shape was found to be hyperbolic cosine). Solutions for elastic cable systems have been presented, taking into consideration the initial cable tension and the deformed state of the cable.

The micropolar theory adopted in the study, assumes that the director vectors incorporate three degrees of freedom that is two translational and one rotational, which are independent of the macroscopic deformation of the body. In textile composites, especially in the out of plane deformation where this study focuses, rotational degree of freedom reflects to the physical interpretation of the local curvatures of the yarns. The problem is formulated by stating the basic kinematical assumptions, the constitutive law and equilibrium quasi-static equations in plane polar coordinates. Next, we particularize the relations to the cable configuration. The micropolar cable can sustain shear forces and moments at its ends. We then solve particular cases with important types of body forces and boundary conditions.

Key words: textiles, yarns, cables, generalized continuum theories, structured smartness, coupled electromechanical systems, nonlinear analysis, numerical methods

Three - Member Supervisory Committee

Antonios Giannakopoulos, Professor, Division of Structural Mechanics, Department of Civil Engineering, University of Thessaly, Greece *(advisor)*

Nikolaos Aravas, Professor, Division of Computational Mechanics, Department of Mechanical Engineering, University of Thessaly, Greece *(co-advisor)*

Gregory Haidemenopoulos, Professor, Division of Physical Metallurgy, Department of Mechanical Engineering, University of Thessaly, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος « Ηράκλειτος ΙΙ » Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Kordolemis, A.,** Aravas, N., & Giannakopoulos, A.E.(2015). Pretwisted beams in axial tension and torsion: An analogy with dipolar gradient elasticity and applications to textile materials. *Journal of Engineering Mechanics*, *141*(10), 04015036. http://dx.doi.org/10.1061/(ASCE)EM.1943-7889.0000917
2. **Kordolemis, A.**, Giannakopoulos, A.E. (2014). Micropolar 2-D elastic cables with applications to smart cables and textiles. *Journal of Engineering Mechanics*, *140*(10), 04014079. http://dx.doi.org/10.1061/(ASCE)EM.1943-7889.0000794

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες Presentations in scientific conferences and meetings –workshops

1. **Kordolemis, A.**, Aravas, N., & Giannakopoulos, A.E. (2015, June – July). *Pretwisted Beam Subjected To Thermal Type of Loading: A Gradient Thermoelastic Analogue With Applications To Textile Materials*. ASME 2015 Applied Mechanics and Materials Conference McMat 2015, Seattle, Washington.
2. **Kordolemis, A.**, Aravas, N., & Giannakopoulos, A.E. (2013, May). *Pretwisted beams in axial tension and torsion: An analogy with dipolar gradient elasticity and applications to textile materials.* International Congress on Mechanics (10HSTAM), Chania, Crete, Greece.
3. **Κορδολέμης, Α.** (2012, Νοέμβριος). *Έξυπνες υφασμάτινες κατασκευές*. Προφορική ανακοίνωση στην Ημερίδα στο πλαίσιο του ερευνητικού προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ», Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.

   Kordolemis, A. (2012, November). *Smart Textiles*. Paper presented at the Workshop within the framework of the research scholarship program "Heraclitus II", University of Thessaly, Volos, Greece.

Σύντομο Βιογραφικό

Ο **Αλέξης Κορδολέμης** είναι ερευνητής στο Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, στο Βόλο. Είναι ενεργό μέλος του Εργαστηρίου της Αντοχής των Υλικών και Μικρομηχανικής στο ίδιο Τμήμα. Απέκτησε το Δίπλωμα Πολιτικού Μηχανικού στον τομέα της Δομοστατικής Μηχανικής, το 2006. Στη συνέχεια, το Σεπτέμβριο του ίδιου έτους, μετέβη στην Αθήνα, στο Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, όπου απέκτησε τον μεταπτυχιακό του τίτλο στην περιοχή της Υπολογιστικής Μηχανικής από τη Σχολή Εφαρμοσμένων Μαθηματικών και Φυσικών Επιστημών (ΣΕΜΦΕ). Αφού υπηρέτησε τη στρατιωτική του θητεία για ένα χρόνο στην Πολεμική Αεροπορία, επέστρεψε στο Βόλο, όπου και συνέχισε τις μεταπτυχιακές του σπουδές, στο Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών. Τον Ιανουάριο του 2014, απέκτησε το Διδακτορικό του Δίπλωμα στην περιοχή των Έξυπνων Υφασμάτινων Κατασκευών, με υποτροφία “Ηράκλειτος ΙΙ”.

Έχει εργασθεί στον ιδιωτικό τομέα, στην κατασκευή του Αυτοκινητοδρόμου Κεντρικής Ελλάδας – Ε65, ως μηχανικός έργου. Έχει τέσσερεις δημοσιεύσεις σε διεθνή επιστημονικά περιοδικά με κριτές και έχει συμμετάσχει σε επιστημονικά συνέδρια στην Ελλάδα και στο εξωτερικό ως ομιλητής. Είναι μέλος του Τεχνικού Επιμελητηρίου Ελλάδας και της Ένωσης Ελλήνων Μηχανικών. Τα ερευνητικά του ενδιαφέροντα είναι στην περιοχή της δομικής μηχανικής, της κλασικής μηχανικής και των γενικευμένων θεωριών του συνεχούς μέσου, στην αριθμητική ανάλυση, στην υπολογιστική μηχανική, στη μη γραμμική θεωρία της μηχανικής, σε εύκαμπτους φορείς από σύνθετα υλικά, στα έξυπνα υφάσματα.

Short CV

Alexis Kordolemis is currently Research Associate in the Department of Civil Engineering at University of Thessaly, Volos, Greece. He is also member of the Laboratory of Strength of Materials and Micromechanics in the same Department. He earned his Bachelor Degree (B.Sc.) in the area of Structural Mechanics, in 2006. The same year, he moved to Athens where he earned a Master’s Degree (M.Sc.) in the area of Computational Mechanics, from The National Technical University of Athens (NTUA), in the Department of Applied Mathematics and Physical Sciences. After his military service in the Air Force for one year, in 2009, he returned to the Department of Civil Engineering in the University of Thessaly, where he continued his postgraduate studies. On January 2014, he obtained his Doctorate (Ph.D.) in the area of Smart Textiles, with a “Heraclitus II” scholarship.

He has worked in the private sector, as site engineer, in the construction of the Central Greece Highway – E65. He has published four papers in international peer reviewed journals and he has participated in scientific congresses in Greece and abroad as a speaker. He is member of the Technical Chamber of Greece and Greek Society of Civil Engineers. His research interests lie in the area of structural mechanics, classical and generalized continuum mechanics, numerical analysis, computational mechanics, nonlinear mechanics, flexible composite materials and smart textiles.

Δάφνη Παντούσα

Συμπεριφορά κατασκευών σε κατάσταση πυρκαγιάς μετά από σεισμικά γεγονότα

Περίληψη

Αντικείμενο της διδακτορικής διατριβής αποτελεί η διερεύνηση της συμπεριφοράς μεταλλικών πλαισιωτών κατασκευών σε υψηλές θερμοκρασίες, θεωρώντας ως σημείο έναρξης των υπολογισμών μια κατάσταση μονίμων βλαβών που προέρχονται από σεισμική καταπόνηση, η οποία έχει προηγηθεί. Η διατριβή λαμβάνει υπόψη τις βλάβες που προκαλούνται από τη σεισμική φόρτιση, τόσο στα δομικά όσο και στα μη-δομικά μέλη. Συγκεκριμένα, η μελέτη επικεντρώνεται στον υπολογισμό του χρόνου πυραντοχής των κατασκευών στην περίπτωση που η πυρκαγιά εκδηλώνεται μετά από τη σεισμική φόρτιση. Η μελέτη διεξάγεται μέσω αριθμητικών μεθόδων.

Η διατριβή επικεντρώνεται στη μελέτη μιας μεταλλικής πλαισιωτής κατασκευής που χρησιμοποιείται ως βιβλιοθήκη, πρέπει όμως να σημειωθεί πως η μεθοδολογία που αναπτύσσεται μπορεί να εφαρμοστεί και σε άλλους τύπους δομημάτων. Αρχικά, η κατασκευή σχεδιάζεται ώστε να φέρει τα φορτία βαρύτητας και σεισμού, σύμφωνα με τους ισχύοντες ευρωπαϊκούς κανονισμούς. Ο στόχος είναι να μελετηθεί η συμπεριφορά της κατασκευής κατά τη διάρκεια της πυρκαγιάς, λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι το στατικό σύστημα έχει υποστεί διάφορα επίπεδα βλαβών λόγω της σεισμικής φόρτισης, η οποία κλιμακώνεται σταδιακά, ώστε να αναπαριστά σεισμούς με μικρότερη πιθανότητα εμφάνισης. Επιπρόσθετα, λαμβάνεται υπόψη το γεγονός ότι η σεισμική φόρτιση μπορεί να εισάγει διαφορετικά επίπεδα βλάβης και στα μη-φέροντα στοιχεία, ανάλογα με την περίοδο επαναφοράς του σεισμού. Για το σκοπό αυτό, η μελέτη αρχικά επικεντρώνεται στην επιβεβαίωση της σεισμικής συμπεριφοράς της κατασκευής, λαμβάνοντας υπόψη σεισμούς με μικρότερη περίοδο επαναφοράς, μέσω της σύγκρισης της διαθέσιμης ικανότητας του στατικού συστήματος με την απαιτούμενη. Στη διατριβή αυτή, η ικανότητα του στατικού συστήματος εκφράζεται μέσω της γωνιακής παραμόρφωσης ορόφου και ακολουθεί τη φιλοσοφία του αντισεισμικού σχεδιασμού των κατασκευών, με βάση τέσσερεις στάθμες επιτελεστικότητας.

Συγκεκριμένα, το ενδιαφέρον επικεντρώνεται στις στάθμες επιτελεστικότητας Προστασία Ζωής και Οιονεί Κατάρρευση. Για τις συγκεκριμένες στάθμες, οι βλάβες στα μη-φέροντα στοιχεία (υαλοπίνακες, συστήματα ψευδοροφής, πυράντοχες πόρτες, εσωτερικά χωρίσματα, μηχανολογικός εξοπλισμός) αναμένονται να είναι εκτεταμένες. Ο σκοπός είναι να μελετηθεί η συμπεριφορά του στατικού συστήματος για διαφορετικά (κλιμακούμενα) σενάρια μετασεισμικής πυρκαγιάς. Στη διατριβή αυτή, ο όρος μετασεισμική πυρκαγιά (ΜΠ) σχετίζεται μόνο με τις βλάβες των μη-φερόντων στοιχείων. Τα μετασεισμικά σενάρια πυρκαγιάς βασίζονται σε κλιμακούμενα επίπεδα μη-δομικής βλάβης και με τον τρόπο αυτό διαφοροποιούνται οι συνοριακές συνθήκες του θερμικού προβλήματος. Έτσι προκύπτουν διαφορετικές χωρικές χρονο-ιστορίες θερμοκρασίας μέσα στο πυροδιαμέρισμα.

Ο βασικός στόχος της διατριβής είναι να υπολογιστεί η μείωση του χρόνου πυραντοχής του στατικού συστήματος λόγω των βλαβών που εισάγονται στην κατασκευή κατά τη διάρκεια της σεισμικής φόρτισης. Η μείωση προκύπτει μέσω της σύγκρισης με την περίπτωση που το στατικό σύστημα δεν έχει υποστεί βλάβες και στη διατριβή αυτή ονομάζεται σενάριο *αναφοράς*. Ο αντίστοιχος χρόνος πυραντοχής αναφέρεται για λόγους συντομίας ως χρόνος αναφοράς. Η σύγκριση των αποτελεσμάτων που προκύπτουν (σε όρους χρόνου πυραντοχής) από το συνδυασμένο σενάριο της πυρκαγιάς μετά από σεισμικά γεγονότα (ΠΜΣΓ) με το σενάριο αναφοράς καθορίζει τη μείωση του χρόνου πυραντοχής σε σχέση με το επίπεδο βλάβης. Διευκρινίζεται πως, στη συγκεκριμένη διατριβή, ο όρος πυρκαγιά μετά από σεισμικά γεγονότα (ΠΜΣΓ) σχετίζεται με βλάβες τόσο σε δομικά όσο και σε μη-δομικά στοιχεία και είναι διαφορετικός από τον όρο μετασεισμική πυρκαγιά (ΜΠ). Τα συνδυασμένα σενάρια ΠΜΣΓ προκύπτουν από τον συνδυασμό κλιμακούμενων σεισμικών φορτίσεων (άμεσα συνδεδεμένες με βλάβες σε δομικά μέλη) με διαφορετικά σενάρια ΜΠ (άμεσα συνδεδεμένα με βλάβες σε μη-δομικά μέλη).

Σε αυτό το σημείο περιγράφονται – συνοψίζονται σταδιακά οι στόχοι της διατριβής:

Ο πρώτος στόχος είναι ο προσδιορισμός του χρόνου πυραντοχής για τα σενάρια αναφοράς και αυτό επιτυγχάνεται μέσω της αριθμητικής προσομοίωσης της συμπεριφοράς του στατικού συστήματος. Εδώ διαχωρίζονται δύο περιπτώσεις. Στην πρώτη περίπτωση, η πυρκαγιά προσομοιώνεται μέσω της καμπύλης ISO, σύμφωνα με τις τρέχουσες οδηγίες των ευρωπαϊκών προτύπων. Στην περίπτωση αυτή, προσδιορίζεται ο κανονιστικός χρόνος πυραντίστασης. Στη δεύτερη περίπτωση, η φυσική πυρκαγιά προσομοιώνεται μέσω των αρχών της Υπολογιστικής Ρευστοδυναμικής.

Ο δεύτερος στόχος είναι ο υπολογισμός του

χρόνου πυραντοχής του στατικού συστήματος για διαφορετικά σενάρια ΜΠ, με ταυτόχρονη κλιμάκωση της περιόδου επαναφοράς της σεισμικής δράσης. Η μελέτη βασίζεται στην υπόθεση πως τα διαφορετικά σενάρια ΜΠ είναι άμεσα συσχετιζόμενα με την περίοδο επαναφοράς του σεισμού. Ο χρόνος πυραντοχής του στατικού συστήματος για τα συνδυασμένα σενάρια ΠΜΣΓ προκύπτει μέσω αριθμητικής ανάλυσης. Σκοπός είναι να υπολογιστεί η μείωση του χρόνου πυραντοχής σε σχέση με το σενάριο *αναφοράς* που αντιστοιχεί στη φυσική πυρκαγιά. Τέλος, στόχος είναι να προσεγγιστεί το πρόβλημα μέσω μιας πιο απλής μεθοδολογίας, χρησιμοποιώντας την ISO πυρκαγιά αντί των σεναρίων ΜΠ. Με αυτό τον τρόπο, υπολογίζεται η μείωση του χρόνου πυραντοχής λόγω της δομικής βλάβης, σε σχέση με το αντίστοιχο σενάριο αναφοράς της ISO πυρκαγιάς.

Ο τρίτος στόχος είναι ο προσδιορισμός των κριτηρίων για τον υπολογισμό του χρόνου πυραντοχής του στατικού συστήματος. Στη διατριβή αυτή, προτείνονται κριτήρια που βασίζονται στη στροφική ικανότητα των δομικών μελών στις υψηλές θερμοκρασίες. Στόχος σε αυτό το σημείο είναι η λεπτομερής διερεύνηση της συμπεριφοράς μεμονωμένων δομικών μελών στις υψηλές θερμοκρασίες. Για το σκοπό αυτό, αναπτύσσονται τρισδιάστατα μοντέλα πεπερασμένων στοιχείων και το πρόβλημα λύνεται μέσω μη-γραμμικής ανάλυσης. Το ζητούμενο είναι να υπολογισθούν οι τιμές της στροφικής ικανότητας στις υψηλές θερμοκρασίες. Στη συνέχεια, πρέπει να προσδιοριστούν οι τιμές της στροφής που αντιστοιχούν στην εξάντληση της στροφικής ικανότητας των δομικών μελών. Οι προαναφερθείσες τιμές συνιστούν τα κριτήρια που προτείνονται στην διατριβή για τον υπολογισμό του χρόνου πυραντοχής του στατικού συστήματος. Η μελέτη επεκτείνεται και σε δομικά μέλη που έχουν υποστεί βλάβες. Σε αυτή την περίπτωση, τα δομικά μέλη υποβάλλονται αρχικά σε ανακυκλιζόμενη φόρτιση και στη συνέχεια, γίνεται η επιβολή του θερμικού φορτίου. Στόχος είναι να εκτιμηθεί η στροφική ικανότητα και οι τιμές της στροφής που αντιστοιχούν στην εξάντληση της στροφικής ικανότητας των δομικών μελών για διάφορα επίπεδα βλάβης.

Λέξεις κλειδιά: μεταλλικές κατασκευές, υψηλές θερμοκρασίες, σεισμική φόρτιση, πλαστιμότητα

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Ευριπίδης Μυστακίδης, Καθηγητής Στατικής, Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας *(επιβλέπων)*

Γεώργιος Σταυρουλάκης, Καθηγητής στη Μηχανική, Τμήμα Μηχανικών Παραγωγής και Διοίκησης, Πολυτεχνείο Κρήτης

Ολυμπία Παναγούλη, Επίκουρη Καθηγήτρια στα Πεπερασμένα στοιχεία, Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Daphne Pantousa

Behaviour of structures under fire conditions after earthquake events

Abstract

The dissertation addresses the problem of the behaviour of steel structures under the Fire after Earthquake loading. The problem is handled numerically. The study is focused on a four-storey library building. It is emphasized that the study takes into account the damage that is induced due to earthquake to both structural and non-structural members. The basic objective is the assessment of both the fire behaviour and the fire-resistance of the structure, in the case where the structure is damaged due to earthquake and, supplementary, in the case where the structure is not damaged. The last case is considered as the *reference* case and it is used for comparison of the behaviour of the damaged structure with the undamaged one.

The first issue is the definition of both Post Earthquake Fire (PEF) scenarios and *reference* scenarios. The PEF scenarios are used in order to study the effect of the non-structural damage to the fire evolution in the enclosure. In this study, the PEF scenarios are defined through the non-structural damage that is induced due to earthquake. Specifically, two different issues are considered which are the functionality of the fire-sprinkler system and the breakage of the windows. The *reference* scenarios are defined to be the cases where the sprinkler-system is entirely functional and the one where none of the windows is broken due to earthquake.

A numerical model is developed for the numerical simulation of the natural PEF scenarios in the first floor of the library building. The simulation is conducted in FDS using the principles of CFD. A FSI (Fire Structure Interface) model is proposed, in order to overcome the difficulties which arise due to the strong spatial non-homogeneity and the intense time variation of the gas-temperature profile in the fire-compartment. The “dual-layer” model is developed

in order to "condense" the results (concerning the spatial and temporal gas-temperature evolution) and the fire-compartment is divided into "virtual" zones. The model is based on the idea of the "two-zone" models, as they are proposed in EN-1991-1-2 and it is based on the assumption that each virtual zone is further divided into two layers of uniform temperature: the upper (hotter) layer and the lower (colder) layer. In the sequel, the temperature profile of the structural members is calculated for both the reference and PEF scenarios, using the gas-temperature that results from the dual-layer model, depending on the virtual zone and the layer where they are located. The calculation of the temperature profile of the structural members is based on the simplified models that are proposed in EN 1991-1-2.

The next issue is the definition of the Fire after Earthquake (FAE) scenarios. The scenarios are divided into two main categories, depending on the representation of the fire action: the ISO-FAE scenarios and the Natural-FAE scenarios. Different ISO-FAE scenarios are generated, depending on the accelerogram that is used and the scale factor of the earthquake intensity. The fire action is simulated through the ISO-fire curve in all the cases. The definition of the Natural-FAE scenarios is based on the idea that the structure can suffer different PEF scenarios as the earthquake becomes stronger. Specifically, it is considered that, as the intensity of the seismic action is scaled-up, using the appropriate scale factors for the PGA, different levels of non-structural damage are expected and these are directly connected to the different PEF scenarios. Thus, each Natural-FAE scenario is defined from a scaled accelerogram and the expected PEF scenario.

The next issue is the definition of the failure criteria for the determination of the fire-resistance of the structure under fire and FAE loading. To this end, three-dimensional shell finite element models are proposed for the simulation of the behaviour of I-beams at elevated temperatures. First, the models are validated against published experimental results. The ductility of the beams is obtained through three-point bending tests (monotonic loading), using the standard beam approach. In the sequel, parametric analyses are conducted, with respect to the amplitude of the initial imperfections, at elevated temperatures, mainly in order to define the ductility of the members, in terms of rotational capacity and rotational (failure) criteria. The criterion that is proposed in this study is determined through the value of the rotation that corresponds to the exhaustion of the available rotational capacity of the beam. The term *ultimate available rotation* is used to identify this rotation. It is concluded that, clearly, the criterion depends on the amplitude of the initial imperfections and that it is not strongly temperature dependent. The study is further extended to the evaluation of the rotational capacity of pre-damaged beams at elevated temperatures. Different cyclic loading patterns are introduced, in order to induce a specified "level" of damage in the beam. Cyclic loading is used, in order to simulate the damage that is induced at the ends of the beams that belong in the frame structure due to earthquake loading. Parametric analyses are conducted with respect to the amplitude of the initial imperfections and to the different cyclic loading patterns, at elevated temperatures. The failure criteria are separated into two categories. In the first category, the failure criteria are defined through monotonic loading and they can be used for the determination of the fire-resistance of the frame structure that is not damaged due to earthquake i.e. in the case of the reference fire scenarios. The criteria that depend on the 'level of damage' that is induced in the structural members during the cyclic loading belong in the second category. In this case, they are classified according to the 'level of damage' induced in the beam, in order to be utilized for the evaluation of the fire-resistance of the damaged frame structures.

Finally, the fire-resistance of the structure for the *reference* and the FAE scenarios is determined, in time and temperature domain, taking into account the failure criteria that were previously defined. In the case of the *reference* (ISO) fire scenario, the fire resistance is calculated for the case where the imperfections are not considered and for amplitude of initial imperfections 0.5 mm, 2 mm and 5 mm, respectively. In the case of the natural fire *reference* scenario, the structure does not fail. Regarding both the ISO-FAE and the Natural-FAE scenarios, it is concluded that the upper bound of the reduction of the fire-resistance time of the damaged structure (with respect to the fire-resistance time of the ISO *reference* scenario that is obtained using failure criteria which do not take into account initial imperfections) is approximately 25%.

Key words: steel structures, elevated temperatures, earthquake, rotational capacity

Three - Member Supervisory Committee

Euripidis Mistakidis, Professor of Structural Analysis, Department of Civil Engineering, University of Thessaly, Greece (supervisor)

Georgios Stavroulakis, Professor of Structural Mechanics, Department of Production Engineering and Management, Technical University of Crete, Greece

Olympia Panagouli, Assistant Professor of Finite Element method, Department of Civil Engineering, University of Thessaly, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within "Heraclitus II" programme

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Pantousa, D**., & Mistakidis, E. (2012). Advanced Modeling of Composite Slabs with Thin-Walled Steel Sheeting Submitted to Fire. *Fire Technology*, *49*(2), 293-327. http://dx.doi.org/10.1007/s10694-012-0265-x

2. Μυστακίδης, Ε., Μιχαηλίδης, Α., Τζάρος, Α., **Παντούσα, Δ.**, & Μαλικουτσάκης, Μ. (2011). Οικονομικός σχεδιασμός μεταλλικών βάσεων φωτοβολταϊκών στοιχείων με τον Ευρωκώδικα 3, αξιοποιώντας την υποβοηθούμενη από πειράματα διαδικασία σχεδιασμού. *Μεταλλικές Κατασκευές*, 1, 1-5.

   Mistakidis, E., Michailidis, A., Tzaros, K., **Pantousa, D.**, & Malikoutsakis, M. (2011). Effective design of thin-walled steel structural systems used as bases to solar systems, according to design assisted by testing requirements of EC3. *Steel Structures*, 1, 1-5.

3. **Παντούσα, Δ.**, & Μυστακίδης, Ε. (2011). Υπολογισμός της στροφικής ικανότητας χαλύβδινων δοκών σε υψηλές θερμοκρασίες λαμβάνοντας υπόψη την επιρροή των αρχικών ατελειών. *Δελτίο Συλλόγου Πολιτικών Μηχανικών*, No 394.

   Pantousa, D., & Mistakidis, E. (2011). Determination of the rotational capacity of compact steel beams at elevated temperatures considering local and global geometric imperfections. *National Journal for Civil Engineering*, No 394.

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες Presentations in scientific conferences and meetings-workshops

1. **Παντούσα, Δ.**, & Μυστακίδης, Ε. (2014, Οκτώβριος). *Υπολογισμός πυραντοχής μεταλλικής κατασκευής για διαφορετικά σενάρια πυρκαγιάς μετά από σεισμικά γεγονότα, λαμβάνοντας υπόψη δομικές και μη-δομικές βλάβες*. Προφορική Ανακοίνωση στο 8ο Εθνικό συνέδριο Μεταλλικών κατασκευών. Τρίπολη, Ελλάδα.

   Pantousa, D., & Mistakidis, E. (2014, October). *Fire resistance of a steel structure under different fire-after-earthquake scenarios considering both structural and non-structural damage*. Paper presented at 8th National Conference on Steel Structures, Tripoli, Greece.

2. **Pantousa, D.**, & Mistakidis, E. (2014, September). *Rotational capacity of damaged and undamaged steel I-beams at elevated temperatures*. Paper presented at the Eurosteel, Naples, Italy.

3. **Pantousa, D.**, & Mistakidis, E. (2014, September). *Interface modelling between CFD and FEM analysis: The dual layer post-processing interface model*. Paper presented at the Eurosteel, Naples, Italy.

4. **Παντούσα, Δ.**, Ζωγραφοπούλου, Κ., & Μυστακίδης, Ε. (2013, Μάιος). *Το σενάριο της πυρκαγιάς μετά από σεισμικό γεγονός, Μέρος ΙΙ: Αριθμητική προσομοίωση της μηχανικής συμπεριφοράς*. Προφορική Ανακοίνωση στο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρίας Θεωρητικής και Εφαρμοσμένης Μηχανικής, Χανιά, Ελλάδα.

   Pantousa, D., Zografopoulou, K., & Mistakidis, E. (2013, May). *The fire-after-earthquake event in a library building*, *Part 2*: *Simulation of the structural behavior*. Paper presented at the HSTAM, Chania,Greece.

5. Ζωγραφοπούλου, Κ., **Παντούσα, Δ.**, & Μυστακίδης, Ε. (2013, Μάιος). *Το σενάριο της πυρκαγιάς μετά από σεισμικό γεγονός*, *Μέρος Ι: Αριθμητική προσομοίωση της Φυσικής πυρκαγιάς*. Προφορική ανακοίνωση στο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρίας Θεωρητικής και Εφαρμοσμένης Μηχανικής, Χανιά, Ελλάδα.

   Zografopoulou, K., **Pantousa, D.**, & Mistakidis, E. (2013, May).*The fire–after–earthquake event in a library building*, *Part 1: simulation of the natural fire*. Paper presented at the HSTAM, Chania, Greece.

6. **Pantousa, D.**, & Mistakidis, E. (2013, April). *Fire resistance of steel frames under different fire-after-earthquake scenarios based on scaled design accelerograms*. Paper presented at the ASFE, Prague, Czech Republic.

7. **Παντούσα, Δ.**, & Μυστακίδης, Ε. (2011, Σεπτέμβριος-Οκτώβριος). *Υπολογισμός της στροφικής ικανότητας χαλύβδινων δοκών σε υψηλές θερμοκρασίες λαμβάνοντας υπόψη την επιρροή των αρχικών ατελειών*. Προφορική ανακοίνωση στο 7ο Συνέδριο Μεταλλικών Κατασκευών, Βόλος, Ελλάδα.

   Pantousa, D., & Mistakidis, E. (2011, September - October). *Determination of the rotational capacity of compact steel beams at elevated temperatures considering local geometric imperfections*. Paper presented at 7th National Conference on Steel Structures, Volos, Greece.

8. **Παντούσα, Δ.**, & Μυστακίδης, Ε. (2011, Σεπτέμβριος-Οκτώβριος). *Προσομοίωση της συμπεριφοράς χαλύβδινων πλαισίων για το σενάριο της πυρκαγιάς μετά από σεισμικά γεγονότα*. Προφορική ανακοίνωση στο 7ο Συνέδριο Μεταλλικών Κατασκευών, Βόλος, Ελλάδα.

   Pantousa, D., & Mistakidis, E. (2011, September - October). *Fire-after-earthquake analysis of steel frames*. Paper presented at 7th National Conference on Steel Structures, Volos, Greece.

9. **Pantousa, D.**, & Mistakidis, E. (2011, August - September). *Non-linear analysis of steel frames considering fire-after earthquake scenarios*. Paper presented at the Eurosteel, Budapest, Hungary.

10. **Pantousa, D.**, & Mistakidis, E. (2011, June - July). *The effect of the geometric imperfections on the rotational capacity of steel beams at elevated temperatures*. Paper presented at the7th Gracm international congress on computational mechanics, Athens, Greece.

11. **Pantousa, D.**, Mistakidis, E., & Georgiadi-Stefanidi, K. (2006, September). *Modeling of the Pull-out of Hooked Steel Fibres in Fibre-Reinforced High-Strength Concrete*. Paper presented at the Computational Structures Technology Conference, Las Palmas de Gran Canaria, Canary Islands.

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων – βιβλία περιλήψεων Publications in conference proceedings – books of abstracts

1. **Pantousa, D.**, & Mistakidis, E. (2010). Thermo-mechanical analysis of composite slabs under fire conditions. In F.M. Mazzolani et al (Eds), *Cost Action C26 Final Conference “Urban Habitat Construction under Catastrophic Events”* (pp. 271-276). Naples, Italy: Department of Structural Engineering DIST, University of Naples Federico II in cooperation with COST (European Cooperation in Science and Technology), Domain TUD (Transport and Urban Development).

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Δάφνη Παντούσα** γεννήθηκε το Φεβρουάριο του 1981, στις Σέρρες, όπου και έλαβε τη σχολική της εκπαίδευση. Τον Οκτώβριο του 1998, εισήχθη στο Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, απ' όπου αποφοίτησε το Νοέμβριο του 2003.

Τον Οκτώβριο του 2004, έγινε δεκτή στο Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών του Τμήματος Πολιτικών Μηχανικών του Π.Θ., με τίτλο: «Εφαρμοσμένη Μηχανική και Προσομοίωση Συστημάτων», από το οποίο αποφοίτησε τον Ιούλιο του 2006. Στο πλαίσιο των μεταπτυχιακών σπουδών της, εκπόνησε εργασία με θέμα: «Προσομοίωση της δοκιμής εξόλκευσης ινών με αγκιστροειδές άκρο από μήτρα σκυροδέματος υψηλής αντοχής» (επιβλέπων: Ε. Μυστακίδης, Καθηγητής Π.Θ.).

Τον Ιούλιο του 2008, έγινε δεκτή η αίτησή της από τη Γενική Συνέλευση του Τμήματος για εκπόνηση διδακτορικής διατριβής με θέμα: «Συμπεριφορά κατασκευών σε κατάσταση πυρκαγιάς μετά από σεισμικά γεγονότα». Η αρχική ενασχόληση της υποψήφιας με το πολύπλευρο ερευνητικό αντικείμενο της διατριβής απαιτούσε την απόκτηση επιστημονικών γνώσεων πέραν αυτών που είχαν αποκτηθεί στους προηγούμενους κύκλους σπουδών και, γι' αυτό το λόγο, αποφάσισε, παράλληλα, να παρακολουθήσει το Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών του Τμήματος Μηχανολόγων Μηχανικών του Π.Θ., με τίτλο: «Σύγχρονες Μέθοδοι Σχεδιασμού και Ανάλυσης στη Βιομηχανία», με κατεύθυνση στον τομέα Μηχανικής, Υλικών και Διεργασιών. Η διδακτορική της διατριβή εντάχθηκε για χρηματοδότηση, μετά από ανταγωνιστική πρόταση που υπεβλήθη, στο πρόγραμμα διδακτορικών υποτροφιών "Ηράκλειτος ΙΙ".

Παράλληλα, κατά την 5ετή διάρκεια εκπόνησης της διδακτορικής της διατριβής, συμμετείχε στις Ευρωπαϊκές ερευνητικές δράσεις COSTC26 και COSTTU0904. Τέλος, κατά το ίδιο διάστημα, παρείχε επικουρική διδασκαλία στα μαθήματα «Στατική Ι» και «Στατική ΙΙ», στο Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών του Π.Θ.

Short CV

Daphne Pantousa was born in February 1981, in Serres, where she graduated from High School. In October 1998, she succeeded in the national exams and was accepted in the Civil Engineering Department of the University of Thessaly (UTH), from where she finally graduated in November 2003.

In October 2004, she started to attend the MSC postgraduate programme of the Civil Engineering Department (UTH), entitled "Applied Mechanics and Systems Modeling and Simulation". The subject of her Master thesis was about the modeling of the pull-out of hooked steel fibers in reinforced high strength concrete (Supervisor Prof. E. Mistakidis). She obtained the MSC Degree, in July 2006.

In July 2008, she started working on her PHD thesis, in the Department of Civil Engineering of the University of Thessaly, entitled "Behavior of Structures under Fire Conditions after Earthquake Events". Due to the complicated character of the dissertation, which involves both structural and fluid mechanics, she also started to attend the MSC postgraduate programme of the Mechanical Engineering Department (UTH), entitled as "State-of-the-Art Design and Analysis Methods in Industry" and specifically, the domain relevant to Mechanics, Materials and Manufacturing Processes. Her dissertation, which she successfully accomplished in December 2013, was financed by the Phd scholarship programme "Heraclitus II".

During the preparation of her thesis, she worked as assistant instructor in the courses Structural Mechanics I & II in the Department of Civil Engineering of UTH. At the same time, she participated in the European Research actions Cost - TU0904 and Cost - C26.

Ελένη Σταυροθεοδώρου

Προχωρημένο ελαστοπλαστικό προσομοίωμα για την ανάλυση της κατασκευής και φόρτισης μεγάλων φραγμάτων λιθορριπής

Περίληψη

Κατά την τελευταία δεκαετία, για την κάλυψη των συνεχώς αυξανόμενων αναγκών για νερό και παραγωγή καθαρής ηλεκτρικής ενέργειας, σχεδιάζονται και κατασκευάζονται υψηλά φράγματα τύπου CFRD (H ≥150 m), σε διάφορα μέρη του κόσμου, π.χ. το φράγμα Shuibuya (Κίνα), ύψους 233 m και το φράγμα Nuozadu (Κίνα), ύψους 261.5 m. Η εμπειρία από τη συμπεριφορά υψηλών CFRDs δείχνει ότι κατά τη διάρκεια της πλήρωσης της λεκάνης είναι δυνατόν να αναπτυχθούν ρηγματώσεις στην πλάκα σκυροδέματος λόγω εφελκυστικών τάσεων. Επίσης, η χρήση λιθορριπής κακής ποιότητας ή ανεπαρκούς συμπύκνωσης είναι δυνατόν να δημιουργήσει σημαντικές καθιζήσεις και να προκαλέσει μεγάλες θλιπτικές τάσεις και θραύση του σκυροδέματος στους κατακόρυφους αρμούς της κεντρικής περιοχής της ανάντη πλάκας. Οι διαρροές είναι δυνατόν να αυξήσουν τις καθιζήσεις με ξέπλυμα των λεπτόκοκκων και να οδηγήσουν σε μεγαλύτερες θλιπτικές τάσεις και τοπικές θραύσεις. Σε φράγματα που έχουν κατασκευασθεί σε σεισμογενείς περιοχές, πρόσθετες σεισμικές θλιπτικές τάσεις λόγω δυναμικής απόκρισης και δυναμικής συνίζησης είναι δυνατόν να αυξήσουν περαιτέρω τη θραύση κατά μήκος των κατακόρυφων αρμών της ανάντη πλάκας. Καθώς η εμπειρία από τη συμπεριφορά φραγμάτων με ύψος ≥200 m είναι πολύ μικρή, έχει αρκετό ενδιαφέρον η αριθμητική διερεύνηση της επίδρασης της δυσκαμψίας της λιθορριπής και του ύψους του φράγματος στη συμπεριφορά της ανάντη πλάκας σκυροδέματος και η σύγκριση με την πραγματική συμπεριφορά υπαρχόντων μεγάλων φραγμάτων.

Η διατριβή διερευνά με προχωρημένη αριθμητική ανάλυση, την επίδραση της κλίμακας μεγέθους και της δυσκαμψίας φραγμάτων λιθορριπής με ανάντη πλάκα σκυροδέματος (CFRDs), λαμβάνοντας υπόψη τη μη γραμμική συμπεριφορά των υλικών κατασκευής, ώστε να διασφαλισθεί η δομική ακεραιότητα της πλάκας έναντι θλιπτικής αστοχίας ή εφελκυστικών ρηγματώσεων. Δεδομένου ότι η εμπειρία της συμπεριφοράς πολύ υψηλών φραγμάτων λιθορριπής με ανάντη πλάκα σκυροδέματος είναι περιορισμένη, δημιουργείται ένα ρεαλιστικό προσομοίωμα το οποίο επιβεβαιώνεται με βάση την καταγεγραμμένη συμπεριφορά πραγματικών φραγμάτων για ύψη 100, 200 και 300 m. Έτσι εφαρμόζεται η χρήση του ελαστοπλαστικού καταστατικού μοντέλου του Lade στον τρισδιάστατο χώρο των κυρίων τάσεων, ως ένα υλικό που καθορίζεται από το χρήστη, βελτιωμένο με ένα απλό σχήμα βαθμίδας πλαστικότητας, σε ένα γενικευμένο πρόγραμμα πεπερασμένων στοιχείων, το ABAQUS. Η μέθοδος ολοκλήρωσης που χρησιμοποιείται στο μοντέλο Lade είναι το σχήμα Runge-Kutta-Dormand-Prince (RKDP), το οποίο υπερτερεί μακράν των υπολοίπων μεθόδων και σε ακρίβεια και σε υπολογιστικά κόστη. Το σκυρόδεμα της ανάντη πλάκας προσομοιώνεται με το ελαστοπλαστικό μοντέλο των Lee and Fenves για μονοτονική και ανακυκλική συμπεριφορά του σκυροδέματος, το οποίο λαμβάνει υπόψη τη σταδιακή συσσώρευση βλάβης και τα αποτελέσματα της χαλάρωσης, διακρίνοντας τη βλάβη λόγω εφελκυσμού και θλίψης. Περιλαμβάνει επιπλέον, ένα μηχανισμό που λαμβάνει υπόψη τα αποτελέσματα της βλάβης στην απομείωση της δυσκαμψίας, καθώς και στην ανάκαμψη της δυσκαμψίας μετά το κλείσιμο της ρωγμής. Η ανάντη κλίση του επιχώματος είναι 1.4:1, ενώ η κατάντη κλίση είναι 1.5:1. Οι κύριες ζώνες υλικών που χρησιμοποιούνται για την αριθμητική ανάλυση είναι η ανάντη ζώνη λιθορριπής 3B, η κατάντη ζώνη λιθορριπής 3C και η μεταβατική ζώνη χαλίκων 2B κάτω από την πλάκα σκυροδέματος. Η κλίση που διαχωρίζει τις λιθορριπές 3B και 3C είναι 1:2 και το εύρος της στέψης 10 m. Η ανάντη πλάκα αποτελείται από 14 ανεξάρτητα πάνελ σκυροδέματος για το φράγμα ύψους 100 m, 28 πάνελ για το φράγμα των 200 m και 40 πάνελ για το φράγμα των 300 m (Σχήμα 1). Κάθε πάνελ έχει κατάλληλες συνθήκες τριβής και δυνατότητα ανοίγματος ενός κενού στη βάση του που συνδέεται με τη στρώση χαλίκων και στις κατακόρυφες διεπιφάνειές του με τα γειτονικά πάνελ. Σε κάθε κατακόρυφο αρμό ανάμεσα στα γειτονικά πάνελ, υπάρχει ένα κενό εύρους 1 cm, το οποίο μπορεί να κλείσει κατά τη διάρκεια της πλήρωσης της λεκάνης εξαιτίας καθιζήσεων λιθορριπής. Η σημαντική αύξηση της πλαστιμότητας της ανάντη πλάκας επιτυγχάνεται με τη χρήση ινοπλισμένου σκυροδέματος σε συνδυασμό με κανονικό οπλισμό χάλυβα. Για τη βελτίωση του αντισεισμικού σχεδιασμού φραγμάτων λιθορριπής με ανάντη πλάκα σκυροδέματος, διερευνάται η επίδραση του ύψους του φράγματος και της δυσκαμψίας της λιθορριπής σε συνδυασμό με τη στενότητα της κοιλάδας, καθώς και η επίδραση του πάχους της πλάκας σκυροδέματος και της διαμέτρου του οπλισμού. Αυτό επιτυγχάνεται με τη χρήση αυτού του προχωρημένου αριθμητικού ελαστοπλαστικού

μοντέλου, προκειμένου να διερευνηθεί με έναν αυστηρό τρόπο η συμπεριφορά τριών υψηλών φραγμάτων λιθορριπής με ανάντη πλάκα σκυροδέματος, ύψους 100, 200 και 300 m σε στενές κοιλάδες τραπεζοειδούς διατομής με λόγο μήκους προς ύψος L/H = 2, που υπόκεινται σε πλήρωση της λεκάνης και σε μακροπρόθεσμο ερπυσμό και πιθανές δυναμικές συνιζήσεις. Κάθε ένα από τα τρία φράγματα αναλύεται χρησιμοποιώντας δύο διαφορετικής ποιότητας υλικά λιθορριπής: α) ένα υλικό τέλειας ποιότητας (λιθορριπή Oroville) και β) ένα υλικό μέτριας ποιότητας (λιθορριπή Pyramid). Η συμπεριφορά της λιθορριπής και της πλάκας σκυροδέματος σε όλες τις περιπτώσεις διερευνάται και αναλύεται βασιζόμενη σε αποτελέσματα αναλύσεων (Σχήματα 2,3,4). Τέλος, πραγματοποιείται μία λεπτομερής προσομοίωση ενός πραγματικού φράγματος και η σύγκριση της προβλεπόμενης και της πραγματικής συμπεριφοράς. Η μεθοδολογία λεπτομερούς προσομοίωσης της σταδιακής κατασκευής, πλήρωσης της λεκάνης και των μακροπρόθεσμων καθιζήσεων ερπυσμού και δυναμικής συνίζησης φραγμάτων λιθορριπής με ανάντη πλάκα σκυροδέματος, αποτελεί σημαντική βελτίωση της υπάρχουσας μεθοδολογίας ως προς τη μη-γραμμική, ανελαστική συμπεριφορά του υλικού της λιθορριπής, την ανελαστική συμπεριφορά του σκυροδέματος και την πραγματική 3Δ γεωμετρία της πλάκας. Παλαιότερες αναλύσεις με απλούστερα καταστατικά προσομοιώματα και ενιαία πλάκα σκυροδέματος αποκλίνουν σημαντικά από την πραγματική συμπεριφορά και δεν είναι κατάλληλα για ασφαλή σχεδιασμό.

Προσομοιώνοντας με αυτό τον τρόπο τη σταδιακή κατασκευή, την πλήρωση της λεκάνης και τις μακροπρόθεσμες καθιζήσεις ερπυσμού και δυναμικής συνίζησης, επιτυγχάνεται μία σημαντική εμβάθυνση της κατανόησης σχετικά με την επίδραση του ύψους των φραγμάτων και της δυσκαμψίας της λιθορριπής στην ανάπτυξη υψηλών θλιπτικών τάσεων, εφελκυστικών ρηγματώσεων και ανοίγματος των κατακόρυφων αρμών στα πάνελ της πλάκας σκυροδέματος. Οι αριθμητικές προβλέψεις συγκρίνονται με διαθέσιμες μετρήσεις πεδίου καθιζήσεων λιθορριπής και βυθίσεων πλάκας από παρόμοια φράγματα, αναπαριστώντας ένα ευρύ φάσμα από διάφορα ύψη και πυκνότητες λιθορριπής. Τέλος, παρατίθενται οδηγίες για το σχεδιασμό φραγμάτων CFRDs μεγάλου ύψους.

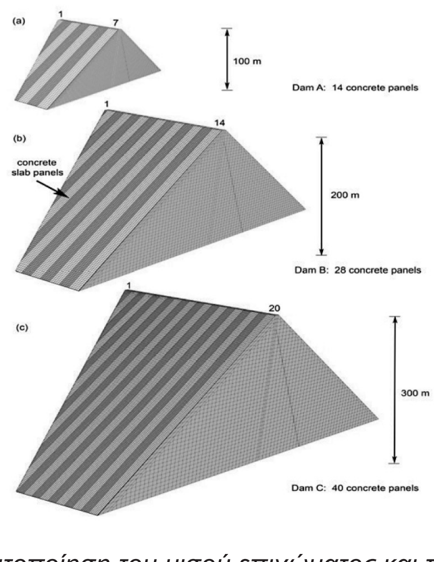
Λέξεις κλειδιά: Καταστατικό μοντέλο, λιθορριπή, φράγματα, βλάβη σκυροδέματος, αριθμητική ανάλυση, καθιζήσεις

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Παναγιώτης Ντακούλας, Καθηγητής Εδαφοδυναμικής, Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

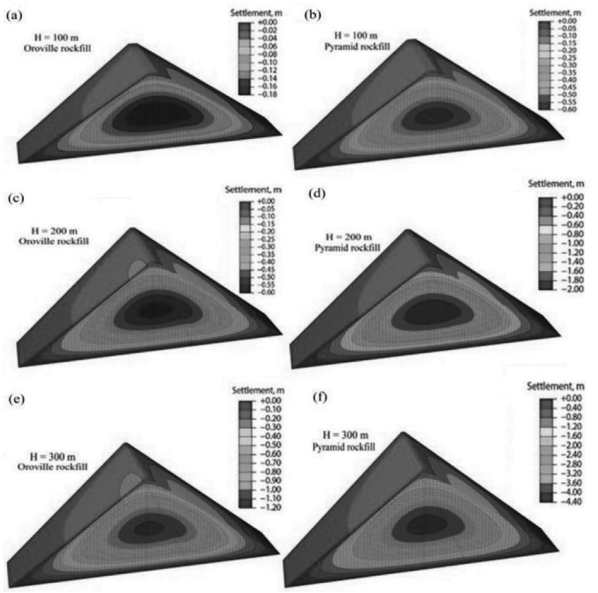
Αντώνιος Γιαννακόπουλος, Καθηγητής Τεχνικής Μηχανικής, Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Αχιλλέας Παπαδημητρίου, Επίκουρος Καθηγητής Γεωτεχνικής Μηχανικής, Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο



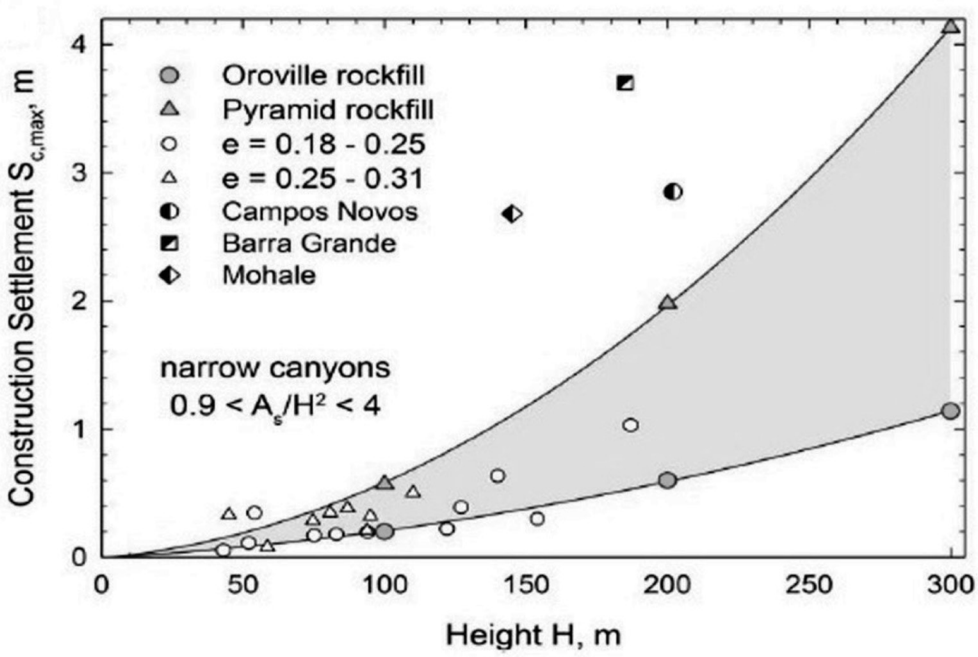
Σχήμα 1. *Αριθμητική διακριτοποίηση του μισού επιχώματος και της γεωμετρίας της πλάκας για (a) H=100m (b) H=200 m και (c) H=300 m.*

Figure 1. *Numerical discretization of half of the embankment and slab geometry for (a) H=100 m, (b) H = 200 m and (c) H = 300 m.*



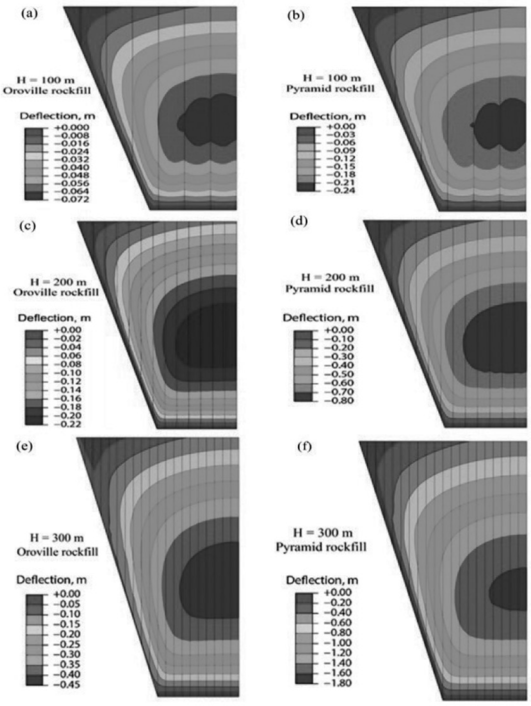
Σχήμα 2. *Κατανομή της καθίζησης κατασκευής στα έξι φράγματα για (a) H=100 m με λιθορριπή Oroville (b) H=100 m με λιθορριπή Pyramid (c) H=200 m με λιθορριπή Oroville (d) H=200 m με λιθορριπή Pyramid (e) H=300 m με λιθορριπή Oroville και (f) H=300 m με λιθορριπή Pyramid.*

Figure 2. *Distribution of construction settlement in the six dams constructed with (a) H=100 m Oroville rockfill (b) H=100 m Pyramid rockfill (c) H=200 m Oroville rockfill (d) H=200 m Pyramid rockfill (e) H=300 m Oroville rockfill (f) H=300 m Pyramid rockfill.*



Σχήμα 3*. Μετρημένες μέγιστες καθιζήσεις κατασκευής $S_{c,max}$ της λιθορριπής συμπιεσμένες σε διαφορετικές τιμές λόγου κενών e και προβλέψεις του μοντέλου σε σχέση με το ύψος των φραγμάτων για στενές κοιλάδες ($0.9<A_s/H^2<4$).*

Figure 3. *Measured maximum construction settlements $S_{c,max}$ of rockfill compacted at different values of void ratio e and model predictions versus dam height for narrow canyons ($0.9<A_s/H^2<4$).*



Σχήμα 4. *Κατανομή της βύθισης της πλάκας μετά την πλήρωση της λεκάνης για τα έξι φράγματα που κατασκευάστηκαν με (a) H=100 m με λιθορριπή Oroville (b) H=100 m με λιθορριπή Pyramid (c) H=200 m με λιθορριπή Oroville (d) H=200 m με λιθορριπή Pyramid (e) H=300 m με λιθορριπή Oroville και (f) H=300 m με λιθορριπή Pyramid.*

Figure 4. *Distribution of slab deflection after impoundment for the six dams constructed with (a) H=100 m Oroville rockfill (b) H=100 m Pyramid rockfill (c) H=200 m Oroville rockfill (d) H=200 m Pyramid rockfill (e) H=300 m Oroville rockfill (f) H=300 m Pyramid rockfill.*

Eleni Stavrotheodorou

Advanced elastoplastic simulation of staged construction and impoundment of tall concrete face rockfill dams

Abstract

Over the last decade, to respond to the increasing need for water and clean energy production, extra-high CFRDs, having a height (H ≥150 m), have been designed and built in various parts of the world. Such examples are the Shuibuya dam (China), having a height of 233 m and Nuozadu dam (China), having a height of 261.5 m. The experience of the behaviour of high CFRDs shows that during the impoundment, cracks may be developed in concrete slab because of tensile stresses. Also use of poor rockfill or inadequate compaction may create significant settlements and cause high compressive stresses and breakage of the concrete to the vertical joints of the central region of the upstream slab. Water leakages may increase settlements through washing out of the finer materials leading to higher compressive stresses and local spalling. Dams built in seismic regions, additional seismic compressive stresses due to the dynamic response and dynamic settlement may increase further spalling of the upstream slab along the vertical joints. Since there is very little experience regarding the performance of CFRDs with height ≥200 m, it is of interest to investigate numerically the effect of rockfill stiffness and dam height on the performance of upstream concrete slab and make comparisons with observed performance of existing high dams.

This thesis undertakes a numerical investigation of the effect of the size scale and rockfill stiffness on concrete face rockfill dams (CFRDs), considering the nonlinear behaviour of the construction materials, to ensure the structural integrity of the

slab against compressive failure or tensile cracks. As the experience of the behaviour of very high concrete face rockfill dams is limited, a realistic model which is verified by the recorded behaviour of real dams for heights 100, 200 and 300 m is created. Thus, the three-dimensional principal stress space formulation of Lade's model is implemented as a user-defined material in the general purpose finite element program ABAQUS. The integration method used in Lade's model is the Runge-Kutta-Dormand-Prince (RKDP) scheme, which far outperforms the other methods in accuracy and computational costs. The concrete of the upstream slab is simulated by the elastoplastic model of Lee and Fenves for monotonic and cyclic behaviour of concrete, which takes into account the gradual accumulation of damage and the effects of softening, distinguishing damage due to tension and compression. It further incorporates a mechanism that takes into account the effects of damage to the impairment of stiffness and the recovery of stiffness after crack closure. The upstream slope of the embankment is 1.4:1, whereas the downstream slope is 1.5:1. The main material zones considered for the numerical analysis are the upstream rockfill zone 3B, the downstream rockfill zone 3C and the transition gravel zone 2B beneath the slab. The upstream slab consists of 14 independent concrete panels for the 100m-high dam, 28 panels for the 200m-high dam and 40 panels for the 300m-high dam (Figure 1). Each panel has proper frictional conditions and gap opening capability at its base interface with the gravel layer and at its vertical interfaces with the neighbouring panels. At each vertical joint between adjacent panels, there is a 1cm-wide gap which may close during impoundment due to rockfill settlement. The significant increase in the ductility of the upstream slab is achieved by using fiber-reinforced concrete in combination with a normal steel reinforcement. To improve the seismic design of concrete face rockfill dams, the effect of dam height and rockfill stiffness is investigated, combined with canyon narrowness and the effect of concrete slab thickness and reinforcement diameter. It is achieved by using this advanced numerical elastoplastic model in order to investigate in a rigorous manner the behaviour of three large concrete face rockfill dams in narrow canyons of trapezoidal section, having a ratio length to height L / H = 2, subjected to impoundment, long-term creep and possible dynamic settlements. Each of the three dams is analyzed using two different qualities of rockfill: a) an excellent quality material (Oroville rockfill) and b) an average quality material (Pyramid rockfill). The performance of the embankment and the concrete face slab, in all cases, is investigated and discussed based on the results of the analyses (Figures 2, 3, 4). Finally, a detailed simulation of a real dam and comparison of forecast and actual behaviour are carried out. The detailed simulation methodology of concrete face rockfill dams' staged construction, impoundment and long-term creep and dynamic settlements is a significant improvement of existing methodology as to the nonlinear, inelastic rockfill material behaviour, inelastic concrete behaviour and the actual 3D geometry of the slab. Past analyses with simpler constitutive models and single concrete slab deviate significantly from the actual conduct and are not suitable for safe design.

By simulating thus the staged construction, impoundment, long-term creep and anticipated dynamic settlements, significant insight is gained regarding the effect of dam height and rockfill stiffness on the development of high compressive stresses, tensile cracking and opening of the vertical joints in the concrete slab panels. The numerical predictions are compared to available field measurements of rockfill settlements, slab deflections and slab performance from similar dams representing a wide range of heights and rockfill densities. Finally a set of design guidelines for tall CFRDs is citied.

Key words: Constitutive model, rockfill, dams, concrete damage, numerical analysis, settlements

Three - Member Supervisory Committee

Panagiotis Dakoulas, Professor, Expertise in Soil Dynamics, Department of Civil Engineering, University of Thessaly, Greece

Antonios Giannakopoulos, Professor, Expertise in Engineering Mechanics, Department of Civil Engineering, University of Thessaly, Greece

Achilleas Papadimitriou, Assistant Professor, Expertise in Geotechnical Engineering, Department of Civil Engineering, National Technical University of Athens, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the program "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Stavrotheodorou, E.,** & Dakoulas, P. (2015). Reanalysis of Mohale Concrete Face Rockfill Dam (2015). *Geotechnique, Thomas Telford, London*. (το άρθρο είναι σε προετοιμασία και υπάρχει στόχος να υποβληθεί μέχρι 30/10/2015)

2. Dakoulas, P., **Stavrotheodorou, E.**, & Giannakopoulos, A. (2015). Analysis of concrete face rockfill dams using Lade's model and gradient plasticity. *International Journal of Computers and Geotechnics, Elsevier*. (το άρθρο υποβλήθηκε και είναι υπό κρίση).

3. **Stavrotheodorou, E.**, & Dakoulas, P. (2015). Effect of height and rockfill stiffness on the performance of concrete face rockfill dams. *Canadian Geotechnical Journal*. (το άρθρο υποβλήθηκε και είναι υπό κρίση)

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια-ημερίδες Presentations in scientific conferences and meetings-workshops

1. Dakoulas, P., **Stavrotheodorou, E.**, & Giannakopoulos, A.E. (2015, September). *Numerical analysis of concrete faced rockfill dams using gradient plasticity.* Paper presented at 13th International Benchmark on the Numerical Analysis of Dams, Lausanne, Switzerland.
2. **Σταυροθεοδώρου, Ε.**, & Ντακούλας, Π. (2014, Νοέμβριος). *Συμπεριφορά μεγάλων φραγμάτων λιθορριπής με ανάντη πλάκα σκυροδέματος κατά την πλήρωση της λεκάνης*. Προφορική ανακοίνωση στο 7ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γεωτεχνικής Μηχανικής, Αθήνα.

   Stavrotheodorou, E., & Dakoulas, P. (2014, November). *Behavior of Tall Concrete Faced Rockfill Dams during Impoundment*. Paper presented at 7th National Geotechnical Engineering Conference, Athens, Greece.
3. **Σταυροθεοδώρου, Ε.**, & Ντακούλας, Π. (2013, Νοέμβριος). *Βελτίωση του αντισεισμικού σχεδιασμού μεγάλων φραγμάτων λιθορριπής με ανάντη πλάκα σκυροδέματος*. Προφορική ανακοίνωση στο 2ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φραγμάτων και Ταμιευτήρων, Αθήνα.

   Stavrotheodorou, E., & Dakoulas, P. (2013, November). *A seismic Design improvement of tall concrete-faced rockfill dams*. Paper presented at 2nd National Conference on Dams and Reservoirs, Athens, Greece.
4. **Stavrotheodorou, E.**, & Dakoulas, P. (2012, October). *Behaviour of very tall concrete faced rockfill dams during impoundment.* Paper presented at the Hydro 2012, Innovative Approaches to Global Challenges, Bilbao, Spain.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Ελένη Σταυροθεοδώρου** γεννήθηκε στη Λάρισα και σπούδασε πολιτικός μηχανικός στην Πολυτεχνική Σχολή του Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης. Μεταπτυχιακές σπουδές έκανε στο Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, με θέμα "Εφαρμοσμένη Μηχανική και Προσομοίωση Συστημάτων" και στο Τμήμα Μηχανικών Πολεοδομίας, Χωροταξίας και Περιφερειακής Ανάπτυξης της Πολυτεχνικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, με θέμα "Χωρική Ανάλυση και Διαχείριση Περιβάλλοντος". Σήμερα είναι Διδάκτωρ του Τμήματος Πολιτικών Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας με θέμα διατριβής "Προχωρημένο ελαστοπλαστικό προσομοίωμα για την ανάλυση της κατασκευής και φόρτισης μεγάλων φραγμάτων λιθορριπής", την οποία πραγματοποίησε με υποτροφία του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ».

Γνωρίζει την Αγγλική και Γαλλική γλώσσα, ενώ έχει βραβεία, δημοσιεύσεις και παρουσιάσεις άρθρων σε επιστημονικά Συνέδρια. Από το 2006, ασκεί το επάγγελμα της πολιτικού μηχανικού, με εμπειρία σε μελέτη, κατασκευή, επίβλεψη και διαχείριση δημόσιων και ιδιωτικών έργων. Έχει στο ενεργητικό της πολλές συμμετοχές σε επιτροπές, συμβούλια, σεμινάρια και συνεργασίες με μεγάλες Τεχνικές Εταιρείες και Φορείς του Δημόσιου Τομέα. Ανάμεσα στις συνεργασίες αυτές είναι η Τεχνική Υπηρεσία Δήμων και Κοινοτήτων Ν. Λάρισας, η Διεύθυνση Πολεοδομίας της Νομαρχιακής Αυτοδιοίκησης Λάρισας, το Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλίας (ως εργαστηριακή συνεργάτιδα στο Τμήμα Πολιτικών Έργων Υποδομής), η Περιφέρεια Θεσσαλίας (ως τεχνική σύμβουλος στην Ενδιάμεση Διαχειριστική Αρχή Περιφέρειας Θεσσαλίας). Από το 2009, εκλέγεται στο Τεχνικό Επιμελητήριο Ελλάδας, Περιφερειακό Τμήμα Κεντρικής και Δυτικής Θεσσαλίας και από το 2014, είναι μέλος της Διοικούσας Επιτροπής.

Short CV

Eleni Stavrotheodorou was born in Larissa and studied Civil Engineering at the Polytechnic School of the Democritus University of Thrace. She completed postgraduate studies in the Department of Civil Engineering, University of Thessaly, entitled “Applied Mechanics and Systems Simulation” and in the Department of Urban Planning and Regional Development, School of Engineering, University of Thessaly, entitled “Spatial Analysis and Environmental Management”. She holds a PhD at the Department of Civil Engineering, University of Thessaly, a thesis entitled “Advanced elastoplastic simulation of staged construction and impoundment of tall concrete face rockfill dams”, with a scholarship by the programme “Heraclitus II”.

She speaks English and French and has awards, articles, publications and presentations at scientific conferences. Since 2006, she has been working as a civil engineer, with experience in design, construction, supervision and management of public and private projects. She has many interests in committees, councils, seminars and partnerships with major Companies and Public Sector Bodies. Among the collaborations are the Technical Service of Municipalities and Communities of the Prefecture of Larissa, the Planning Directorate of the Prefecture of Larissa, the Technological Educational Institute of Thessaly (as laboratory associate at the Department of Infrastructure Engineering), the Region of Thessaly (as technical consultant at the Intermediate Managing Authority of Thessaly).Since 2009, she has been an elected member of the Technical Chamber of Greece, Branch of Central and Western Thessaly and since 2014, a member of the Steering Committee.

Αντώνιος Τριανταφύλλου

Φαινόμενα Κλίμακας σε Ημι-ψαθυρά Υλικά και Θεωρίες Βαθμοελαστικότητας με Εφαρμογή στο Σκυρόδεμα

Περίληψη

Με βάση τη βιβλιογραφία, η σχέση μεταξύ του εσωτερικού μήκους και της μικροδομής ενός υλικού περιορίζεται συνήθως στην ασαφή πρόταση ότι το εσωτερικό μήκος του υλικού είναι συνάρτηση της κυρίαρχης λεπτομέρειας της μικροδομής. Η συνεχώς αυξανόμενη βέβαια επίγνωση της χρησιμότητας των θεωριών βαθμοελαστικότητας και το σημαντικό θεωρητικό ερευνητικό έργο της τελευταίας δεκαετίας προσφέρουν τη δυνατότητα για μια περαιτέρω εμβάθυνση στη μελέτη για το εσωτερικό μήκος. Ο κύριος σκοπός της διδακτορικής διατριβής είναι η μελέτη της φυσικής συσχέτισης του εσωτερικού μήκους που υποθέτουν οι θεωρίες βαθμοελαστικότητας και της μικροδομής του υλικού. Για να πραγματοποιηθεί αυτό και για να ερευνηθούν τα φαινόμενα κλίμακας στην ελαστικότητα με βάση πειραματικές μετρήσεις δοκιμών κάμψης σε δοκίμια δοκών σκυροδέματος, οι δυο κλασικές ελαστικές σταθερές, δηλαδή το μέτρο ελαστικότητας και ο λόγος Poisson, απαιτείται να εκτιμηθούν από άλλες δοκιμές.

Στη μελέτη αυτή, εφαρμόστηκε μια διαδικασία ομοιογενοποίησης σε ανομοιογενή υλικά και αποδείχτηκε ότι το εσωτερικό μήκος πρέπει να αντιμετωπιστεί σαν ένα μέτρο ανομοιογένειας, η οποία δεν μπορεί να οριστεί μόνο με βάση την κυρίαρχη λεπτομέρεια της μικροδομής (μέγεθος αδρανών) αλλά πρέπει να συμπεριλάβει και τη σχετική δυσκαμψία μήτρας/εγκλεισμάτων. Αυτό επαληθεύτηκε πειραματικά, με βάση τα αποτελέσματα δοκιμίων σκυροδέματος διαφορετικών μειγμάτων με παρόμοιες λεπτομέρειες μικροδομής, αλλά διαφορετική σχετική δυσκαμψία μήτρας/αδρανών. Με βάση τις εκτιμήσεις του εσωτερικού μήκους του προτεινόμενου βαθμοελαστικού προσομοιώματος, φαίνεται ότι το εσωτερικό μήκος μειώνεται με τη μείωση της σχετικής δυσκαμψίας μήτρας/αδρανών του υλικού.

Η εφαρμογή του βαθμοελαστικού προσομοιώματος βλάβης που προτείνεται στη διατριβή για την περίπτωση δοκών σκυροδέματος σε κάμψη εξαρτάται από την ελαστική λύση του προβλήματος συνοριακών τιμών μιας βαθμοελαστικής δοκού Timoshenko. Το πρόβλημα έχει λύση κλειστής μορφής και παρουσιάζεται μια μεθοδολογία για την επίλυση σύνθετων στατικών προβλημάτων, όπως υπερστατικά συστήματα. Αυτό το προσομοίωμα οδηγεί στη βαθμοελαστική Bernoulli-Euler λύση και την κλασική λύση Timoshenko, εάν εφαρμοστούν κατάλληλα όρια και απλουστεύσεις. Η ελαστική λύση του προβλήματος συνοριακών τιμών χρησιμοποιήθηκε σε συνδυασμό με έναν υποθετικό νόμο τάσης-τροπής για ημι-ψαθυρά υλικά, με σκοπό την παραγωγή αριθμητικών προβλέψεων για την ανελαστική συμπεριφορά των δοκών. Το προσομοίωμα που προτείνεται αποδεικνύεται ότι παράγει αντικειμενικό χαρακτηρισμό της βλάβης, που είναι ανεξάρτητος του κανάβου που χρησιμοποιείται για την ανάλυση.

Στην εργασία αυτή, εξετάστηκε η ύπαρξη φαινομένων κλίμακας στην ελαστικότητα και ανελαστικότητα τσιμεντοειδών υλικών με βάση τις πειραματικές μετρήσεις βέλους κάμψης και αξονικών τροπών στο μέσον του ανοίγματος δοκιμίων δοκών άοπλου σκυροδέματος θλιπτικής αντοχής έως 40 MPa, που δοκιμάστηκαν σε κάμψη 4-σημείων με επιβολή του βέλους κάμψης στο μέσον του ανοίγματος. Τα γεωμετρικά όμοια δοκίμια δοκών είχαν λόγο ύψους προς μέγιστη διάσταση αδρανών έως περίπου 6.5. Επειδή η μικροδομή του σκυροδέματος είναι σύνθετη εξαιτίας της ύπαρξης αδρανών διαφορετικών διαστάσεων σε δεδομένα κατ’ όγκο ποσοστά (κοκκομετρική διαβάθμιση), το εσωτερικό μήκος για κάθε μείγμα σκυροδέματος συγκρίνεται με το μέσο μέγεθος αδρανών που περιγράφει την ανομοιογένειά του. Η μέση διάσταση των αδρανών των μειγμάτων σκυροδέματος που μελετήθηκαν, με μέγιστο μέγεθος αδρανών 32 mm, προσδιορίστηκε με βάση την οπτική απεικόνιση της μικροδομής του υλικού από τομές σε διάφορα δοκίμια και βρέθηκε ότι κυμαίνεται μεταξύ 10 και 20 mm. Επίσης, η τιμή του εσωτερικού μήκους για κάθε μείγμα εκτιμήθηκε με βάση τα πειραματικά αποτελέσματα του επιβαλλόμενου φορτίου, συναρτήσει είτε του βέλους κάμψης ή της καμπυλότητας των δοκών στο μέσον του ανοίγματος.

Μια περισσότερο δύσκαμπτη συμπεριφορά παρατηρήθηκε στην ελαστική περιοχή της απόκρισης σε σχέση με αυτή που προβλέπει η κλασική θεωρία ελαστικότητας. Το προτεινόμενο προσομοίωμα προβλέπει ένα εσωτερικό μήκος περίπου ίσο με 15 ± 5 mm για την περίπτωση μειγμάτων σκυροδέματος με υψηλή σχετική δυσκαμψία μήτρας/αδρανών, όπου η ρηγμάτωση συμβαίνει κατά κύριο λόγο στο υλικό της μήτρας (σκυρόδεμα χαμηλής αντοχής). Στην περίπτωση αυτή, που το σκυρόδεμα είναι αντιπροσωπευτικό ενός σύνθετου υλικού με εγκλείσματα (αδρανή) πολύ πιο δύσκαμπτα από το υλικό της μήτρας, εκτιμάται ότι το εσωτερικό μήκος είναι περίπου ίσο με τη μέση διάσταση των αδρανών. Είναι σημαντικό ότι η τιμή του εσωτερικού μήκους είναι παρόμοια, ανεξάρτητα εάν χρησιμοποιήθηκαν οι πειραματικές μετρήσεις του βέλους κάμψης ή της καμπυλότητας.

Οι εκτιμήσεις για την τιμή του εσωτερικού μήκους για τα δύο μείγματα σκυροδέματος με την υψηλότερη θλιπτική αντοχή είναι χαμηλότερες της τάξης των 12 ± 2 και 8 ± 4 mm, δηλαδή περίπου ίση με το ήμισυ της μέσης διάστασης των αδρανών. Η χαμηλότερη αυτή τιμή του εσωτερικού μήκους για το σκυρόδεμα με την υψηλότερη θλιπτική αντοχή μπορεί να αποδοθεί στη χαμηλότερη σχετική δυσκαμψία μήτρας/αδρανών της μικροδομής αυτών των μειγμάτων, όπου παρατηρήθηκε θραύση αδρανών κατά μήκος της ρωγμής. Επίσης, όπως αναμενόταν, το φαινόμενο κλίμακας στην ελαστικότητα είναι αμελητέο για την περίπτωση του τσιμεντοκονιάματος, με μέγιστη διάσταση αδρανών ίση με 1 mm, το οποίο μπορεί να θεωρηθεί σχεδόν ομοιογενές υλικό.

Επίσης, υποστηρίζεται ότι η μικρορηγμάτωση στα ημι-ψαθυρά υλικά, η οποία προκαλεί φθίνουσα φέρουσα ικανότητα στη συμπεριφορά του υλικού, πρέπει να επηρεάζει την αρχική τιμή του εσωτερικού μήκους, g_0, η οποία σχετίζεται με την αρχική ανομοιογένεια του υλικού. Εάν το εσωτερικό μήκος υποτεθεί ότι είναι συνάρτηση της υπάρχουσας βλάβης, θερμοδυναμική ανάλυση του προβλήματος απέδειξε ότι αυτό το μήκος πρέπει είτε να αυξάνει ή να παραμένει σταθερό με την αύξηση του επιπέδου της βλάβης. Μια πειραματική διερεύνηση της συγκεκριμένης μορφής του νόμου αυξητικής εξέλιξης του εσωτερικού μήκους επιβεβαίωσε αυτό το θεωρητικό αποτέλεσμα, καθώς αποδείχτηκε ότι ένα αυξανόμενο εσωτερικό μήκος συναρτήσει της βλάβης καταλήγει σε προβλέψεις που είναι σε καλύτερη συμφωνία με τα πειραματικά αποτελέσματα απ' ότι οι προβλέψεις της κλασικής ελαστικότητας. Τελικά, βρέθηκε ότι μια εκθετική σχέση μεταξύ του εσωτερικού μήκους και του βαθμού της βλάβης ικανοποιεί το κριτήριο αντικειμενικότητας ενός νόμου εξέλιξης, ανεξαρτήτως της κλίμακας για τα τσιμεντοειδή μείγματα που μελετήθηκαν στην εργασία αυτή και ο ρυθμός αύξησης του εσωτερικού μήκους με τη βλάβη αυξάνει με την αύξηση της ψαθυρότητας του υλικού.

Λέξεις κλειδιά: Κάμψη 4-σημείων, έμμεσος εφελκυσμός, μονοαξονική θλίψη, τσιμεντοκονίαμα, σκυρόδεμα, διπολική ελαστικότητα, εσωτερικό μήκος, ιδιότητες των υλικών, μικροδομή, ομοιότητα, φαινόμενα κλίμακας, βλάβη, θραύση, ομοιογενοποίηση, δοκός Timoshenko

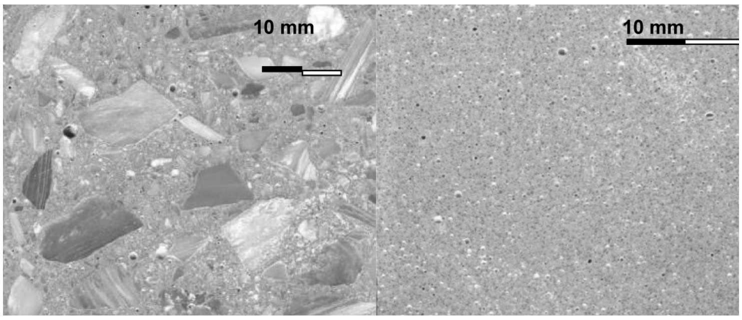
Πειραματικό πρόγραμμα:

(α) Δοκιμή κάμψης 4- σημείων και πειραματική διάταξη
(β) Σκυροδέτηση δοκιμίων
(γ) Δοκιμή μονοαξονικής θλίψης κυβικών δοκιμίων
(δ) Δοκιμή μονοαξονικής θλίψης κυλινδρικών δοκιμίων
(ε) Δοκιμή έμμεσου εφελκυσμού

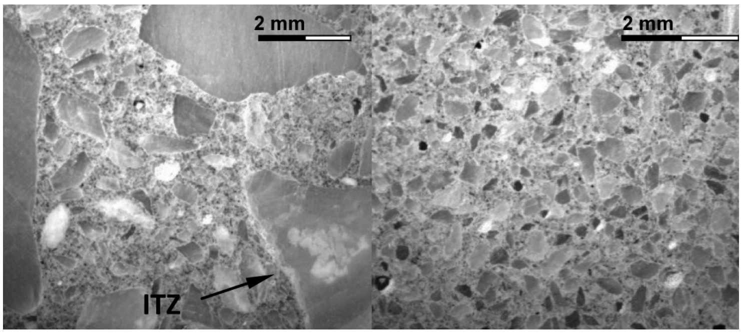
(α)

(β)

(γ) (δ) (ε)



(α) (β)



(γ) (δ)

Τσιμεντοειδή σύνθετα υλικά:

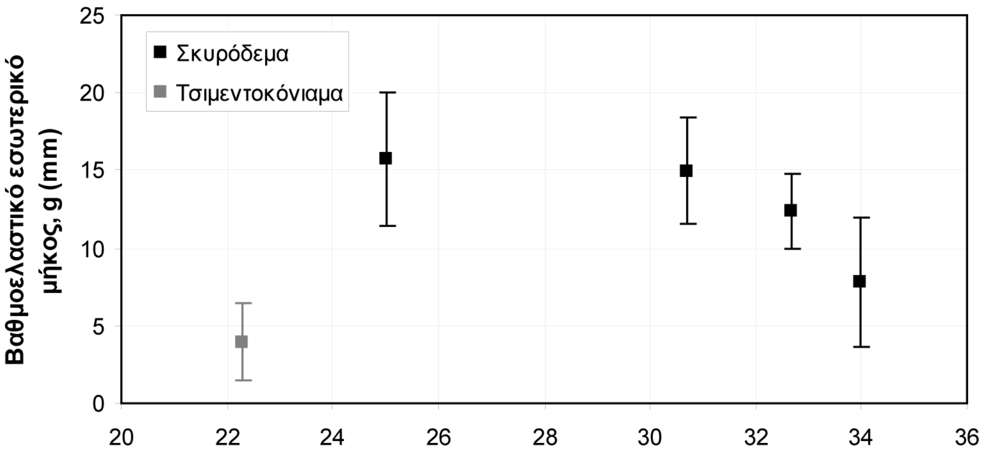
(α) σκυρόδεμα (ανομοιογενές υλικό) με μέγιστο μέγεθος αδρανών d_{max}=32 mm.

(β) τσιμεντοκονίαμα (ομοιογενές υλικό) με μέγιστο μέγεθος αδρανών d_{max}=1 mm

Λεπτομέρεια μικροδομής:

(γ) σκυρόδεμα: υλικό τριών φάσεων αποτελούμενο από ενυδατωμένη τσιμεντόπαστα, αδρανή και ζώνη ITZ

(δ) τσιμεντοκονίαμα: η σύνθετη φύση γίνεται αντιληπτή σε μεγαλύτερη μεγέθυνση



Βαθμοελαστικό εσωτερικό μήκος, g, με βάση την ελαστική απόκριση δοκών σε πειράματα κάμψης 4-σημείων.

Τριμελής Επιτροπή Διατριβής

Φίλιππος Κ. Περδικάρης, Καθηγητής, Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος *(επιβλέπων)*
Γνωστικό αντικείμενο: σχεδιασμός και συμπεριφορά κατασκευών οπλισμένου σκυροδέματος, συμπεριφορά άοπλου και ινοπλισμένου σκυροδέματος, φαινόμενα κλίμακας στο σκυρόδεμα, εφαρμογές θραυστομηχανικής στο σκυρόδεμα, πειραματικές μέθοδοι στη δομοστατική μηχανική

Αντώνιος Γιαννακόπουλος, Καθηγητής, Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος *(συνεπιβλέπων)*
Γνωστικό αντικείμενο: αντοχή των υλικών

Μαρίνα Μωρέττη, Επίκουρη Καθηγήτρια, Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος
Γνωστικό αντικείμενο: Αναλυτική και πειραματική διερεύνηση της συμπεριφοράς οπλισμένου σκυροδέματος υπό σεισμική ένταση. Προσομοίωση συμπεριφοράς μεμονωμένων φερόντων στοιχείων από οπλισμένο σκυρόδεμα. Αντισεισμική προστασία, επεμβάσεις, ανασχεδιασμός και μείωση σεισμικού κινδύνου

Antonios Triantafyllou

Size Effects in Semi-brittle Materials and Gradient Theories with Application to Concrete

Summary

Given the increasing awareness regarding the usefulness of gradient elasticity theories and the significant amount of theoretical work that has been produced in the last decade or so, it is rather surprising that the discussion concerning the relation between the internal length and the material's microstructure is more or less limited usually to the vague statement that the internal length parameter of the material is a function of the dominant feature of the material's microstructure. The main aim of this thesis was to investigate the physical correlation of this internal length assumed by dipolar elasticity to the material's microstructure. To the author's knowledge, the estimation of an evolving internal length parameter for cementitious materials based on experimental evidence has not been done in the past. For this to be attempted and in order to investigate a possible size effect in elasticity from flexure tests of concrete beams, the two classical material constants, the Young's modulus and Poisson's ratio should be determined independently.

A homogenization procedure applied to heterogeneous materials in this study showed that the internal length is best described as a measure of the heterogeneity which cannot be defined only in terms of the dominant feature of the microstructure (size of inclusions) but also of the matrix/inclusions elastic mismatch in the material. This was verified experimentally by testing concrete specimens of various mixes with similar microstructural details, but with different matrix/aggregate elastic mismatch. The internal length estimate based on the proposed model was found to decrease with decreasing level of elastic mismatch.

A gradient enhanced elasto-damage model applicable to the case of concrete beams under flexure, which relies heavily on the elasticity solution of the boundary value problem for the case of a dipolar elastic Timoshenko beam, is presented in this work. A closed-form solution of this problem and a methodology for solving more complex beam problems, such as indeterminate beam configurations, is described. This model reduces to the gradient Bernoulli-Euler solution and the classical Timoshenko solution if the necessary simplifications and limits are considered. The elasticity solution of the boundary value problem was used in conjunction with an assumed stress-strain law applicable to semi-brittle materials, in order to produce numerical predictions for the inelastic response of the beams tested. The model proposed is shown to lead to an objective (mesh-independent) damage characterization.

In this study, the presence of size effects in elasticity and inelasticity of cementitious materials was investigated based on midspan deflection and axial strain measurements of un-notched concrete beam specimens tested under true displacement-controlled 4-point bending for concrete with a compressive strength of up to 40 MPa. The geometrically similar un-notched beam specimens tested had a beam height to maximum aggregate size ratio of up to about 6.5. Since concrete possesses rather complex microstructural details due to the presence of different aggregate sizes with

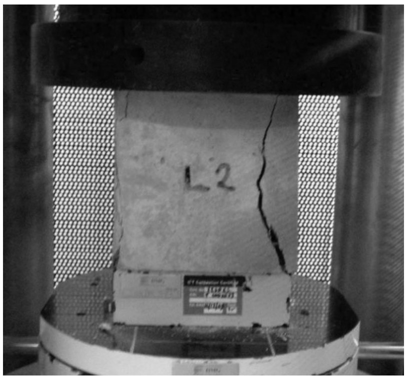
specific volume fractions (aggregate gradation), the internal length estimate for a given mix is compared with its average aggregate inclusion size, which describes its inherent heterogeneity. The average inclusion size for the concrete mixes considered in this study, with a maximum aggregate size of 32 mm, was obtained by mapping the actual microstructure on cross-sectional cuts of selected specimens, ranged between 10 and 20 mm. An estimate of the internal length for a given concrete mix was obtained based on the applied load vs. midspan deflection and curvature measurements in the beam tests. A stiffer response than that predicted by the classical elasticity theory is measured in the flexural elastic response range of the beams tested. The proposed model predicted an internal length estimate of about 15 ± 5 mm in the case of the concrete mixes with a significant elastic mismatch, for which cracking occurs predominantly in the matrix material (lower-strength concrete). It should be noted, that the same internal length estimate was obtained independently of the use of either the midspan deflection or the axial strain measurements. These concrete mixes are representative of a composite with inclusions much stiffer than the matrix material. It is important that the internal length parameter in this case appears to be practically equal to the average inclusion size of such a microstructure. On the other hand, lower internal length estimates of about 12 ± 2 and 8 ± 4 mm (about one-half the average inclusion size) were found for the two concrete mixes with a higher compressive strength. The lower internal length estimates for the higher-strength concrete is attributed to the lower elastic mismatch in their microstructure, due to which a significant number of aggregates were fractured along the crack path. As expected, the size effect in elasticity is found to be insignificant in the case of the cement mortar mix (max. aggregate size of 1 mm), which can be viewed as a completely homogeneous material.

Furthermore, it is argued that microcracking in semi-brittle materials, which is the source of material softening, should also affect the initial internal length parameter value, g_0, which is associated with the given heterogeneity of the material. If a microstructural internal length is related to the level of damage, a thermodynamic formulation of the

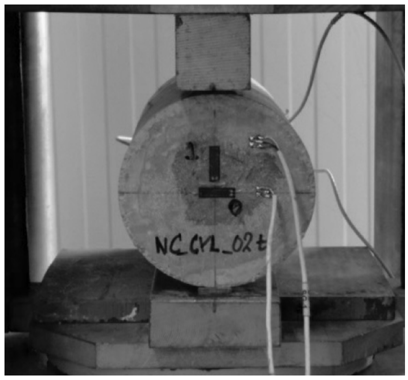
Experimental program:
(a) 4-point bending specimen and testing setup
(b) specimen casting
(c) uniaxial cube compression test
(d) uniaxial cylinder compression test
(e) split cylinder test

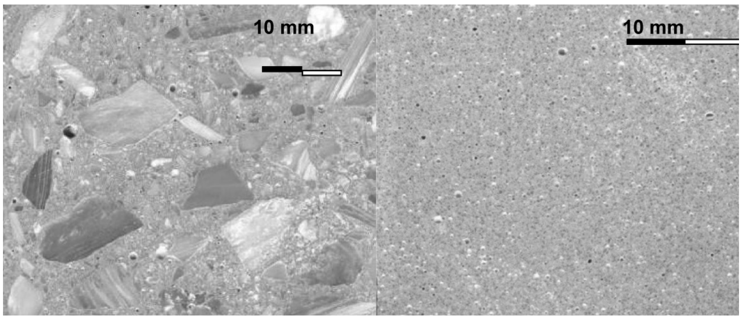
(a)

(b)


(c)


(d)


(e)

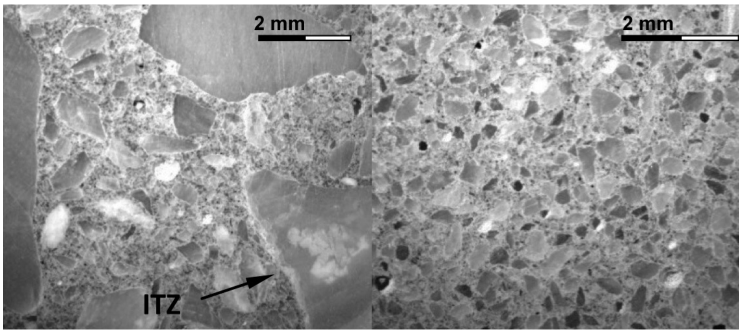


(a) (b)

Cementitious composites:

(a) Concrete (heterogeneous) with max. aggregate size d_{max}=32 mm.

(b) Cement mortar (homogeneous) with max. aggregate size d_{max}=1 mm

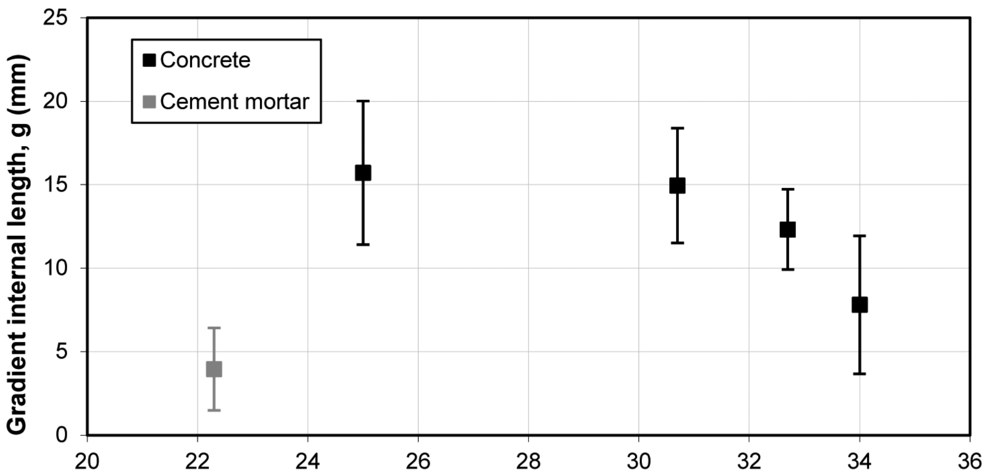


(c) (d)

Microstructure details:

(c) Concrete: presence of ITZ at the interface of hydrated cementpaste and aggregate

(d) Cement mortar: composite nature becomes visible at higher magnification



Gradient internal length, g, based on the elastic response of beams tested under 4-point bending.

problem showed that this length should be either increasing or remain constant with damage. An experimental investigation of the particular form of the gradient internal length evolution law verified this theoretical finding, since it was shown that an increasing gradient internal length with damage yields non-local predictions that are in better agreement with the experimental results than the local predictions. Finally, a non-linear (exponential) relationship between damage and the gradient internal length was found to satisfy the objectivity requirement of a size-independent internal length evolution law for the cementicious mixes considered in this study. Also, the rate of increase in the internal length value with damage appears to be increasing with increasing brittleness level of response.

Key words: 4-point bending, splitting tension, uniaxial compression, cement mortar, concrete, dipolar elasticity, internal length, material properties, microstructure, similarity, size effects, damage, fracture, homogenization, Timoshenko beam

Three - Member Supervisory Committee

Philip C. Perdikaris, Professor, Department of Civil Engineering, University of Thessaly, Volos, Greece *(supervisor)*
Research interests: design and behaviour of reinforced concrete structures; behaviour of plain and fiber-reinforced concrete; scale effects in concrete; fracture mechanics applications in concrete; experimental methods in structural engineering

Antonios E. Giannakopoulos, Professor, Department of Civil Engineering, University of Thessaly, Volos, Greece *(co-supervisor)*
Research interests: strength of materials

3. Marina Moretti, Assistant Professor, Department of Civil Engineering, University of Thessaly, Volos, Greece
Research interests: analytical and experimental investigation of reinforced concrete behaviour under seismic loading; modelling of individual reinforced concrete structural elements; earthquake protection, retrofitting and minimizing seismic risk

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος II» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Triantafyllou, A.**, Perdikaris, P.C., Giannakopoulos, A.E., Papatheocharis T. (2015). A study on the size effect in cementitious materials. Part II: Inelasticity, *ACI Materials Journal* (under review).
2. **Triantafyllou, A.**, Perdikaris, P. C., Giannakopoulos, A.E. (2015). Gradient Elastodamage Model for Quasi-Brittle Materials with an Evolving Internal Length, ASCE, *Journal of Engineering Mechanics*, *141*(4), 39-52
3. **Triantafyllou, A.**, Giannakopoulos, A. E. (2013). Derivation of strain gradient length via homogenization of heterogeneous elastic materials. *Mechanics of Materials*, 56, 23-37.
4. Triantafyllou, A., Giannakopoulos, A. E. (2013). Structural analysis using a dipolar elastic Timoshenko beam. *European Journal of Mechanics, A: Solids*, 39, 218-228.
5. **Triantafyllou, A.**, Perdikaris, P. C., Giannakopoulos, A.E., Papatheocharis T. (2015). A study on the size effect in cementitious materials. Part I: Elasticity. *ACI Materials Journal* (*under review*).

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες Presentations in scientific conferences and meetings-workshops

1. **Triantafyllou, A.**, Giannakopoulos, A. E., Papatheocharis, T., Perdikaris, P. C. (2012, April – May). *Elasto-plastic and elasto-damage models based on strain gradient elasticity with evolving internal length*. Paper presented at the International Conference on Computational and Experimental Engineering and Sciences (ICCES), Crete, Greece.
2. **Triantafyllou, A.**, Giannakopoulos, A.E. (2011, September). *Derivation of strain gradient length via homogenization of heterogeneous materials*. Paper presented at International Conference on Computational and Experimental Engineering and Sciences (ICCES), Special Symposium on Meshless and Other Novel Computational Methods (MM), Zonguldak, Turkey.

Σύντομο βιογραφικό

Ο **Αντώνιος Τριανταφύλλου** αποφοίτησε από το Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, με βαθμό 8/10, το 2006. Ολοκλήρωσε τις μεταπτυχιακές σπουδές του στην Προχωρημένη Δομοστατική Μηχανική, στο Imperial College του Λονδίνου, απ' όπου και αποφοίτησε το 2007, με άριστα. Στη συνέχεια, εργάστηκε στην ABS Consulting Ltd. στο Μάντσεστερ για δύο έτη (2007-2009) ως δομοστατικός μηχανικός.

Ολοκλήρωσε τις στρατιωτικές του υποχρεώσεις το 2010 και στο διάστημα 2011-2015, εκπόνησε τη διδακτορική του διατριβή στο Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, η οποία χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα διδακτορικών υποτροφιών ''Ηράκλειτος ΙΙ'', ενώ παράλληλα εργάστηκε ως εξωτερικός συνεργάτης σε κατασκευαστική εταιρεία της Αθήνας. Στα ερευνητικά του ενδιαφέροντα περιλαμβάνονται ο χαρακτηρισμός των υλικών, η πειραματική μηχανική, η μηχανική βλαβών και οι θεωρίες βαθμοελαστικότητας.

Short CV

Antonios Triantafyllou received his Diploma Degree in Civil Engineering from the University of Thessaly, with grade 8/10, in 2006. He received his M.S. Degree in Advanced Structural Engineering from Imperial College, London, UK, with distinction, in 2007. He worked as structural engineer with ABS Consulting Ltd., Manchester, UK, for two years (2007-2009).

He completed his military service in 2010 and worked as a freelance structural engineer in Athens, Greece (2011-2012). He received his Ph.D. Degree from the Civil Engineering Department, University of Thessaly, Volos, Greece, in 2015, funded by “Heraclitus II” scholarship programme. His research interests include material characterization, experimental mechanics, damage mechanics and gradient theories.

Τμήμα Αρχιτεκτόνων Μηχανικών
Department of Architecture Engineering

Γαρυφαλλιά Κατσαβουνίδου

Το παιδί, η πόλη, το παιχνίδι: Μια πολυφωνική βιογραφία

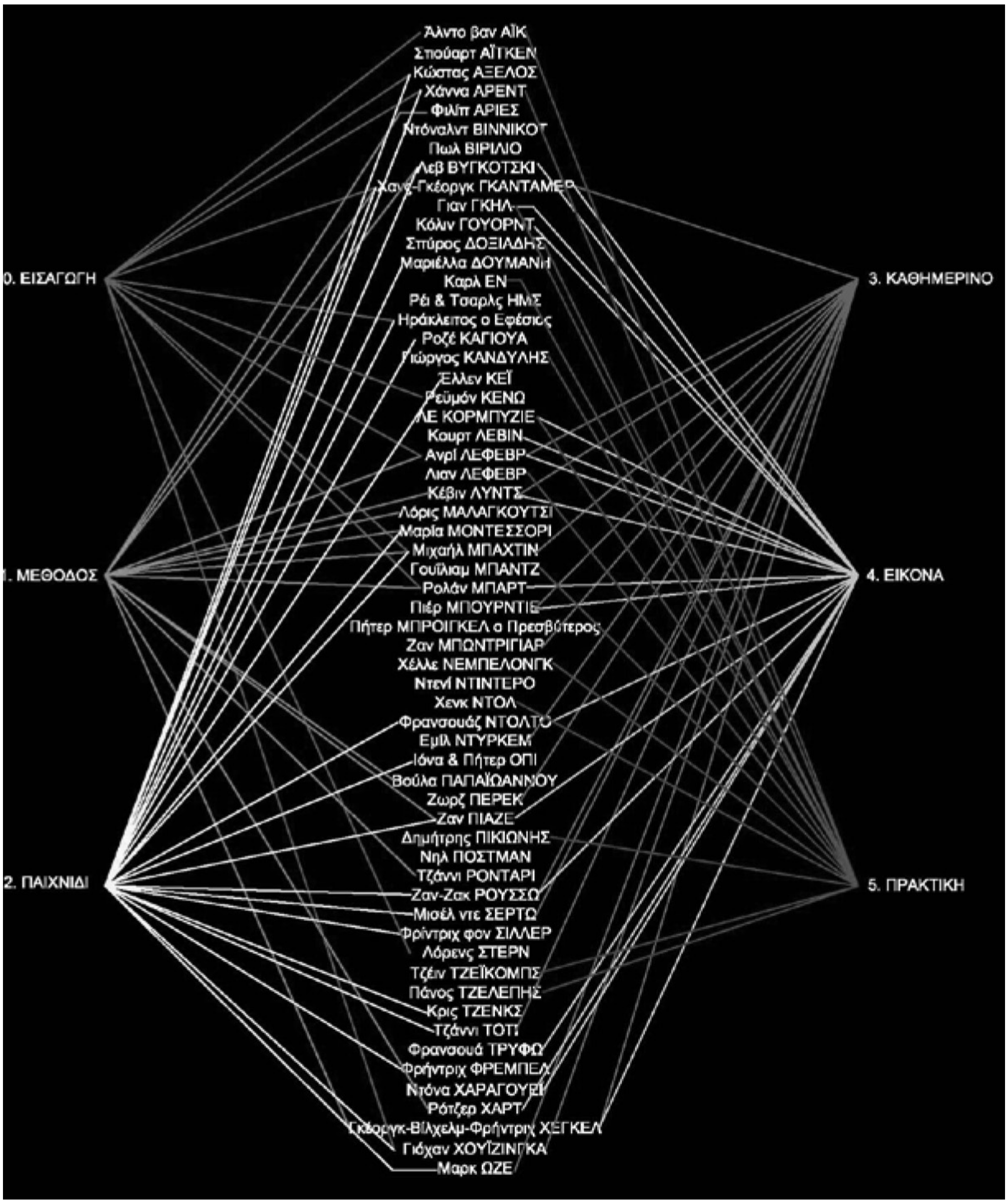
Περίληψη

Σημείο εκκίνησης της διατριβής ήταν το ερώτημα της σχέσης *παιδιού – πόλης*, την οποία θα μπορούσαμε να ορίσουμε ως αμφίδρομη: πώς τα παιδιά βιώνουν τον δημόσιο αστικό χώρο και πώς η αρχιτεκτονική στην αστική κλίμακα απαντά στις ανάγκες των παιδιών που μεγαλώνουν στη σύγχρονη πόλη. Διαπιστώνοντας τη μεθοδολογική κλειστότητα του σχήματος αυτής της σχέσης, η διατριβή επιχειρεί να επανατοποθετήσει τα παραπάνω ερωτήματα μέσω της εισαγωγής μιας τρίτης έννοιας – *του παιχνιδιού*. Το παιχνίδι, ως πρωταρχική έννοια της ζωής και ως καθοριστική δραστηριότητα των παιδιών, έρχεται να διαφωτίσει την προβληματική σήμερα σχέση μεταξύ των όρων «παιδί» και «πόλη». Η διατριβή δημιουργεί γι' αυτόν το λόγο, ένα νέο, τριπλό «ερευνητικό υποκείμενο», που εκφράζει την ολότητα «παιδί, παιχνίδι, πόλη» και το οποίο ονομάζει Spielraum. Η συγγραφή της «βιογραφίας» του *Spielraum* σκοπό έχει να αποτελέσει επιστημολογικό παράδειγμα μιας πολυφωνικής σύνθεσης με τρεις «φωνές» – το παιδί, η πόλη, το παιχνίδι. Ταυτόχρονα, είναι μια «πολυφωνική» βιογραφία, με την έννοια ότι στην αφήγησή της αποκαλύπτεται πως δεν είναι τίποτα άλλο από ένα πλέγμα άλλων βιογραφιών: εκείνων των «χαρακτήρων» (συγγραφέων, δημιουργών) στις οποίες η διατριβή βασίζεται βιβλιογραφικά. Τέλος, βασίζεται σε ένα πολυποίκιλο φωτογραφικό υλικό και τα κείμενα ογδόντα παιδιών που συμμετείχαν στην έρευνα πεδίου, οι «φωνές» των οποίων υπεισέρχονται σε καίρια σημεία της αφήγησης και την επεξηγούν παραδειγματικά.

Στην Εισαγωγή, η εργασία αναπτύσσει τα βασικά θέματα της έρευνας: τη «γενεαλογία» του Spielraum, την ανάλυση των όρων που το απαρτίζουν, δηλαδή το παιδί, το παιχνίδι, η πόλη, καθώς και τις έννοιες της πολυφωνίας και της βιογραφίας που αποτελούν τα συστατικά της ερευνητικής και συγγραφικής μεθοδολογίας. Στη συνέχεια, ο αναγνώστης θα συναντήσει το διακριτό μέρος που ονομάζεται «Χαρακτήρες», ένα ευρετήριο όπου δίνονται τα «βιογραφήματα», δηλαδή τα σύντομα βιογραφικά σημειώματα, κατά τον όρο που εισάγει ο Roland Barthes, των προσώπων που έχουν επηρεάσει το Spielraum. Ακολουθούν πέντε δοκίμια που διαβάζονται ανεξάρτητα μεταξύ τους και είναι σε μεγάλο βαθμό αυτοτελή. Το πρώτο («Ζητήματα μεθόδου») αφορά τα μεθοδολογικά ζητήματα της «έρευνας με τα παιδιά» και επιχειρεί μια κριτική επισκόπηση των προσεγγίσεων που συναντάμε στη βιβλιογραφία. Καθώς η έρευνα πεδίου που πραγματοποιήθηκε ήταν φωτογραφική, εστιάζεται στη λειτουργία της φωτογραφίας ως εικόνας: το υλικό ανά χείρας εξετάζεται ως φωτογραφία/τεκμήριο, σε μια παράλληλη ανάγνωση με το κείμενο *Ο φωτεινός θάλαμος* του Barthes. Το δεύτερο δοκίμιο («Το παιδί, το παιχνίδι και ο κόσμος») εξετάζει το παιχνίδι ως έννοια, τη φύση και τη λειτουργία του μέσα στους λόγους για την παιδική ηλικία και στη συνέχεια, έξω από τους λόγους αυτούς, στη φιλοσοφική σκέψη και στην πολιτιστική θεωρία. Κύριες επιρροές εδώ είναι ο Jean Piaget, ο Johan Huizinga και ο Hans-Georg Gadamer. Το τρίτο δοκίμιο («Το 'καθημερινό' και η τελετή») εξετάζει το παιχνίδι ως *χωρική πρακτική* που συνενώνει τα δύο φαινομενικά άκρα, τις έννοιες του «καθημερινού» και της τελετής. Τις πρακτικές των παιδιών στην πόλη όπως αποτυπώνονται στην έρευνα πεδίου τις αναλύει βάσει της φιλοσοφίας του Henri Lefebvre για την καθημερινή ζωή και της έννοιας της «επινόησης» του καθημερινού που προτείνει ο Michel de Certeau. Το τέταρτο δοκίμιο («Το παιδί και η πόλη») μετατοπίζει το κέντρο βάρους στην ίδια την πόλη, το πώς παράγεται και πώς γίνεται νοητή από τους «χρήστες» της. Παρουσιάζει την επιστημολογική γένεση της έννοιας της «εικόνας της πόλης» και το πώς αυτή έχει χρησιμοποιηθεί κατεξοχήν στη γεωγραφία των παιδιών. Πέρα όμως από την εν τέλει τετριμμένη της εφαρμογή στην περιβαλλοντική ψυχολογία, αυτό που έχει μεγαλύτερο ενδιαφέρον είναι η αντιπαράθεση της «εικόνας της πόλης» που διαμορφώνει το παιδί στην καθαυτό θέση των παιδιών μέσα στην πόλη και πώς αυτή, τελικά, καθορίζεται σε σημαντικό βαθμό από τις προθέσεις και τις προτεραιότητες της πολεοδομικής πολιτικής. Εδώ, κύριες μορφές επιρροής είναι ο Kevin Lynch και ο William Bunge. Το πέμπτο και τελευταίο δοκίμιο («Το 'πεδίο παιδιάς' και η σχεδιαστική πρακτική») αφορά την πρακτική: παρουσιάζει σχέδια και πραγματοποιήσεις που αφορούν το παιδί στην πόλη από τις αρχές του Μοντερνισμού μέχρι σήμερα, συνδέοντάς τες με τη γενικότερη φιλοσοφία των δημιουργών τους για το ρόλο του αρχιτέκτονα· ανάμεσά τους, ξεχωρίζει το έργο του Aldovan Eyck, των Eames, της ομάδας

COBRA. Στο Συμπέρασμα, τέλος, επιχειρείται ένας απολογισμός της εργασίας, μια συμπύκνωση των επιχειρημάτων που αναπτύχθηκαν στα δοκίμια, ενώ προτείνονται επίσης τρόποι σύνδεσης των θεωρητικών ιδεών με την πρακτική, υπό μορφή προγραμματικών προτάσεων. Στο Επίμετρο, περιγράφεται η έρευνα πεδίου και παρουσιάζονται εξήντα φωτογραφίες από το πεδίο, επιλεγμένες από το σύνολο των χιλίων διακοσίων περίπου, που συγκροτούν το φωτογραφικό αρχείο, το εμπειρικό υλικό˙ κάθε εικόνα επεξηγείται από τη «φωνή» του παιδιού – δηλαδή, το τι έχει να πει το ίδιο για τη φωτογραφία του/της.

Τρία μοτίβα, τρία θέματα διαπερνούν τη βιογραφία του Spielraum. Το πρώτο είναι ότι τα παιδιά ανήκουν στην ομάδα των «χρηστών» που βρίσκονται στο περιθώριο του σχεδιασμού. Θεωρούμενα «ειδική» κατηγορία, ό, τι αναφέρεται σ’ αυτά βρίσκεται αυτομάτως εκτός γενικού πλαισίου: μοιάζει αδύνατο να ενταχθούν σε οποιαδήποτε σχεδιαστική φιλοσοφία, όπως και αυτή η συζήτηση για την «παιδικότητα» και την παιδική ηλικία έχει απομονωθεί από τις κοινωνικές και πολιτικές συνθήκες που την πλαισιώνουν και την καθορίζουν. Το δεύτερο είναι ότι η αρχιτεκτονική και ο λόγος για την πόλη, ειδικά στην Ελλάδα, έχει ελάχιστη ουσιαστική ανάμειξη στην επίσημη παιδεία ή στην κοινωνική αγωγή του παιδιού. Η απουσία αυτή σημαίνει ότι οι μελλοντικοί πολίτες δε «διδάσκονται» – ούτε από την ίδια την πόλη, ούτε και μέσω της χωρίς προσανατολισμό ελληνικής σχολικής εκπαίδευσης – τη σημασία που έχει ο ελεύθερος αστικός χώρος ως πλαίσιο κοινής συμβίωσης, υποβιβάζοντας έτσι την αυριανή κοινωνία των πολιτών που διαμορφώνεται κατ’ ουσίαν σήμερα. Και το τρίτο θέμα είναι ότι, για δεκαετίεσστη χώρα μας, ο λόγος περί «παιδοκεντρι-



σμού» είναι μια ιδεολογία και μόνο, αφού στην πράξη η παραγωγή του χώρου διέπεται από προτεραιότητες που έχουν εξοστρακίσει το παιδί από το δημόσιο χώρο της πόλης. Τα παιδιά, «σαν καναρίνια σε ορυχείο», όπως γράφει ο Bunge, δείχνουν την πραγματική κατάσταση των πόλεων στην Ελλάδα: ενός αστικού χώρου και μιας κοινωνίας που αυτοκαταστρέφεται από την έλλειψη σωστού σχεδιασμού και προγραμματισμού για το μέλλον. Πρόκειται για μια κρίση από την οποία δεν προσφέρει διέξοδο καμία συζήτηση περί μορφολογίας, αισθητικής ή συμβολισμού. Ίσως είναι ο καιρός για την εγχώρια αρχιτεκτονική και το δημόσιο λόγο να στραφούν σε διαφορετικά αιτήματα για την ελληνική πόλη: ένα καλύτερο καθημερινό χώρο, ένα περιβάλλον ζωής που να σέβεται τους ανθρώπους και τις ανάγκες τους και να εξασφαλίζει συνθήκες για τις συλλογικές δραστηριότητες μικρών και μεγάλων, το κοινό έδαφος για το μοίρασμα και τη συλλογική ευημερία.

Λέξεις κλειδιά: παιδιά, παιχνίδι, αστικός σχεδιασμός, χωρική πρακτική, φωτογραφία

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Ζήσης Κοτιώνης, Καθηγητής, Εισαγωγή στην αρχιτεκτονική σύνθεση, Τμήμα Αρχιτεκτόνων Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Νικόλαος Μπελαβίλας, Επίκουρος Καθηγητής, Αστικός σχεδιασμός, Σχολή Αρχιτεκτόνων Μηχανικών, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο

Καφένια Μπότσογλου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Προσχολική Εκπαίδευση - Διδακτική Μεθοδολογία, Τμήμα Ειδικής Αγωγής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Garyfallia Katsavounidou

Child, city, play: A polyphonic biography

Summary

The starting point of the dissertation was the question of the relationship between the *child* and the *city*, which could be defined as a two-way relationship: how children experience public urban space on one hand and how architecture in the urban scale responds to the needs of children growing up in today's cities on the other. Further bibliographical research however, indicated what one would call a "methodological self-referencing" in the various studies of this currently problematic relationship; thus, an attempt was made to reframe the above questions by introducing a third concept – that of *play*. Viewed both as a primary consistent of human life and as a main activity of children, play is introduced in order to open up and shed a discerning light to the child-city relationship. For this reason, the dissertation is based on the definition of a new, triple research "subject" of its own: this subject is named "*Spielraum*" and stands for the entity "child, play, city", thus creating it. Writing Spielraum's biography is the dissertation's contribution to setting an epistemological paradigm of a polyphonic composition for (of) three voices – child, city and play. At the same time, Spielraum's biography is "polyphonic" in the sense that, as it is disclosed through its narration, it is nothing more than a network of other biographies – those of the "Characters" (authors, creators) upon which the dissertation is based bibliographically. Finally, it is based on a corpus of photographs and their accompanying texts, the work of eighty children who participated in the field research, whose "voices" enter in essential points of the narration and explain it in an exemplary way.

In the Introduction of the dissertation, the definitions of the main research themes are given: the "genealogy" of Spielraum, its constituents (child, city, play), as well as the concepts of *polyphony* and *biography* which are hereby used as the methodological tools of research and writing. Following that, the dissertation contains a detachable part entitled "Characters", which is an index of short bios, "biographèmes" in Roland Barthes's term, of the personalities that have affected Spielraum. The main dissertation develops in five essays which can be read independently to each other and are to a great extent autonomous. The first essay ("Questions of method") deals with the methodological issues of "research with children" and attempts a critical overview of bibliography. Since the method of field research used was photographic, it then focuses on the function of photography as image: the photographic corpus is examined as material "at hand", reading the pictures as "photographs/ documents" in parallel to the text *Camera Lucida* by Barthes. The second essay ("The child, play, and the world") examines the concept of play, its nature and function in the discourses of childhood and, more broadly, outside these discourses, in philosophical thought and cultural theory. Here, the main influences are Jean Piaget, Johan Huizinga and Hans-Georg Gadamer. The third essay ("The 'everyday' and the ritual") examines play as a spatial practice which

connects the two seemingly opposite concepts – the "everyday" and the "ritual". It thus analyzes the spatial practices of children in the city, as documented in the field research, based on the philosophy of Henri Lefebvre on everyday life and on the "invention of everydayness" proposed by Michel de Certeau. The fourth essay ("The child and the city") shifts focus on the city itself, on how it is produced and on how it is conceived by its "users". It critically presents the epistemological history of the term "image of the city" and how this concept has been used in children's geographies. Apart from the trivial use of the term in the field of environmental psychology, what presents the greatest interest is the juxtaposition of children's "image of the city" with the child's actual position in the city and in urban discourse, a position that is to a great degree defined, after all, by the intentions and priorities of urban politics. Here, main influences are Kevin Lynch and William Bunge. The fifth and last essay ("The Spielraum and design practice") presents plans and realizations for the child in the city, from early Modernism until today, connecting them to the general stand of their creators on the role of the architect; amongst them, stand out the works of Aldovan Eyck, the Eames and the COBRA group. The essays are followed by the Conclusion, where one can find a condensation of the arguments developed in the essays as well as some propositions on how the theoretical ideas could be connected to practice. Finally, the Appendix presents the field research and in particular, sixty of the field photographs (from a total of almost one thousand and two hundred), which constitute the dissertation's photographic archive, its corpus: each picture is notated by the child's "voice", what she/he has to say about her/his photograph.

Three main themes are the core of Spielraum's biography. The first one is that children, being considered a "special" category of people, constitute a users' group on the periphery of planning. Equally, design "for" children sets itself automatically outside the mainstream discourse, in the same way that childhood itself has been separated from the social and political contexts that define it. The second theme is that architecture and city planning, in Greece in particular, has very little connection with the formal – and social – education of children. This absence means that future citizens are not being "taught" – neither experientially by the city itself nor via the troubled Greek education system – the importance of open urban space as the context of common life and thus, remain ignorant and indifferent as adults. Finally, the third theme is the failure of the so-called "pedocentric" culture to escape mere ideology and find a practical implementation in Greek urban society. For many decades now, the production of Greek urban space is ruled by priorities that, in reality, have rendered children "invisible" in towns and cities. Field research shows that children, "like canaries in a coalmine", as Bunge writes, reveal the real condition of Greek cities: that of an urban space and a society which is self-destroyed by the lack of proper design and planning for the future. Hopefully, this time of crisis will signify for local architecture and public discourse a turning point away from discussion about morphology, aesthetics or historical symbolism to different issues of the Greek city: its everyday space, a living environment in which people and their needs are respected and its function as a framework for both adults' and children's collective activities, a common ground of shared experience.

Key words: children, play, urban design, spatial practice, photography

Three - Member Supervisory Committee

Zissis Kotionis, Professor, Introduction to architectural design, Department of Architecture, University of Thessaly, Greece

Nikolaos Belavilas, Assistant Professor, Urban Design, School of Architecture, National Technical University (NTUA), Greece

Kafenia Botsoglou, Associate Professor, Preschool Education – Teaching Methodology, Department of Special Education, University of Thessaly, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά / Articles in journals

1. **Κατσαβουνίδου, Γ.** (2013). "Σαν καναρίνια στο ορυχείο": Παιδιά μεταναστών από την πρώην Σοβιετική Ένωση στην Ευξεινούπολη Θεσσαλονίκης, *Θεσσαλονικέων Πόλις*, 21, 26-31.

   Katsavounidou, G. (2013). "Like canaries in a coalmine": Immigrants' children from the former Soviet Union in Euxeipoupoli, Thessaloniki, *Thessalonikeon Polis* 21, 26-31.

Άρθρα σε συλλογικά έργα / Articles in collective volumes

1. **Κατσαβουνίδου, Γ.** (2015). "Πού είναι τα παιδιά;" Δημόσιοι χώροι για παιχνίδι στην πολεοδομία του μοντέρνου. Στο Α. Καραδήμου – Γερόλυμπου, Π. Τουρνικιώτης, Α. Βιτοπούλου (Επιμ.), *Η ελληνική πόλη και η πολεοδομία του Μοντέρνου* (σελ. 99-112). Αθήνα: Futura.

   Katsavounidou, G. (2015). "Where are the children?" : Public spaces for play in Modernist urbanism. In A. Karadimou-Yerolympou, P. Tournikiotis, A. Vitopoulou (Eds.), *The Greek city and Modernist urban planning* (pp. 99-112). Athens: Futura.

2. **Κατσαβουνίδου, Γ.** (2012). "Φωτογραφίζω τη γειτονιά μου": Η εικόνα της πόλης στα παιδιά μέσης σχολικής ηλικίας. Στο Α. Δέφνερ, Ν. Καραχάλης (Επιμ.), *Marketing και Branding Τόπου:* Η *Διεθνής Εμπειρία και η Ελληνική Πραγματικότητα* (σελ. 475-490). Βόλος: Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Θεσσαλίας.

   Katsavounidou, G. (2012). "Taking pictures of my neighborhood ": The image of the city in the case of middle-childhood children. In A. Defner, N. Karachalis (Eds.), *Place Marketing και Place Branding: The international experience and the Greek reality* (pp. 475-490). Volos, Greece: University Press of Thessaly.

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων – βιβλία περιλήψεων Publications in conference proceedings – books of abstracts

1. **Κατσαβουνίδου, Γ.** (2011). Μεγαλώνοντας στην ελληνική πόλη: Η 'συνάντηση' της παιδικής ηλικίας με το δημόσιο χώρο. Cannot not design, *Public Space:* "*Δημόσιος Χώρος… αναζητείται*" (Η1). Θεσσαλονίκη: ΤΕΕ/ΤΚΜ.

   Katsavounidou, G. (2011). Growing up in the Greek city: The 'meeting' of childhood with public space. Cannot not design, *Public Space: "Looking for… Public Space"* (H1). Division of Central Macedonia, Thessaloniki: Technical Chamber of Greece.

Ανακοινώσεις σε συνέδρια/ Presentations in conferences

1. **Κατσαβουνίδου, Γ.** (2012, Νοέμβριος). *'Σαν καναρίνια στο ορυχείο': Παιδιά μεταναστών από την πρώην Σοβιετική Ένωση στη Θεσσαλονίκη και η σχέση τους με το περιβάλλον κατοικίας*. Προφορική ανακοίνωση στο Επιστημονικό Συνέδριο «Θεσσαλονίκη, Πρωτεύουσα των Προσφύγων», Ιστορικό Αρχείο Προσφυγικού Ελληνισμού, Καλαμαριά, Θεσσαλονίκη.

   Katsavounidou, G. (2012, November). *"Like canaries in a coalmine": Immigrants' children from the former Soviet Union in Thessaloniki and their relationship with their living environment*. Paper presented at the Scientific Conference "Thessaloniki, Capital of refugees", Historical Archive of Refugee Hellenism, Kalamaria, Thessaloniki, Greece.

2. **Κατσαβουνίδου, Γ.** (2012, Μάιος). *"Φωτογραφίζω τη γειτονιά μου": Η εικόνα της πόλης στα παιδιά μέσης σχολικής ηλικίας*. Προφορική ανακοίνωση στο 1ο συνέδριο Marketing και Branding Τόπου, Τμήμα Μηχανικών Χωροταξίας Πολεοδομίας και Περιφερειακής Ανάπτυξης, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.

   Katsavounidou, G. (2012, May). *"Taking pictures of my neighborhood": The image of the city in the case of middle-childhood children*. Paper presented at 1st Place Marketing και Place Branding Conference, Department of Urban and Regional Planning, University of Thessaly, Volos, Greece.

3. **Κατσαβουνίδου, Γ.** (2011, Οκτώβριος). *Μεγαλώνοντας στην ελληνική πόλη: Η 'συνάντηση' της παιδικής ηλικίας με το δημόσιο χώρο*. Προφορική παρουσίαση στο 1ο συνέδριο «Δημόσιος Χώρος αναζητείται…», Τεχνικό Επιμελητήριο Ελλάδας / Τμήμα Κεντρικής Μακεδονίας, Θεσσαλονίκη.

   Katsavounidou, G. (2011, October). *Growing up in the Greek city: The "meeting" of childhood with public space*. Paper presented at 1st "Looking for… Public Space" Conference, Technical Chamber of Greece, Division of Central Macedonia, Thessaloniki, Greece.

4. **Κατσαβουνίδου, Γ.** (2011, Μάρτιος). *Προετοιμάζοντας πολίτες: Η πόλη και η αρχιτεκτονική μέσα από τα σχολικά βιβλία του Δημοτικού*. Προφορική ανακοίνωση στο 11ο Πανελλήνιο Αρχιτεκτονικό Συνέδριο, ΣΑΔΑΣ-ΠΕΑ, Αθήνα.

   Katsavounidou, G. (2011, March). *Priming Citizens: City and architecture in primary school handbooks*. Paper presented at 11th Panellenic Architecture Conference, Association of Greek Architects, Athens, Greece.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Γαρυφαλλιά Κατσαβουνίδου**, αρχιτέκτων Α.Π.Θ. (1996), με Μεταπτυχιακό Δίπλωμα από το Massachusetts Institute of Technology (2000), είναι Διδάκτωρ Αρχιτεκτονικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (2012). Η διδακτορική της έρευνα, με θέμα «Το παιδί, η πόλη, το παιχνίδι: Μια πολυφωνική βιογραφία», πραγματοποιήθηκε με υποτροφία «Ηράκλειτος ΙΙ».

Στα επιστημονικά της ενδιαφέροντα περιλαμβάνονται η σχέση ιστορίας – πόλης, η κοινωνική διάσταση της πρακτικής του αστικού σχεδιασμού, οι μετασχηματισμοί στον χώρο των πόλεων λόγω της μετανάστευσης, ο σχεδιασμός για το παιδί στην πόλη. Για τις μεταπτυχιακές της σπουδές έλαβε υποτροφία από το Ίδρυμα Ωνάση, που ήταν επίσης χορηγός της έκδοσης του βιβλίου της *Αόρατες Παρενθέσεις: 27 Πόλεις στη Θεσσαλονίκη* (Πατάκης, 2004). Κείμενά της έχουν δημοσιευτεί στα περιοδικά *Thresholds, Αρχιτέκτονες, Η Αρχιτεκτονική ως τέχνη, Migrance, Θεσσαλονικέων Πόλις*, καθώς και στο ταξιδιωτικό περιοδικό *Passport.* Πρόσφατα μετέφρασε, με την Παρασκευή Ταράνη, το κλασικό βιβλίο του Δανού αρχιτέκτονα Jan Gehl *Η ζωή ανάμεσα στα κτήρια* (Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Θεσσαλίας, 2013), με χορηγία μετάφρασης από το Danish Culture Fund.

Έχει διδάξει αστικό σχεδιασμό, ως εντεταλμένη διδάσκουσα, στο Τμήμα Χωροταξίας και Ανάπτυξης καθώς και στο Τμήμα Αρχιτεκτόνων της Πολυτεχνικής Σχολής του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, όπως και στο Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα του Τμήματος Αρχιτεκτόνων Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, ως βοηθός του διδάσκοντα καθηγητή Ηλία Ζέγγελη. Από το 2001, εργάστηκε στο Τμήμα Μελετών του Δήμου Θεσσαλονίκης και από το 2008, είναι υπάλληλος στην Τεχνική Υπηρεσία του Δήμου Βέροιας.

Short CV

Garyfallia Katsavounidou studied at the Aristotle University of Thessaloniki (Diploma of Architecture, 1996), at the Massachusetts Institute of Technology (Master of Science in Architecture Studies, 2000) and earned her Ph.D. in Architecture from University of Thessaly (2012). Her PhD dissertation, entitled “Child, city, play; A polyphonic biography”, was made possible through a “Heraclitus II” scholarship.

Her research interests include the relationship between city and history, the social dimension of urban design practice, the transformations induced to city space due to immigration and the design for the child in the city. She received an Onassis Foundation scholarship for her M.I.T. studies and a grant by the same Foundation for the publication of her book *Invisible Parentheses; 27 cities in Thessaloniki* (Patakis, 2004). She has written essays for *Thresholds, Architektones, I Architectoniki os Techni, Migrance, Thessalonikeon Polis* and for the travel magazine *Passport*. She recently translated, with Paraskevi Tarani, Jan Gehl’s classic book *Life between buildings* (University Press of Thessaly, 2013), sponsored through a Translation Fund grant by the Danish Culture Fund.

She has worked as an Adjunct Lecturer at the Department of Regional Planning and Development and the Department of Architecture of the Aristotle University of Thessaloniki, teaching Urban Design courses and also as a teaching assistant to Professor Elias Zenghelis at the University of Thessaly (Postgraduate Programme, Department of Architecture). From 2001 to 2008, she worked for the Municipality of Thessaloniki (Division of Architecture Design) and since 2008, she works at the Technical Works Division of the Municipality of Veria.

Μαρία Κωνσταντόγλου

Ο ρόλος των δυναμικών συστημάτων φυσικού φωτισμού και σκιασμού στο σχεδιασμό. Η επίδρασή τους στο ενεργειακό ισοζύγιο στη θερμική και οπτική άνεση των χρηστών.

Περίληψη

Το κέλυφος, λόγω του πολυδιάστατου χαρακτήρα του, αποτελεί μέσο διαμεσολάβησης μεταξύ εσωτερικού και εξωτερικού περιβάλλοντος κι επηρεάζει την περιβαλλοντική συμπεριφορά των κτηρίων. Στόχος της διατριβής είναι η ενσωμάτωση των λειτουργιών και των κριτηρίων απόδοσης στη μορφολογία του κελύφους, καθώς και η μελέτη της απόδοσής τους. Η συστηματοποίηση και ο καταμερισμός του κελύφους σε επιμέρους ζώνες, ανάλογα με τις λειτουργίες που αυτές αντιπροσωπεύουν, οδηγεί, στο πλαίσιο της διατριβής, στις αρθρωτές προσόψεις και στα συστήματα προσόψεων (Εικόνα 1). Ιδιαίτερη βαρύτητα δίνεται στα συστήματα φωτισμού και σκίασης με δυναμικό χαρακτήρα, που αξιολογούνται προκειμένου να διεξαχθούν συμπεράσματα για τη βελτιστοποίησή τους, αλλά και για το βαθμό στον οποίο επηρεάζουν τη συνολική ενεργειακή κατανάλωση του κτηρίου και την άνεση των χρηστών.

Το κεφάλαιο 2 της διατριβής είναι εισαγωγικό και αναφέρεται αρχικά στο ρόλο του κτισμένου περιβάλλοντος στη συνολική κατανάλωση ενέργειας. Γίνεται αναφορά στην κατανομή της κατανάλωσης ενέργειας στον κτηριακό τομέα, στις Ηνωμένες Πολιτείες, στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης και κυρίως στην Ελλάδα. Παρουσιάζονται αναλυτικά δεδομένα καταναλώσεων για τις κύριες χρήσεις των κτηρίων με εστίαση στα δημόσια κτίρια και αποδεικνύεται πως η μείωση της κατανάλωσης για ψύξη και φωτισμό μπορεί να παίξει καθοριστικό ρόλο στη μείωση του ενεργειακού ισοζυγίου του κτηριακού τομέα. Στη συνέχεια, γίνεται αναφορά στα συστήματα αξιολόγησης παγκοσμίως, καθώς και στους ενεργειακούς κανονισμούς και στον τρόπο που αντιμετωπίζουν την ανάγκη μείωσης της ενεργειακής κατανάλωσης στα κτήρια. Στο τέλος του κεφαλαίου, αναφέρονται οι παράμετροι που επηρεάζουν την κατανάλωση ενέργειας για ψύξη και φωτισμό και τονίζεται ο ρόλος του κελύφους καθώς και των συστημάτων φωτισμού και σκίασης.

Η βιβλιογραφική έρευνα σχετικά με την περιβαλλοντική συμπεριφορά του κελύφους παρουσιάζεται στο κεφάλαιο 3. Αρχικά περιγράφεται η τεχνολογική και η μορφολογική εξέλιξη του κελύφους ιστορικά. Γίνεται αναφορά στην εποχή της βιομηχανικής επανάστασης και στις «απεριόριστες» δυνατότητες όσον αφορά στον προσανατολισμό, στην ογκοπλασία και στην επιλογή υλικών που οδήγησαν στη δημιουργία κτηρίων με μεγάλες επιφάνειες υαλοπινάκων. Η σχέση μεταξύ εσωτερικού και εξωτερικού περιβάλλοντος αναθεωρήθηκε με τις επιρροές του μοντέρνου κινήματος που ανέτρεψαν τις τάσεις απομόνωσης. Η ιστορική αναδρομή καταλήγει στις μέρες μας, που το κέλυφος αντιμετωπίζεται όχι μόνο ως στοιχείο διαμεσολάβησης, αλλά και ως μέσο εξοικονόμησης και παραγωγής ενέργειας. Στη συνέχεια, το κεφάλαιο 3 αναφέρεται στο ρόλο του κελύφους στην άνεση των χρηστών και στο ενεργειακό ισοζύγιο και επικεντρώνεται στα κριτήρια που διαμορφώνουν την απόδοσή του. Πιο αναλυτικά, παρουσιάζονται ο φυσικός φωτισμός και οι δείκτες απόδοσής του, ο φυσικός αερισμός, η θερμική άνεση και η ηλιοπροστασία. Το κεφάλαιο περιλαμβάνει βιβλιογραφική έρευνα τεχνολογιών προσόψεων που παρουσιάζει συστήματα φωτισμού και σκίασης και τα κατηγοριοποιεί ανάλογα με τη θέση, τη διαχείριση του φωτισμού και το βαθμό αυτοματοποίησής τους. Καταλήγει σε βιβλιογραφική ανασκόπηση δυναμικών συστημάτων φωτισμού και σκίασης, στην οποία μεταξύ άλλων γίνεται αναφορά σε στρατηγικές ελέγχου και μοντέλα αυτοματοποίησης των συστημάτων. Επιπλέον, τονίζεται ο αντίκτυπος των συστημάτων φωτισμού και σκίασης στο ενεργειακό ισοζύγιο και η διαντίδρασή τους με τους χρήστες.

Το κεφάλαιο 4 περιλαμβάνει την αναλυτική μελέτη της διατριβής και χωρίζεται σε δύο στάδια. Στο πρώτο στάδιο, η μελέτη επικεντρώθηκε σε δυναμικά συστήματα προσόψεων. Αρχικά μελετήθηκε η απόδοση αυτόματων περσίδων για τρία σενάρια ανοιγμάτων (αναλογία παραθύρου προς πρόσοψη). Εξετάστηκαν πέντε στρατηγικές ελέγχου των περσίδων και συγκρίθηκε η απόδοσή τους με τα βασικά σενάρια. Στην επόμενη φάση, έγινε μελέτη απόδοσης ανακλαστικού περιστρεφόμενου ραφιού, το οποίο εξετάστηκε ως προς την ικανότητά του να αυξάνει τα επίπεδα φωτισμού βαθύτερα στο χώρο. Στο πλαίσιο της πρώτης φάσης, διαμορφώθηκε δυναμικό σύστημα που αποτελείται από ανακλαστικό περιστρεφόμενο ράφι, αυτόματες περσίδες στο κάτω τμήμα του παραθύρου και στατικές στο άνω τμήμα, όπως φαίνεται στην παράγραφο 2.5. Στη μελέτη αυτή, ορίστηκε η μεθοδολογία ανάλυσης του δυναμικού συστήματος, η οποία διαμορφώθηκε ανάλογα με τους περιορισμούς που τέθηκαν για τη διεξαγωγή της συγκεκριμένης μελέτης. Οι περιορισμοί σχετίζονται με τα υπολογιστικά εργαλεία που χρησιμοποιήθηκαν και

τον αριθμό των σεναρίων που εξετάστηκαν. Ταυτόχρονα, μέσα από τις επιμέρους μελέτες, διερευνήθηκαν τα διαθέσιμα υπολογιστικά εργαλεία και οι δυνατότητές τους και ορίστηκαν επιμέρους μεθοδολογίες μελέτης των δυναμικών συστημάτων ανά περίπτωση. Παρατηρήσεις και συμπεράσματα της πρώτης φάσης βοήθησαν στη διαμόρφωση και διάρθρωση της δεύτερης φάσης, η οποία είχε ως στόχο να εξετάσει αναλυτικά δύο δυναμικά συστήματα: αυτόματες περσίδες με τρόπο αντίστοιχο της παραγράφου 2.2 και το δυναμικό σύστημα με αυτόματες περσίδες και περιστρεφόμενο ράφι της παραγράφου 2.5. Για τη διεξοδική μελέτη των δύο συστημάτων, ορίστηκε ένας μεγάλος αριθμός σεναρίων που συμπεριέλαβαν πέντε περιπτώσεις ανοιγμάτων της πρόσοψης (Εικόνα 2), όλους τους προσανατολισμούς και τέσσερεις κλιματικές ζώνες. Παράλληλα, οι μεθοδολογίες που χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη των δύο συστημάτων ακολουθούν τη δομή των αντίστοιχων στις μελέτες 2.2 και 2.5, όμως συνδυάζουν υπολογιστικά εργαλεία προκειμένου να χρησιμοποιηθεί το πιο κατάλληλο για το αντικείμενο μελέτης (φωτισμός, ενεργειακή κατανάλωση).

Τα αποτελέσματα έδειξαν πως στην περίπτωση των δυναμικών περσίδων, οι αυτόματες περσίδες συγκριτικά με τις στατικές έχουν καλύτερη ενεργειακή απόδοση για άνω του 98% των περιπτώσεων. Διάγραμμα της λειτουργίας των στρατηγικών ελέγχου φαίνεται στην Εικόνα 3. Αναλυτικά, η στρατηγική Σ3 (αποκλεισμός της άμεσης ακτινοβολίας) έχει τη χαμηλότερη κατανάλωση για το 15%, η Σ4 (έλεγχος της θάμβωσης) για το 10% και η Σ6 (εξασφάλιση των επιπέδων φωτισμού στην επιφάνεια εργασίας) για το 36% των περιπτώσεων. Για ποσοστό 13%, οι στρατηγικές Σ4, Σ6 και Σ7 (εξισορρόπηση των στρατηγικών Σ5 και Σ6) έχουν μεταξύ τους την ίδια κατανάλωση η οποία είναι η χαμηλότερη για το σενάριο. Τέλος, για ποσοστό 2%, τη βέλτιστη απόδοση έχουν οι στατικές περσίδες σε οριζόντια κλίση, με διαφορά μέχρι και 5% σε σύγκριση με τη στρατηγική ελέγχου με τη χαμηλότερη κατανάλωση για το σενάριο. Η Εικόνα 6 αποτελεί αντιπροσωπευτικό παράδειγμα γραφημάτων πρωτογενούς ετήσιας κατανάλωσης. Η μελέτη θάμβωσης των αυτόματων περσίδων επικεντρώθηκε στη στρατηγική Σ6 που παρουσιάζει την καλύτερη ενεργειακή απόδοση. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως παρατηρούνται συνθήκες μη αποδεκτής θάμβωσης κυρίως για το χρήστη στραμμένο προς το παράθυρο (Εικόνα 4) και στις περιπτώσεις των μεγαλύτερων ανοιγμάτων (ΑΠΠ52%) για ανατολικό και νότιο προσανατολισμό. Χαρακτηριστικό παράδειγμα διαγραμμάτων ποσοστιαίων ωρών συνθηκών θάμβωσης φαίνεται στην Εικόνα 7.

Όσον αφορά στο δυναμικό σύστημα που αποτελείται από αυτόματες περσίδες και περιστρεφόμενο ανακλαστικό ράφι, η εξοικονόμηση ενέργειας στη ζώνη φυσικού και μη φυσικού φωτισμού εξαιτίας της χρήσης του, δείχνει την ικανότητά του να εξισορροπεί αντικρουόμενα κριτήρια, να εξασφαλίζει φως βαθύτερα στο χώρο και να επιτρέπει τη θέα προς το εξωτερικό, ελέγχοντας τα θερμικά κέρδη.

Συμπερασματικά, με την ολοκλήρωσή της, η διατριβή συνέβαλε καταρχήν στον καθορισμό στρατηγικών ελέγχου περσίδων και ανακλαστικών περιστρεφόμενων ραφιών. Ανάλογα με τις παραμέτρους απόδοσης που επιλέγονται, προσδιορίζονται αντίστοιχα και οι στρατηγικές ελέγχου δυναμικών συστημάτων. Επιπλέον, στο πλαίσιο της διατριβής, ορίστηκε η μεθοδολογία μελέτης της απόδοσης δυναμικών συστημάτων, η οποία και χρησιμοποιήθηκε για την εξέταση σειράς δυναμικών συστημάτων. Η μελέτη της απόδοσης των δυναμικών συστημάτων έδειξε πως οι αυτόματες περσίδες ανάλογα με τη στρατηγική αυτοματισμού μπορούν να συμβάλλουν στην εξοικονόμηση ενέργειας αλλά και στην άνεση των χρηστών. Ταυτόχρονα, δυναμικά συστήματα που συνδυάζουν επιμέρους συστήματα, εξισορροπούν αντικρουόμενα κριτήρια και βελτιστοποιούν συνολικά την απόδοσή τους.

Λέξεις κλειδιά: Φυσικός φωτισμός, Προσόψεις, Συστήματα φωτισμού και σκίασης, Δυναμικά συστήματα, Στρατηγικές ελέγχου, Κατανάλωση ενέργειας, Άνεση χρηστών, Θάμβωση

Τριμελής Επιτροπή Διατριβής

Αριστείδης Τσαγκρασούλης, Αναπληρωτής Καθηγητής, Ενεργειακός και Περιβαλλοντικός Σχεδιασμός κτηρίων, Τμήμα Αρχιτεκτόνων Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Κλειώ Αξαρλή, Καθηγήτρια, Αρχιτεκτονική Τεχνολογία και Αρχιτεκτονικός Σχεδιασμός ενεργειακών κελυφών, Τμήμα Αρχιτεκτόνων Μηχανικών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Θάνος Τζεμπελίκος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Ενεργειακός Σχεδιασμός κτηρίων, Σχεδιασμός και Μελέτη ελέγχου σκίαστρων, Ενεργειακές Προσομοιώσεις κτηρίων, Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών, Πανεπιστήμιο Purdue, ΗΠΑ

Maria Konstantoglou

The role of dynamic daylighting and shading systems in design. Their impact in buildings energy efficiency and occupants comfort

Abstract

The building shell is a means of interaction between buildings' internal and external environment and influences their environmental behaviour. The main goal of this dissertation is the integration of performance criteria into the shell's morphological elements. Systematization and division of the building shell into zones, depending on the functions they represent, leads this research work to modular façades and systems (Figure 1). The study focuses on dynamic daylighting and shading systems evaluated in terms of the degree they affect occupants' visual and thermal comfort as well as buildings' energy consumption.

The dissertation's chapter 2 is introductory and refers to the role of the built environment to the overall energy consumption. It refers to the energy consumption distribution to the built environment in the United States, the European Union and mainly in Greece. It analytically presents energy consumption data depending on buildings' main usage with a focus on the public sector. The review shows that the reduction of energy consumption for cooling and lighting plays an important role into the reduction of building sector's energy consumption. It then reviews green building rating systems worldwide as well as energy standards and the way they respond to the need for energy reduction in buildings. To conclude, the chapter summarizes the parameters that influence energy consumption for cooling and lighting and highlights the building shell's role, with a focus on daylighting and shading systems.

Chapter 3 presents a literature review on building shell's environmental behavioursr. Initially, it historically describes the shell's technological and morphological development. It refers to the era of industrial revolution and the unlimited possibilities in terms of orientation, morphology and selection of materials that led to the creation of the "curtain wall". The relationship between the interior and exterior was revised with the influence of the modern movement in architecture that subverted any isolation tendency. The historical review concludes to the current period that the shell is considered a means of interaction as well as a means of energy conservation and production. Next, chapter 3 refers to the shell's impact on occupants' comfort and energy balance and focuses on the criteria that affect its performance. Analytically, it presents daylighting and its performance factors, natural ventilation, thermal comfort and solar protection. It also includes a literature review on façade technologies that presents daylighting and shading systems as well as control strategies and automation models. It highlights the systems' impact on energy balance and their interaction with occupants.

In the next chapter, 4, the dissertation presents the analytical study divided into two phases. In the first phase, the study focuses on dynamic façade systems. Originally, the performance of automated blinds for three window scenarios (window to wall ratio) was studied. Five control strategies of automated blinds and their performance were compared to the basic scenarios. Next, the study examined a reflective sun-tracking lightshelf in terms of its ability to increase daylighting levels deeper into the space. The first phase of the analysis concludes to the examination of a dynamic system that combines automated blinds and reflective light-shelf. The system consists of a reflective light-shelf, automated blinds on the lower part of the window and static blinds on the upper part as shown in paragraph 2.5. The study defined the analysis methodology of the dynamic system based on the predefined limitations. These limitations are related to the simulation tools and the number of scenarios that were examined. At the same time, the individual studies examined the available tools and their possibilities and defined analysis methodologies depending on the case. Remarks and conclusions from the first phase contributed to the conformation of the second phase that aimed to analytically examine two dynamic systems: automated blinds as shown in paragraph 2.2 and a dynamic system that consists of automated blinds and a sun-tracking light-shelf similar to the system shown in paragraph 2.5. To achieve a thorough study of the two dynamic systems, a large number of scenarios were defined. The scenarios included five window openings (Figure 2), all four orientations and four climate zones. The analysis methodologies that were used for the study of the two systems follow the same structure with those used in paragraphs 2.2 and 2.5. However, they combine simulation tools in order to use the most suitable process for the study (lighting, energy consumption).

Results have shown that in the case of dynamic blinds, automated venetian blinds have

the best energy consumption compared to static ones for more than 98% of the cases. Figure 3 diagrammatically shows control strategies function. Analytically, strategy S3 (blocks direct solar radiation) presents the lowest energy consumption for 15% of the cases, S4 (glare control) for 10% of the cases and S6 (sufficient illuminance levels on the work-plane surface) for 36% of the cases. For a percentage of 13% strategies S4, S6 and S7 (combines strategies S5 and S6) show the same consumption, the lowest for the particular scenario. Finally, for 2% of the cases, static blinds in horizontal position have the best energy performance by 5% lower than the control strategy with the best energy consumption. Figure 6 is a representative example of primary energy consumption charts. Automated blinds glare study focused on strategy S6 that presents the best energy performance. Results showed that unacceptable glare conditions are shown for the user facing the window (Figure 4) in the case of larger openings (WWR52%) for east and south orientation. A representative example of charts showing percentage hours of glare conditions is shown in figure 7.

Regarding the dynamic system that consists of automated blinds and sun-tracking light-shelf, energy conservation in the daylight zone and non-daylight zone shows its ability to balance conflicting criteria, directing light deeper into the space allowing view to the exterior while controlling thermal gains.

Conclusively, this dissertation contributed to the definition of automated blinds and sun-tracking light-shelves control strategies. Dynamic systems' control strategies are defined depending on the selected performance factors. Furthermore, the research study defined the analysis methodology of dynamic systems that was used for the examination of a series of dynamic systems. Results have shown that automated blinds contribute to the energy conservation and occupants' comfort depending on the control strategy. Dynamic systems that consist of more than one system balance conflicting criteria and optimize their performance.

Key words: Daylighting, Façades, Daylighting and shading systems, Dynamic systems, Control strategies, Energy Consumption, Occupants comfort, Glare

Three - Member Supervisory Committee

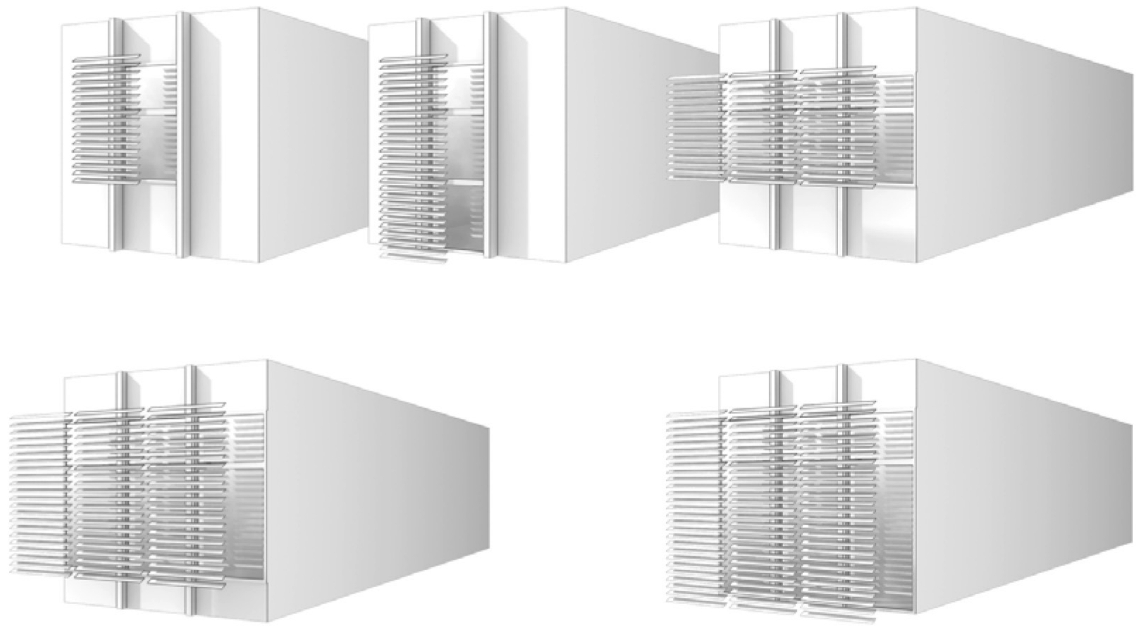
Aris Tsangrassoulis, Associate Professor, Low energy building design and environmental design,School of Architecture, University of Thessaly, Greece

Kleo Axarli, Professor, Architectural technology and sustainable design, School of Architecture, Aristotle University of Thessaloniki, Greece

Thanos Tzempelikos, Associate Professor of Civil Engineering, Design of energy-efficient buildings, shading design and control, building energy modelling and simulation,School of Civil Engineering, Purdue University, USA

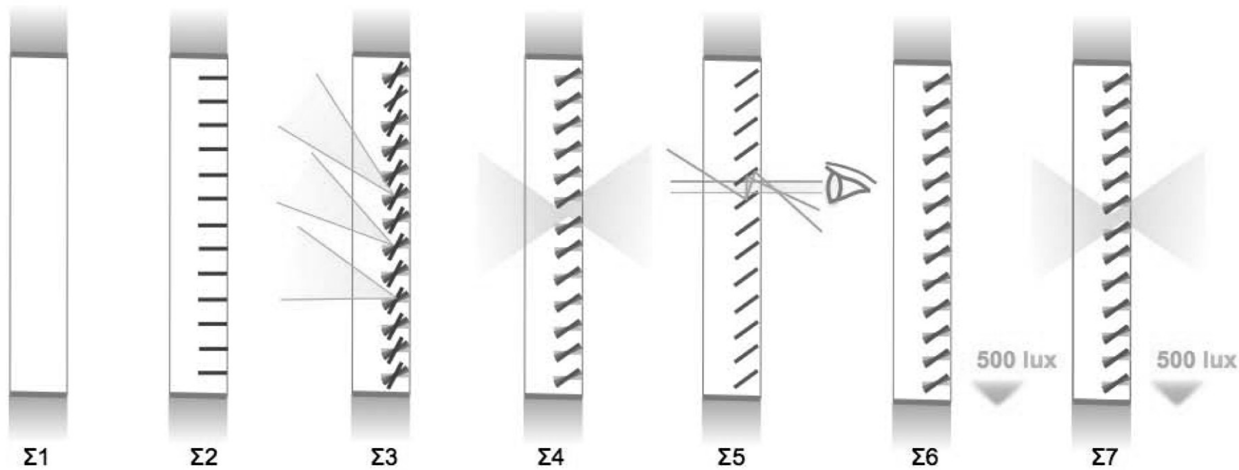
Εικόνα 1. *Πρόταση αρθρωτής πρόσοψης*

Figure 1. *Modular façade concept*



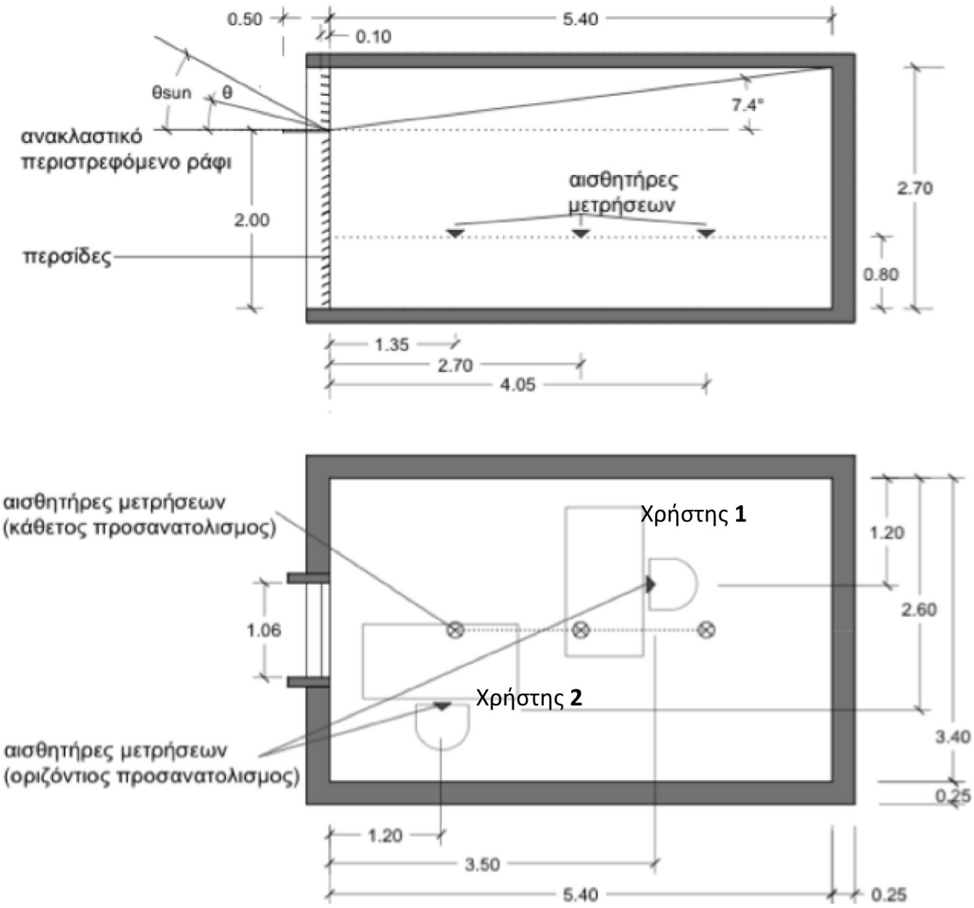
Εικόνα 2. *Μοντέλα των σεναρίων προσόψεων με εξωτερικές περσίδες που μελετήθηκαν. Άνω αριστερά: ΑΠΠ20%, άνω μέση: ΑΠΠ31%, άνω δεξιά: ΑΠΠ52%, κάτω αριστερά: ΑΠΠ76%, κάτω δεξιά: ΑΠΠ94%*

Figure 2. *Window to wall ratios scenarios that were studied. Upper left: WWR20%, upper middle: WWR31%, upper right: WWR52%, lower left: WWR76%, lower right: WWR94%*



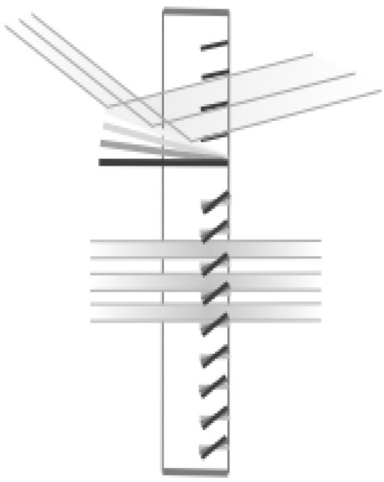
Εικόνα 3. *Σχηματική απεικόνιση των στρατηγικών ελέγχου που εξετάστηκαν.*

Figure 3. *Control strategies diagrammatic sketches*

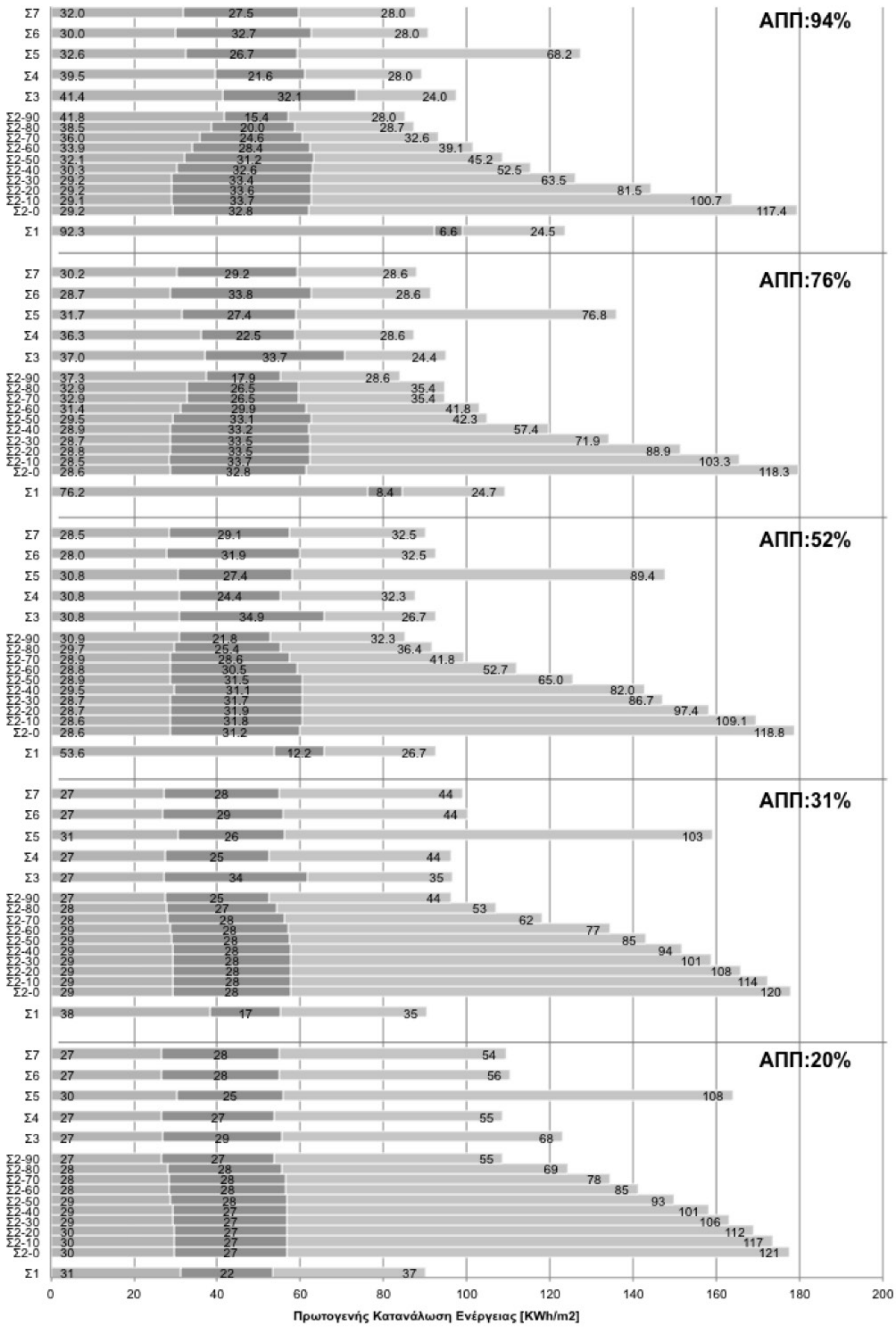


Εικόνα 4. *Διάγραμμα μοντέλου: Άνω σχήμα: Τομή. Κάτω σχήμα: Κάτοψη*

Figure 4. *Model drawings: Up: Section. Low: Plan*

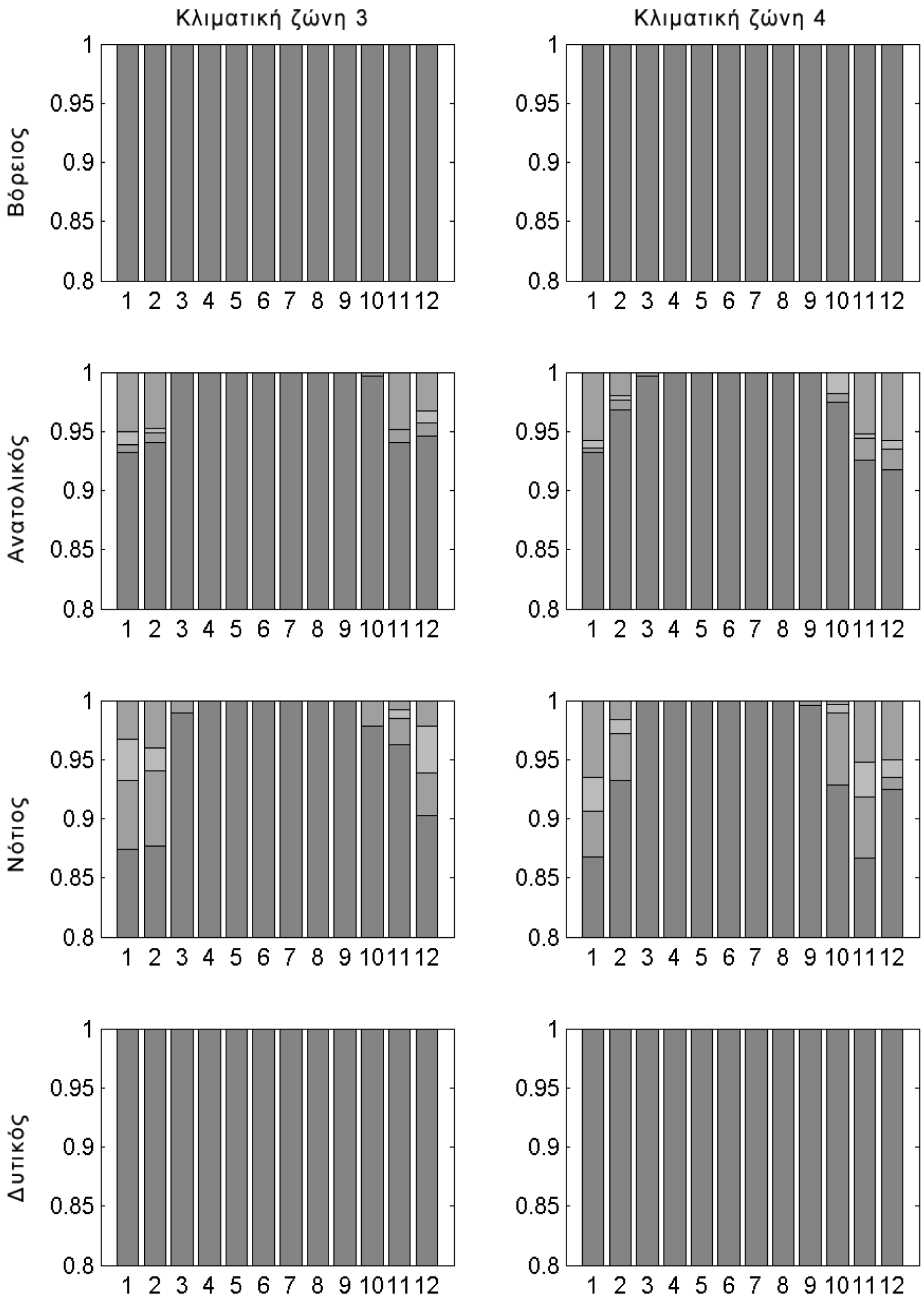


Εικόνα 5. Διάγραμμα δυναμικού συστήματος. Ανακλαστικό Ράφι – Περσίδες Οπτικής επαφής
Figure 5. Dynamic system diagram. Reflective sun-tracking light-shelf – Blinds that allow view to the exterior



Εικόνα 6. *Πρωτογενής ετήσια κατανάλωση για Νότιο Προσανατολισμό και Κλιματική Ζώνη 3*

Figure 6. *Primary annual energy consumption for South Orientation and Climate Zone 3*



Εικόνα 7. *ΑΠΠ: 76% (Περίπτωση 4). Ποσοστιαίες ώρες ανά μήνα για τις οποίες οι τιμές DGPs υπερβαίνουν συγκεκριμμένες τιμές όπως ορίζονται στον πίνακα 7. Θέση χρήστη: 1.*

Figure 7. *WWR: 76% (Scenario 4). Hours in which DGPs values are higher than predefined values in table 7. User position: 1.*

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the “Heraclitus II” program

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Konstantoglou, M.**, & Tsangrassoulis, A. (2014). Dynamic Operation of Daylighting and Shading Systems: A Literature Review. *Journal of Renewable and Sustainable Energy Reviews*. (In review)

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων – βιβλία περιλήψεων Presentations in conference proceedings – books of abstracts

1. **Konstantoglou, M**., Kontadakis, A., & Tsangrassoulis, A. (2013). Dynamic Building Skins: Performance Criteria Integration. In Caroline Illinger (Ed.), *PLEA Conference* (Book of Abstracts, pp. 163). Munich, Germany: Technische Universität München.
2. **Konstantoglou, M**., Kontadakis, A., & Tsangrassoulis, A. (2013). Counterbalancing daylighting, glare and view out: the role of an external shading system control strategy. In Karel Kabele (Ed.), *Clima 2013.* Prague, Czech Republic: REHVA member Czech Society of Environmental Engineering (STP).
3. **Konstantoglou, M.**, & Tsangrassoulis, A.(2012). Dynamic Building Envelope System: A control strategy for enhancing daylighting quality and reducing energy consumption. *Energy Forum 2012 Conference* (pp. 9-13). Bressanone, Italy: Economic Forum
4. **Konstantoglou, M.**, & Tsangrassoulis, A. (2012). Performance evaluation of an automatically controlled lightshelf. In Miomir Kostic (Ed.), *Balkan Light 2012 Conference* (pp. 322-330). Belgrade, Serbia: Serbian Lighting Society.
5. **Konstantoglou, M.**, & Tsangrassoulis, A. (2012). Modular façade concept: Opportunities for performance criteria integration. In Julen Astudillo (Ed.), *VI International Congress on Architectural Envelops* (pp. 259-266). Donostia – San Sebastian, Spain: Tecnalia

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες Presentations in conferences and meetings-workshops

1. Lee, E., Deringer, D., **Konstantoglou, M.** (2011, May). *Dynamic Building Envelope Components and Systems*. Paper presented at Lightfair 2011, Philadelphia, USA.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Μαρία Κωνσταντόγλου** είναι Διδάκτωρ στη Σχολή Αρχιτεκτόνων, στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας. Στο πλαίσιο της διδακτορικής της έρευνας, που χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα διδακτορικών υποτροφιών «Ηράκλειτος ΙΙ» (2010), εξέτασε, υπό την καθοδήγηση του Καθηγητή Άρη Τσαγκρασούλη, την απόδοση συστημάτων φωτισμού και σκίασης και τις στρατηγικές ελέγχου τους. Η έρευνά της παρουσιάστηκε σε διεθνή συνέδρια, στην Ευρώπη και στις Ηνωμένες Πολιτείες.

Είναι απόφοιτος της Σχολής Αρχιτεκτόνων του Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου, με μεταπτυχιακές σπουδές (M. Phil.) στον Περιβαλλοντικό Σχεδιασμό, στο Πανεπιστήμιο του Cambridge. Η μεταπτυχιακή της έρευνα χρηματοδοτήθηκε από την υποτροφία EPSRC, στο Ηνωμένο Βασίλειο.

Εργάστηκε στο αρχιτεκτονικό γραφείο Skidmore, Owings & Merrill (SOM) στο San Francisco (2006-2008) και η εμπλοκή της σε έργα διαφορετικής κλίμακας και τυπολογίας παγκοσμίως, προκάλεσε το ενδιαφέρον της για την ενσωμάτωση των υπολογιστικών μεθόδων περιβαλλοντικού σχεδιασμού στον αρχιτεκτονικό σχεδιασμό. Έχει δουλέψει σε αρχιτεκτονικά γραφεία στην Ελλάδα και στο Ηνωμένο Βασίλειο.

Εργάστηκε επίσης ως κύρια ερευνήτρια στο ερευνητικό κέντρο LBNL (2008-2010), στην πόλη Berkeley, στις Ηνωμένες Πολιτείες. Ως μέλος της ομάδας Windows and Envelope Materials Group, πραγματοποίησε έρευνα στον φωτισμό και στην ενεργειακή απόδοση των κτηρίων, χρησιμοποιώντας τα υπολογιστικά εργαλεία Radiance και EnergyPlus του LBNL. Έχει επίσης εμπλακεί στην ανάπτυξη του έργου eLAD, υπό την αιγίδα του Αμερικάνικου Υπουργείου Ενέργειας (DOE). Ο ρόλος της αφορούσε όλα τα στάδια του έργου με εστίαση στην απεικόνιση του τρισδιάστατου περιβάλλοντος και στην ενσωμάτωση του υπολογιστικού εργαλείου Radiance. Η εμπλοκή της απαιτούσε εξειδικευμένες γνώσεις πάνω στο φυσικό φωτισμό.

Short CV

Maria Konstantoglou has been enrolled in a Ph.D programme at the School of Architecture, University of Thessally (Greece), funded by the Ph.D scholarship program "Heraclitus II" (2010). Under the guidance of Professor Aris Tsangrassoulis, she examined the performance of daylighting technologies integrated with lighting controls that adjust to a predefined set of requirements. Her work has been presented in conferences in Europe and the United States.

She is a graduate of the School of Architecture, Aristotle University of Thessaloniki (Greece) and she holds a Master of Philosophy (M. Phil.) in Environmental Design at the University of Cambridge. Her research has been awarded the EPSRC grant in the United Kingdom.

She has worked at Skidmore, Owings & Merrill (SOM) in the San Francisco office (2006-2008). Her involvement in projects of various scale and type worldwide, intrigued her interest in bringing research methods and computer modelling to architectural design solutions. She has also practiced at architectural firms in Greece and the United Kingdom.

Mrs Konstantoglou worked as a principal research associate at LBNL (2008-2010). Member of the Windows and Envelope Materials Group, she has conducted research on lighting and energy performance using the simulation tools Radiance and Energy Plus developed by LBNL. She has also been involved in the development of the eLAD project, supported by the US Department of Energy (DOE). Her role involved all phases of the project with a focus on the visualization of the 3d environment and the Radiance tool integration that required deep understanding of daylighting.

Τμήμα Ηλεκτρολόγων Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών
Department of Electrical and Computer Engineering

Λάζαρος Γκατζίκης

Τεχνικές Βελτιστοποίησης και Θεωρίας Παιγνίων για Δικτυακά Συστήματα Περιορισμένης Ενέργειας και Ευφυή Δίκτυα Ηλεκτρισμού

Περίληψη

Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται συνεχής αύξηση των ενεργειακών αναγκών της ανθρωπότητας. Επομένως, η αποδοτική αξιοποίηση της ενέργειας έχει καταστεί ένας βασικός στόχος της ερευνητικής κοινότητας. Οι τρέχουσες ερευνητικές προσπάθειες επικεντρώνονται σε δύο κατευθύνσεις, i) στη βελτιστοποίηση της αποδοτικότητας και της αξιοπιστίας του δικτύου ηλεκτροδότησης και ii) στη βελτιστοποίηση της ενεργειακής αποδοτικότητας μεμονωμένα κάθε συσκευής. Η συγκεκριμένη διδακτορική διατριβή εξετάζει και τις δύο αυτές κατευθύνσεις.

Η αποδοτική και οικονομική λειτουργία του δικτύου ηλεκτρισμού απαιτεί το φορτίο να είναι κατανεμημένο ομοιόμορφα εντός της ημέρας, ώστε να μην παρατηρείται υπερφόρτωση του δικτύου. Επί του παρόντος, η κοστολόγηση της καταναλισκόμενης ενέργειας στους τελικούς χρήστες είναι γενικά σταθερή κατά τη διάρκεια μιας μέρας. Δεδομένου ότι η καθημερινή δραστηριότητα των ανθρώπων είναι παρόμοια, αυτό οδηγεί σε σημαντικά ανομοιόμορφη κατανομή της ζήτησης. Αντίθετα, η δυναμική τιμολόγηση του καταναλισκόμενου ρεύματος, μέσω της εφαρμογής χρονικά μεταβαλλόμενων τιμών, παρακινεί τους χρήστες να μεταβάλλουν το ημερήσιο προφίλ κατανάλωσης ενέργειας ώστε να ελαχιστοποιήσουν το λογαριασμό ρεύματος. Αυτό ταυτόχρονα οδηγεί σε πιο εξισορροπημένη συνολική κατανάλωση ενέργειας στο σύστημα και συνεπώς σε καλύτερη λειτουργία του δικτύου. Σε αυτήν την κατεύθυνση, εισάγουμε ένα ρεαλιστικό μοντέλο της συμπεριφοράς των οικιακών καταναλωτών ρεύματος, μοντελοποιούμε την αντίδρασή τους σε χρονικά μεταβαλλόμενες τιμές ρεύματος και αναπτύσσουμε μηχανισμούς δυναμικής τιμολόγησης, βασισμένους στη θεωρία βελτιστοποίησης. Τα αποτελέσματα μας αποδεικνύουν ότι σωστά σχεδιασμένοι μηχανισμοί δυναμικής τιμολόγησης μπορούν να εγγυηθούν σημαντικά οικονομικά κέρδη και για τον διαχειριστή του δικτύου, αλλά και για τους τελικούς χρηστες.

Ο μεγάλος αριθμός όμως των οικιακών χρηστών και η έλλειψη τεχνογνωσίας σχετικά με τη δυναμική τιμολόγηση από την πλευρά του διαχειριστή, δημιούργησε την ανάγκη για μια νέα οντότητα στην αγορά του ηλεκτρικού ρεύματος. Οι διαμεσολαβητές (aggregators) λειτουργούν ως ενδιάμεσοι που συντονίζουν τους χρήστες, ώστε να μεταθέσουν χρονικά ή και να μειώσουν τις απαιτήσεις τους για ηλεκτρικό ρεύμα και μεταπωλούν αυτή την υπηρεσία στο διαχειριστή του συστήματος ηλεκτρισμού. Σε αυτό το πλαίσιο, προτείνουμε ένα ιεραρχικό μοντέλο τριών επιπέδων για την αγορά ηλεκτρισμού και έναν μηχανισμό τιμολόγησης για κάθε επίπεδο. Χρησιμοποιώντας ρεαλιστικά δεδομένα κατανάλωσης, δείχνουμε ότι ο προτεινόμενος μηχανισμός μπορεί να εγγυηθεί σημαντικά οικονομικά οφέλη για κάθε οντότητα της αγοράς (καταναλωτές, διαμεσολαβητές και διαχειριστή).

Παράλληλα με τη βελτιστοποίηση της λειτουργίας του δικτύου ηλεκτρισμού, επιτακτική είναι και η βέλτιστη αξιοποίηση της ενέργειας σε επίπεδο συσκευής. Οι σύγχρονες φορητές συσκευές τροφοδοτούνται από μπαταρίες και συνεπώς έχουν περιορισμένες ενεργειακές δυνατότητες. Αντίθετα, οι σύγχρονες εφαρμογές είναι ιδιαίτερα απαιτητικές και δεν μπορούν να εκτελεστούν τοπικά στην συσκευή. Επομένως, η εκτέλεση κάποιων απαιτητικών εργασιών σε ένα απομακρυσμένο σύστημα (γενικά αναφέρεται ως υπολογιστικό νέφος) μπορεί να αυξήσει σημαντικά την αυτονομία και τις δυνατότητες μιας φορητής συσκευής. Στη διδακτορική αυτή διατριβή, εξετάζουμε το πρόβλημα του βέλτιστου χρονοπρογραμματισμού εργασιών που γεννιούνται από φορητές συσκευές στους διάφορους κόμβους του υπολογιστικού νέφους. Στην κατεύθυνση αυτή, προτείνουμε ένα ρεαλιστικό μαθηματικό μοντέλο της λειτουργίας του συστήματος, βασισμένο στη θεωρία ουρών. Το μοντέλο αυτό μας επιτρέπει να αναπτύξουμε αλγορίθμους για τη βέλτιστη κατανομή των εργασιών που ανταγωνίζονται για τους φυσικούς πόρους του συστήματος. Σε αυτό το πλαίσιο, προτείνουμε αποδοτικούς αλγορίθμους που είτε ελαχιστοποιούν το χρόνο εκτέλεσης των εργασιών ή το ενεργειακό κόστος του συστήματος.

Επίσης, η ανάθεση πόρων στα ασύρματα συστήματα οφείλει να λαμβάνει υπόψη τους ενεργειακούς περιορισμούς των φορητών συσκευών. Σε αυτή την κατεύθυνση, η συγκεκριμένη διδακτορική διατριβή ερευνά το πρόβλημα της ασύρματης πρόσβασης στο μέσο για φορητές συσκευές και συγκεκριμένα την αντιστάθμιση (tradeoff) ενέργειας –ρυθμοαπόδοσης.

Αρχικά, μελετάμε την επίδραση του ανταγωνισμού για το κανάλι στην κατανάλωση ενέργειας ασύρματων συσκευών που υποστηρίζουν καταστάσεις ύπνου (sleepmodes). Είναι κοινή πρακτική οι ασύρματοι πομποδέκτες να μεταβαίνουν σε κατάσταση ύπνου, προκειμένου να εξοικονομήσουν ενέργεια. Ωστόσο,για να μεταβεί ένας πομποδέκτης από κατάσταση ύπνου σε ενεργή κατάσταση και αντίστροφα, απαιτείται ένα μη αμελητέο χρονικό διάστημα και ενέργεια. Επομένως, το ακριβές πλάνο ενεργοποίησης/απενεργοποίησης της συσκευής επηρεάζει καθοριστικά την απόδοσή της αλλά και τη διαθέσιμη ενέργεια της. Σε αυτό το πλαίσιο, μοντελοποιούμε τον ανταγωνισμό πολλαπλών ασύρματων χρηστών ως ένα μη συνεργατικό παίγνιο δύο επιπέδων, όπου στο χαμηλότερο επίπεδο καθορίζεται η πρόσβαση στο μέσο, ενώ στο ανώτερο πραγματοποιείται ο προγραμματισμός των περιόδων ύπνου. Ο ανταγωνισμός των χρηστών οδηγεί σε ένα μοναδικό σημείο ισορροπίας, στο οποίο όμως παρατηρούνται πολλαπλές συγκρούσεις πακέτων και επομένως η απόδοση είναι ιδιαίτερα χαμηλή. Για να αντιμετωπίσουμε αυτό το ζήτημα, αναπτύξαμε μηχανισμούς που αξιοποιούν καλύτερα το ασύρματο μέσο και τη διαθέσιμη ενέργεια των συσκευών, αλλά οδηγούν σε πολλαπλά σημεία ισορροπίας.

Τέλος, εξετάζουμε το πρόβλημα της βέλτιστης αξιοποίησης ενδιάμεσων αναμεταδοτών (relays) και ελέγχου ισχύος σε ασύρματα δίκτυα επικοινωνιών. Η χρήση αναμεταδοτών επιτρέπει σημαντική αύξηση της απόδοσης ενός ασύρματου δικτύου ή την επέκταση της εμβέλειάς του. Ένας ή περισσότεροι ενδιάμεσοι κόμβοι αναλαμβάνουν να προωθήσουν το σήμα από την πηγή στον προορισμό. Ωστόσο, σε ένα περιβάλλον παρεμβολής όπου υπάρχουν ταυτόχρονες μεταδόσεις από πολλούς πομπούς και πολλοί διαθέσιμοι αναμεταδότες, προκύπτει το πρόβλημα του χρονοπρογραμματισμού των εκπομπών, έτσι ώστε να μεγιστοποιείται η απόδοση του συστήματος και να ελαχιστοποιείται η καταναλισκόμενη ενέργεια. Σε αυτό το πλαίσιο, αναγνωρίζοντας τη σημασία της παρεμβολής στα δίκτυα κινητής τηλεφωνίας, που οδηγεί σε κατασπατάληση ενέργειας, προτείνουμε αλγορίθμους για τη μεγιστοποίηση του επιτεύξιμου ρυθμού μετάδοσης. Οι προτεινόμενοι αλγόριθμοι βασίζονται στην ιδέα της εύρεσης του ταιριάσματος μέγιστου βάρους σε ένα διμερή γράφο και τη χρήση γεωμετρικού προγραμματισμού. Για την αξιολόγηση των προτεινόμενων αλγορίθμων, πραγματοποιήθηκε χαρακτηρισμός των περιπτώσεων που οδηγούν στη βέλτιστη λύση.

Ένα κοινό χαρακτηριστικό όλων αυτών των προβλημάτων είναι η αυτόνομη φύση των εμπλεκομένων οντοτήτων. Κάθε χρήστης επιλέγει ανεξάρτητα τις ενέργειές του με γνώμονα τη μεγιστοποίηση του προσωπικού του οφέλους, μια επιλογή που γενικά δεν είναι η βέλτιστη συνολικά για το σύστημα. Για το σκοπό αυτό, χρησιμοποιούμε τεχνικές βελτιστοποίησης και θεωρίας παιγνίων, για να μοντελοποιήσουμε και να αναλύσουμε τη συμπεριφορά και την αλληλεπίδραση των χρηστών.

Λέξεις κλειδιά: ενεργειακή απόδοση, δίκτυο ηλεκτρισμού, ασύρματα δίκτυα

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Λέανδρος Τασιούλας, Καθηγητής, ανάπτυξη μαθηματικών μοντέλων για ανάθεση πόρων σε τηλεπικοινωνιακά δίκτυα,Τμήμα Ηλεκτρολόγων Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Ιορδάνης Κουτσόπουλος, Επίκουρος καθηγητής, θεωρία ελέγχου και βελτιστοποίησης δικτύων, θεωρία παιγνίων για ανάθεση πόρων, Τμήμα Πληροφορικής, Οικονομικό Παν/μιο Αθηνών

Slawomir Stanczak, Αναπληρωτής Καθηγητής, communications engineering, ανάθεση πόρων και διαχείριση παρεμβολών σε ασύρματα δίκτυα, κατανεμημένοι αλγόριθμοι για ασύρματα συνεργατικά δίκτυα με επανεκπομπές, Τεχνικό Πανεπιστήμιο του Βερολίνου, Γερμανία

Lazaros Gkatzikis

Optimization and game theory techniques for energy-constrained networked systems and the smart grid

Summary

The energy needs in all sectors of our modern societies are constantly increasing. Indicatively, annual worldwide demand for electricity has increased ten-fold within the last 50 years. Thus, energy efficiency has become a major target of the research

community. The ongoing research efforts are focused on two main threads, i) optimizing efficiency and reliability of the power grid and ii) improving energy efficiency of individual devices / systems. In this thesis, we explore the use of optimization and game theory techniques towards both goals.

Stable and economic operation of the power grid calls for electricity demand to be uniformly distributed across a day. Currently, the price of electricity is fixed throughout a day for most users. Given also the highly correlated daily schedules of users, this leads to unbalanced distribution of demand. However, the recent development of low-cost smart meters enables bidirectional communication between the electricity operator and each user and hence, introduces the option of dynamic pricing and demand adaptation (a.k.a. Demand Response - DR). Dynamic pricing motivates home users to modify their electricity consumption profile so as to reduce their electricity bill. Eventually, users by moving demand out of peak consumption periods lead to a more balanced total demand pattern and a more stable grid.

A DR scheme has to balance the contradictory interests of the utility operator and the users. On the one hand, the operator wants to minimize electricity generation cost. On the other hand, each user aims to maximize an utility function that captures the trade-off between timely execution of demands and financial savings. In this thesis, we focus on designing efficient DR schemes for the residential sector. Initially, we introduce a realistic model of user's response to time-varying prices and identify the operating constraints of home appliances that make optimal demand schedulling NP-Hard. Thus, we devise an optimization-based dynamic pricing mechanism and demonstrate how it can be implemented as a day-ahead DR market. Our numerical results underline the potential of residential DR and verify that our scheme exploits DR benefits more efficiently compared to existing ones.

The large number of home users though and the fact that the utility operator generally lacks the know-how of designing and applying dynamic pricing at such a large scale, introduce the need for a new market entity. Aggregators act as intermediaries that coordinate home users to shift or even curtail their demands and then resell this service to the utility operator. In this direction, we introduce a three-level hierarchical model for the smart grid market and we devise the corresponding pricing mechanism for each level. The operator seeks to minimize the smart grid operational cost and offers rewards to aggregators toward this goal. Aggregators are profit-maximizing entities that compete to sell DR services to the operator. Finally, end-users are also self-interested and seek to optimize the trade off between earnings and discomfort. Based on realistic demand traces we demonstrate the dominant role of the utility operator and how its strategy affects the actual DR benefits. Although the proposed scheme guarantees significant financial benefits for each market entity, interestingly users that are extremely willing to modify their consumption pattern do not derive the maximum financial benefit.

In parallel to optimizing the power grid itself, per device energy economy has become a goal of utmost performance. Contemporary mobile devices are battery powered and hence characterized by limited processing and energy resources. In addition, the latest mobile applications are particularly demanding and hence cannot be executed locally. Instead, a mobile device can outsource its computationally intensive tasks to the cloud over its wireless access interface, so as to maximize both its lifetime and performance. In this thesis, we explore task offloading and Virtual Machine (VM) migration mechanisms for the mobile cloud computing paradigm that minimize energy consumption and execution time. We identify that in order to decide whether offloading is beneficial, a mobile has also to consider the delay and energy cost of data transfer from/to the cloud. On the other hand, the challenge for the cloud is to optimally allocate the arising VMs to its servers so as to minimize its operating cost without sacrificing performance though. Providing quality of service guarantees is particularly challenging in the dynamic cloud environment, due to the time-varying bandwidth of the access links, the ever changing available processing capacity at each server and the time-varying data volume of each VM. Thus, we propose a mobile cloud architecture that brings the cloud closer to the user and online VM migration policies spanning fully uncoordinated ones, in which each user or server autonomously makes its migration decisions, up to cloud-wide ones.

Nevertheless, the transceiver is one of the most power consuming components of a mobile wireless device. Since the medium access layer controls when a transmission takes place, it has significant impact on overall energy consumption and consequently on the lifetime of a device. In this direction, we investigate the potential of sleep modes when several wireless devices compete for medium access. In order to characterize the resulting energy-throughput trade off, we calculate the optimal throughput under energy constraints and we model contention for wireless medium as a non-cooperative game. The strategy of each user consists of its access probability and its sleep mode schedule. We show that the resulting game has a unique Nash Equilibrium Point and that energy constraints reduce the negative impact of selfish behaviour, leading to bounded price of anarchy. We devise also a modified medium access scheme, where the state of the medium can be sampled in the beginning of each frame and show that it leads to improved exploitation of the medium without any explicit cooperation.

Finally, we move to a scenario where concurrent transmissions over the same channel are not destructive but lead to reduced performance due to interference. In this context, we consider the problem of joint relay assignment and power control. We develop interference-aware sum-rate maximization algorithms that make use of a bipartite maximum weight matching formulation of the problem and geometric programming and are amenable to distributed implementation. We also identify the importance of interference for cell-edge users in cellular networks and demonstrate that our schemes bring together two main features of next generation communication systems, namely interference management and relaying.

Key words: energy efficiency, power grid, wireless communications

Three - Member Supervisory Committee

Leandros Tasioulas, Professor, resource allocation in communication, fundamental mathematical models of communication networks, Department of Electrical and Computer Engineering, University of Thessaly, Greece

Iordanis Koutsopoulos, Assistant Professor, network control and optimization, Network Economics and Game Theory in Resource Allocation problems, Department of Informatics, Athens University of Economics and Business, Greece

Slawomir Stanczak, Associate professor in communications engineering, resource allocation and interference management in wireless networks, distri-buted wireless networking, relaying and cooperative systems, Technical University of Berlin, Germany

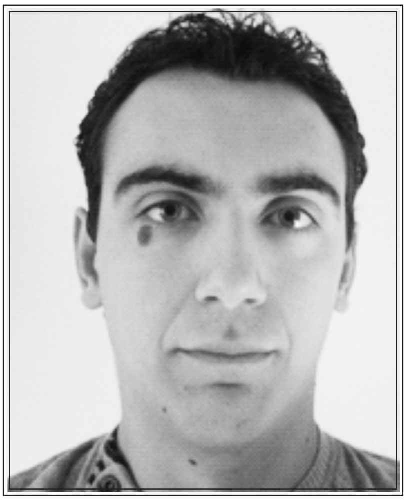
Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ»
Scientific works within the programme “Heraclitus II”

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. Sourlas, V., **Gkatzikis, L.**, Flegkas, P., Tassiulas, L. (2013). Autonomic Cache Management and Performance Limits in Information-Centric Networks. *IEEE Transactions on Network and Service Management*, *10*(3), 286-299.
2. **Gkatzikis L.**, Koutsopoulos, I., Salonidis, T. (2013). The Role of Aggregators in Smart Grid Demand Response Markets. *IEEE JSAC- Special series on Smart Grid Communications*, *31*(7), 1247 – 1257.
3. **Gkatzikis, L.**, Koutsopoulos I. (2013). “Migrate or Not? Exploiting Dynamic Task Migration in Mobile Cloud Computing Systems”. *IEEE Wireless Communications Magazine*: *Special Issue on Mobile cloud computing*, *20*(3), 24-32.

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων – βιβλία περιλήψεων
Presentations in conference proceedings – books of abstracts

1. **Gkatzikis, L.**, Tryfonopoulos, T., Koutsopoulos, I. (2012). An Efficient Probing Mechanism for Next Generation Mobile Broadband Systems. *IEEE Wireless Communications and Networking Conference (WCNC)* (pp. 1191-1195). Paris, France:IEEE.
2. Sourlas, V., Flegkas, P., **Gkatzikis, L.**, Tassiulas, L. (2012). Autonomic Cache Management in Information-Centric *Networks.13th IEEE/IFIP Network Operations and Management Symposium (NOMS 2012)* (pp. 121-129).Hawaii, USA: IEEE/IFIP.
3. **Gkatzikis, L.**, Paschos, G.S., Koutsopoulos, I. (2011). Medium Access Games: The impact of energy constraints. *International Conference on Network Games, Control and Optimization (NETGCOOP)* (pp.1 – 8). Paris, France: EuroNF.
4. Sourlas, V., **Gkatzikis, L.**, Tassiulas, L. (2011). On-Line Storage Management with Distributed Decision Making for Content-Centric Networks. *7th Conference on Next Generation Internet (NGI)* (pp. 1-8). Kaiserslautern, Germany: EuroNF.



Σύντομο Βιογραφικό

Ο **Λάζαρος Γκατζίκης** είναι ερευνητής στο KTH Royal Institute of Technology, στη Στοκχόλμη της Σουηδίας. Εργάζεται στο σχεδιασμό αλγορίθμων ανάθεσης πόρων για τη βελτιστοποίηση της απόδοσης δικτυακών συστημάτων, όπως τα δίκτυα κινητής τηλεφωνίας επόμενης γενιάς και τα ασύρματα δίκτυα αισθητήρων.

Απέκτησε το Δίπλωμα μηχανικού Η/Υ και Τηλεπικοινωνιών, το Σεπτέμβρη του 2006 και το Μεταπτυχιακό ως μηχανικός τηλεπικοινωνιών, το Φεβρουάριο του 2008, από το Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.Έλαβε το Διδακτορικό του, με τίτλο "Τεχνικές Βελτιστοποίησης και Θεωρίας Παιγνίων για Δικτυακά Συστήματα Περιορισμένης Ενέργειας και Ευφυή Δίκτυα Ηλεκτρισμού" από το ίδιο Πανεπιστήμιο, το 2013.

Έχει συμμετάσχει σε διάφορα ερευνητικά προγράμματα της Ευρωπαϊκής Ένωσης, όπως το OPNEX – "Optimization-driven Multi-hop Network Design and Experimentation" και το NET-REFOUND – "Network Research Foundations", ως εξωτερικός συνεργάτης στο Ινστιτούτο Πληροφορικής και Τηλεματικής του Εθνικού Κέντρου Έρευνας και Τεχνολογικής Ανάπτυξης (ΙΠΤΗΛ-ΕΚΕΤΑ).

Την περίοδο 2008 – 2010, διετέλεσε εργαστηριακός συνεργάτης στο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα της Λάρισας. Επίσης, έχει εργαστεί στο ερευνητικό κέντρο της Technicolor στο Παρίσι, στο σχεδιασμό αποδοτικών μεθόδων δυναμικής τιμολόγησης ρεύματος για έξυπνα δίκτυα ηλεκτρισμού.

Έχει λάβει υποτροφία για την πραγματοποίηση της διδακτορικής του διατριβής από το πρόγραμμα Ηράκλειτος-ΙΙ κι από το Ericsson Award of Excellence, για την προπτυχιακή διπλωματική του εργασία. Τα ερευνητικά του ενδιαφέροντα περιλαμβάνουν θεωρία παιγνίων και βελτιστοποίησης και τις εφαρμογές τους σε δικτυακά συστήματα.

Short CV

Lazaros Gkatzikis is currently a Research Associate at KTH Royal Institute of Technology, in Stockholm, Sweden. He is working on the design of optimization-based schemes for a diverse set of scenarios, covering resource allocation in next generation communication networks and wireless sensor networks.

He obtained the Diploma of Computer Engineering and Communications, in 2006 and the M.S. degree in Computer science, in 2008, from University of Thessaly (UTH), Greece. He received his Ph.D. degree in Electrical and Computer Engineering from the same University, in 2013.

He has participated in several European research projects, such as OPNEX – "Optimization-driven Multi-hop Network Design and Experimentation" and NET-REFOUND – "Network Research Foundations" as an external researcher of the Centre for Research & Technology Hellas, Institute for Telematics and Informatics (CERTH-ITI).

From 2008 to 2010, he served as a laboratory collaborator in the Technological Educational Institute of Larissa. He has also been a research intern at the Technicolor Paris Research Lab, working on the design of efficient dynamic pricing schemes for the smart grid. He has received a PhD scholarship from the programme "Heraclitus II" and an Ericsson Award of Excellence for best undergraduate thesis. His research areas of interest include optimization and game theory and their application in networked systems.

Κωνσταντίνος Κατσαλής

Διαφοροποίηση Υπηρεσιών σε Αρχιτεκτονικές Εικονικών Δικτύων που βασίζονται στην Παροχή Υπηρεσιών

Περίληψη

Στις σημερινές υποδομές πληροφοριακών συστημάτων, τα κύρια χαρακτηριστικά είναι η ετερογένεια και ανομοιογένεια και σε επίπεδο υλικού και σε επίπεδο λογισμικού. Η χρήση εφαρμογών που βασίζονται σε διαφορετικές πλατφόρμες, διαφορετικές γλώσσες προγραμματισμού, πολλούς και διαφορετικούς τρόπους αναμετάδοσης πληροφοριών, διαφορετικούς τύπους συστημάτων βάσεων δεδομένων και διαφορετικές τεχνολογίες πρόσβασης, έχει οδηγήσει σε πολύ δύσκολη ή και αδύνατη διασυνδεσιμότητα αυτών των εφαρμογών, σε περιττή πολυπλοκότητα, αναποτελεσματική χρήση των πόρων και μειωμένη απόδοση των πληροφοριακών συστημάτων.

Επιπλέον, νέες αρχιτεκτονικές δικτύων που υιοθετούν τις αρχές της εικονικής σχεδίασης (virtualization) και τον έλεγχο της υποδομής, σύμφωνα με το software defined networking παράδειγμα, σε όλους τους τομείς της τεχνολογίας, είναι απολύτως απαραίτητες προς το όραμα της οικοδόμησης οικοσύστηματων τεχνολογίας σύννεφου (cloud computing). Μια υποδομή end-to-end διευκολύνει τη διασύνδεση των κέντρων δεδομένων με σταθερούς και κινητούς τελικούς χρήστες μέσω ετερογενών δικτύων σε πολλούς τομείς, ενσωματώνοντας οπτικά δίκτυα με τεχνολογίες ασύρματου δικτύου πρόσβασης. Με δεδομένη την εμφάνιση των τεχνολογιών υπολογιστικού νέφους, καθώς και τις διαφορετικές ανάγκες σε ποιότητα υπηρεσίας (QoS) των μελλοντικών κινητών υπηρεσιών cloud, οι νέες αρχιτεκτονικές απαιτείται να διευκολύνουν τον προγραμματισμό και έλεγχο των δικτύων. Οι σχετικοί μηχανισμοί διαχείρισης και ελέγχου που είναι σε θέση να παρέχουν εγγυήσεις εξυπηρέτησης σε κάθε εικονικό δίκτυο δεν έχουν αναλυθεί επαρκώς, ενώ είναι απολύτως αναγκαίοι για τη λειτουργία των δικτύων και ζωτικής σημασίας για να πετύχει η software defined networking προσέγγιση.

Ο κύριος στόχος της διατριβής αυτής είναι να διερευνήσει και να αναπτύξει βασικές λειτουργίες διαχείρισης δικτύου για τη διαφοροποίηση των υπηρεσιών μεταξύ τάξεων πελατών σε εικονικά end-to-end περιβάλλοντα δικτύου. Χρησιμοποιώντας την κλασική ορολογία, μια διαφοροποιημένη υπηρεσία δε δίνει εγγυήσεις υπηρεσιών ανά ενοικιαστή δικτύου, αλλά διαφοροποιεί την κυκλοφορία και επιτρέπει την προνομιακή μεταχείριση της μιας τάξης κυκλοφορίας σε σχέση με την άλλη. Λόγω των επιπτώσεων πολλαπλών μισθώσεων και της επίδρασης του χρόνου στις μεταβαλλόμενες συνθήκες φόρτου εργασίας, η εφαρμογή της θεωρίας στοχαστικού ελέγχου απαιτείται, προκειμένου να αναλυθεί με αυστηρότητα η απόδοση των πολιτικών που είναι σε θέση να επιτύχει τους στόχους της διαφοροποίησης υπηρεσιών, καθώς και να υποστηρίξει την πλήρη κατανεμημένη φύση των σημερινών και μελλοντικών εφαρμογών, τόσο σε πληροφοριακά συστήματα ενδοεταιρικών δικτύων και σε επιχείρηση προς επιχείρηση συνδέσεις όσο και στον παγκόσμιο ιστό.

Παρ' όλη τη θεωρητική ανάλυση, υπάρχει πάντα ο κίνδυνος η μελέτη να γίνεται σε πλαίσιο που δεν έχει την προοπτική δυνατότητα εφαρμογής. Προς αυτή την κατεύθυνση, ένας άλλος στόχος της διατριβής ήταν να καταλήξει με το σχεδιασμό μιας ρεαλιστικής, multi-domain end-to-end SDN αρχιτεκτονικής, που εκτείνεται από το δίκτυο ασύρματης πρόσβασης μέχρι το virtualized data-center που μπορεί να χρησιμεύσει ως το ισόγειο, κατά την οποία τα προβλήματα της διαφοροποίησης των υπηρεσιών διερευνώνται. Σε αυτή την εργασία, παρουσιάζουμε το σχεδιασμό αυτής της multi-domain αρχιτεκτονικής, που εκτείνεται από το δίκτυο ασύρματης πρόσβασης μέχρι το virtualized data-center. Παρουσιάζουμε τη γενική έννοια, όπου η έρευνά μας επικεντρώνεται στο ασύρματο κομμάτι της αρχιτεκτονικής. Επιπλέον, αναπτύσσονται και αναλύονται αλγόριθμοι κλειστού βρόχου με ανάδραση και αλγόριθμοι που βασίζονται στη θεωρία ουρών, που χρησιμοποιούνται για την εγγυημένη διαφοροποίηση των υπηρεσιών. Στο κέντρο της έρευνας βρέθηκε η προσπάθεια βελτιστοποίησης των διαδικασιών και μοντελοποίησης συστημάτων δικτύων προανατολισμένων στις υπηρεσίες με τη χρήση μαθηματικών εργαλείων όπως ο γραμμικός και μη γραμμικός προγραμματισμός, οι στοχαστικές διαδικασίες, η θεωρία ουρών, η θεωρία παιγνίων, η ανάλυση κυρτότητας κ.α.

Στοχαστική ανάλυση είναι το εργαλείο που χρησιμοποιήσαμε για να αποδειχθεί μια σειρά από ιδιότητες από την τάξη των πολιτικών, όπως ανάλυση σταθερής κατάστασης και ταχύτητα σύγκλισης. Επιπλέον, παρουσιάσαμε ένα μαθηματικό πλαίσιο για την αποτελεσματική τοποθέτηση περιεχομένου με τη σχετική προσέγγιση βελτιστοποίησης για δίκτυα αρχιτεκτονικής με περιβάλλοντα πολλαπλών τομέων. Οι προτεινόμενες πολιτικές αξιολογήθηκαν τόσο θεωρητικά όσο και από προσομοιώσεις, ενώ επίσης

και με εφαρμογή σε περιβάλλον πλατφόρμας δοκιμών.

Σημειώνουμε πως το μαθηματικό πλαίσιο που αναπτύχθηκε μπορεί να εφαρμοστεί σε διάφορα σημεία ελέγχου στην αρχιτεκτονική (π.χ. http δρομολογητές, ουρές οδήγησης ασύρματου μέσου, συστήματα server) και διάφορα προβλήματα όπου απαιτείται υπηρεσία εγγύησης ανά κατηγορία πελατών. Κατά τη διάρκεια της πρώτης περιόδου εκπόνησης της διδακτορικής διατριβής, πραγματοποιήθηκε βιβλιογραφική έρευνα στο πεδίο των service oriented architectures, distributed systems και middleware και επίσης, μελετήθηκε ο ρόλος των hardware ESB συσκευών, γνωστών και ως XML Appliances στις σύγχρονες τοπολογίες δικτύων. XML Appliances είναι hardware server-middleware συστήματα ειδικού σκοπού, ώστε οι επιχειρήσεις να μπορούν με οικονομικά αποδοτικό τρόπο να αξιοποιήσουν πλήρως τις δυνατότητές των αρχιτεκτονικών προσανατολισμένων στις υπηρεσίες. Μελετήθηκαν σε end-to-end τοπολογίες δικτύων και εντοπίστηκαν σημεία όπου μπορούν να εφαρμοστούν νέες τεχνικές βελτιστοποίησης όσον αφορά τη χρήση πόρων του δικτύου και των συσκευών αυτών. Αυτό που θέλαμε να επιτύχουμε ήταν αρχικά η κατανόηση σε βάθος των προβλημάτων ανομοιογένειας που υπάρχουν στα υφιστάμενα Πληροφορικά Συστήματα, καθώς και μελέτη των υπαρχόντων τεχνολογιών και των δυνατοτήτων αυτών. Βασική βιβλιογραφική έρευνα, σε όλη τη διάρκεια του διδακτορικού, πραγματοποιήθηκε επίσης στην περιοχή του στοχαστικού ελέγχου συστημάτων και στην περιοχή του network and systems optimization, κυρίως όσον αφορά τεχνικές feedback control σε συνδυασμό με queueing μοντέλα. Στο αρχικό στάδιο εκπόνησης της διατριβής, υλοποιήθηκε ένας custom discrete event network simulator σε C# .NET 3.5 με μια αντίστοιχη JavaVersion υλοποιημένη σε NetBeans 7, ο οποίος και χρησιμοποιείται καθ' όλη τη διάρκεια του διδακτορικού, προκειμένου να γίνονται όλες οι απαραίτητες εξομοιώσεις και πειράματα.

Αποτελέσματα της αρχικής μελέτης δημοσιεύθηκαν στην εργασία “Distributed Resource Allocation Mechanism for SOA Service Level Agreements”,στο συνέδριο IEEE-IFIP, The Fourth IFIP International Conference on New Technologies, Mobility and Security Program (NTMS 2011). Κατά τη διάρκεια των μηνών Ιουνίου 2012- Ιουλίου 2012, κατατέθηκε προς αξιολόγηση η εργασία με τίτλο “Dynamic CPU Scheduling for QoS Provisioning” στα πρακτικά του συνεδρίου IEEE IM 2013 όπου και εγκρίθηκε η δημοσίευσή της, ενώ πραγματοποιήθηκε μέρος της εργασίας με τίτλο “Service Differentiation in Multitier Data Centers”, για να κατατεθεί προς αξιολόγηση στο συνέδριο IEEE ICC 2013, όπου επίσης εγκρίθηκε η δημοσίευση της. Η μελέτη και στις δύο εργασίες αφορούσε στοχαστικό έλεγχο δυναμικών συστημάτων, με την έμφαση να δίνεται αρχικά σε διαδικασίες scheduling (IM paper) και σε διαδικασίες buffering (ICC paper).

Το επόμενο διαστημα και μέχρι τον Απρίλιο του 2014, δόθηκε ιδιαίτερη έμφαση στη μαθηματική ανάλυση ουρών και στοχαστικών διαδικασιών των ανωτέρω συστημάτων, με σκοπό τη δημοσίευση των αποτελεσμάτων σε επιστημονικό περιοδικό. Πιο συγκεκριμένα, κατατέθηκε στο επιστημονικό περιοδικό “Transactions on Network and Service Management (TNSM), IEEE” η εργασία με τίτλο “CPU Provisioning Algorithms for Service Differentiation in Cloud-based Environments”. Σε αυτή την εργασία, δόθηκε έμφαση στη μοντελοποίηση μια μεγάλης οικογένειας δυναμικών schedulling αλγορίθμων με μαθηματική απόδειξη σύγκλισης και μελέτη χαρακτηριστικών όπως του ρυθμού σύγκλισης.

Λέξεις κλειδιά: Αρχιτεκτονικές Δικτύων Προσανατολισμένων στην παροχή Υπηρεσιών, Διαφοροποίηση Υπηρεσιών, Διαφάλιση Ποιότητας, Δικτύα που βασίζουν τη λειτουργία τους στο Λογισμικό, Τεχνολογίες Σύννεφου, Θεωρία Ελέγχου, Θεωρία Ουρών

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Αικατερίνη Χούστη, Καθηγήτρια, Δίκτυα Υπολογιστών, Τμήμα Ηλεκτρολόγων Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Λεωνίδας Γεωργιάδης, Καθηγητής, Δίκτυα Υπολογιστών, Τμήμα Ηλεκτρολόγων Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Ιωάννης Βινιώτης, Καθηγητής, Δίκτυα Υπολογιστών, North Carolina State University, USA

Konstantinos Katsalis

Service Differentiation in Virtual Service-Based Architectures

Abstract

In today's information systems infrastructures, the main feature is heterogeneity in both hardware and software levels. Uneven applications are deployed

on different platforms, different programming languages, many different ways of broadcasting information, different types of database systems and different access technologies. This heterogeneity makes the interconnection of these applications very difficult or even impossible, increases unnecessary complexity and makes the use of resources and reduced performance of information systems inefficient.

In addition, an end-to-end architecture that adopts virtualization and control concepts according to the Software Defined Networking (SDN) paradigm, across all technology domains, is absolutely essential towards the vision of building a complete cloud ecosystem. An end-to-end infrastructure facilitates the interconnection of data centers with fixed and mobile end users through heterogeneous multi-domain networks, seamlessly integrating optical metro and wireless access network technologies. Given the emergence of cloud computing technologies as well as the diverse QoS needs of future cloud and mobile cloud services, new architectures are required, that facilitate network programmability and control. In addition, the relevant management and control mechanisms that are able to provide service guarantees to every virtual network have not been adequately addressed, yet they are absolutely essential for the relevant network operations and crucial for the SDN paradigm to succeed.

The main goal of this dissertation is to investigate and develop key network management functions for differentiating services between classes of customers in virtual end-to-end environments. In principle, and using the classical terminology, a differentiated service doesn't give service guarantees per tenant network, rather it differentiates traffic and allows a preferential treatment of one traffic class over the other. Due to multi-tenancy effects and the presence of time varying workload conditions, the application of stochastic control theory is required, in order to rigorously analyze the performance of policies that are able to achieve differentiation objectives and support the fully distributed nature of current and future applications in both information systems and internet networks and the web.

Due to the allure of the virtual world, there is always the danger of getting caught up in frameworks that lack the implementability perspective. Towards this direction, another goal of this dissertation was to come up with the design of a realistic end-to-end, multi-domain SDN architecture, which spans from the wireless access network up to the virtualized data-center that can serve as the ground-floor over which the service differentiation problems are investigated. In this thesis, we present the design of this multi-domain SDN architecture, which spans from the wireless access network up to the virtualized data-center. We present the general concept, where our research work targets the wireless domain of the architecture. Furthermore, we developed and analyzed closed loop, feedback-based scheduling and en-queueing algorithms, used for guaranteed service differentiation. Our research also involved optimization effort procedures and modelling of network systems, using mathematical tools such as linear and non-linear programming, the stochastic processes, queuing theory, game theory, the curvature analysis etc.

Stochastic analysis is the tool that we used to prove a number of properties from the class of policies defined, like steady state analysis and speed of convergence. The proposed policies were evaluated both theoretically and by simulations, while also implementation of the policies was made in a testbed environment. In addition, a mathematical framework for efficient content placement and the relevant optimization approach for networks that are built over the architecture in multi-domain environments, was also presented.

The framework developed is applicable in various control points on the architecture (e.g. http routers, wireless driver queues, server systems) and various problems where guarantee service is required per customer class. During the first period elaborating the thesis, a literature search in the fields of service oriented architectures, distributed systems and middleware was performed, while also the role of hardware ESB known devices and service appliances in modern network topologies was studied. Service appliances are hardware server-middleware special purpose systems that businesses can cost-effectively to fully exploit the potential of architectures orientated to services. They were studied in end-to-end network topologies where we also identified points that allow for new optimization techniques. What we wanted to achieve is in-depth understanding of the problems encountered in existing heterogeneous information systems and study of existing technologies. Basic bibliographic research throughout the doctoral were also held in the area of stochastic control systems, in probability theory, in queueing theory and in the area of network and systems optimization, mainly as reference technical feedback control in combination with queueing models. At the initial stage of the thesis, a custom discrete event network simulator was built in C # .NET 3.5 with a corresponding Java Version materialized in NetBeans 7, which is used throughout the course of doctoral in order to perform any necessary simulations and experiments.

Results of our study were published in the work "Distributed Resource Allocation Mechanism for SOA Service Level Agreements" IEEE-IFIP Conference, The Fourth IFIP International Conference on New Technologies, Mobility and Security Program (NTMS 2011). During the months June 2012- July 2012 we submitted for assessment the work entitled "Dynamic CPU Scheduling for QoS Provisioning" in the conference IEEE IM 2013, where it was accepted for publication, while the work entitled "Service Differentiation in Multitier Data Centers" was submitted for assessment to the IEEE ICC 2013 conference and was published. The study in both operations was related to stochastic dynamic control systems with the emphasis given to schedulling procedures (IM paper) and buffering processes (ICC paper).

The next period, a particular emphasis was given on the mathematical analysis of queues and stochastic processes of these systems with a view to publishing the results in a scientific journal. More specifically, we published in journal "Transactions on Network and Service Management (TNSM), IEEE the paper entitled "CPU Provisioning Algorithms for Service Differentiation in Cloud-based Environments". In this study, we focused on modelling a large family of dynamic schedulling algorithms with mathematical proof of convergence and study characteristics such as the convergence rate.

Key words: Service Oriented Network Architectures, Service Differentiation, QoS, Software Defined Networks, Cloud Computing, Distributed Computing, Control Theory, Queueing Theory

Three- Member Supervisory Committee

Catherine Chousti, Professor, Computer Networks, University of Thessaly, Greece

Leonidas Georgiadis, Professor, Computer Networks, Aristotle University of Thessaloniki, Greece

Yiannis Viniotis, Professor, Computer Networks, North Carolina State University, USA

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος « Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the program "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Katsalis, K.**, Paschos, G.S., Viniotis, Y., Tassiulas, L. (2015). CPU Provisioning Algorithms for Service Differentiation in Cloud-Based Environments. *Transactions on Network and Service Management*, IEEE, *12*(1), 61-74.

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων – βιβλίαπεριλήψεων Publications in conference proceedings – books of abstracts

1. **Katsalis, K.**, Paschos, G.S., Tassiulas, L., Viniotis, Y. (2013). Dynamic CPU scheduling for QoS provisioning. *IFIP/IEEE International Symposium on Integrated Network Management (IM 2013)* (pp. 630-635). Ghent, Belgium:IFIP/IEEE.
2. **Katsalis, K.**, Paschos, G.S., Tassiulas, L., Viniotis, Y. (2013). *Service differentiation in multitier data centers. International Conference on Communications (ICC), IEEE* (pp. 2567-2572). Budapest, Hungary: IEEE.
3. **Katsalis, K.**,Tassiulas, L.,Viniotis, Y. (2011). Distributed Resource Allocation Mechanism for SOA Service Level Agreements. *4th IFIP International Conference on New Technologies, Mobility and Security (NTMS)* (pp.1-6). Paris:IFIP/IEEE

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες Presentations in scientific conferences and meetings- workshops

1. **Κατσαλής, Κ.** (2014, Απρίλιος). *Παρουσίαση του θέματος και της προόδου της διδακτορικής διατριβής*. Προφορική ανακοίνωση σε Ημερίδα, τμήμα Ηλεκτρολόγων Μηχ/κών και Μηχ/κών Υπολογιστών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Βόλος.

   Katsalis, K. (2014, April). *Workshop presentation for disseminating PhD activities*. Paper presented at Workshop, School of Engineering, University of Thessaly, Volos, Greece.

Σύντομο Βιογραφικό

Ο **Κωνσταντίνος Κατσαλής** του Σέργιου έλαβε το Δίπλωμα του Ηλεκτρολόγου Μηχανικού και Τεχνολογίας Η/Υ από το Πανεπιστήμιο Πατρών (2005) και το Μεταπτυχιακό Επιστήμης και Τεχνολογίας Η/Υ, Τηλεπικοινωνιών και Δικτύων από το Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, το 2007. Είναι συνεργάτης έρευνας στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας και στο Ινστιτούτο Πληροφορικής και Τηλεματικής (Ι.Π.ΤΗΛ.) του Εθνικού Κέντρου Έρευνας και Τεχνολογικής Ανάπτυξης (Ε.Κ.Ε.Τ.Α.), από τον Αύγουστο του 2010. Επίσης, είναι Διδάκτωρ του Τμήματος Ηλεκτρολόγων Μηχανικών και Μηχανικών Η/Υ του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Η περιοχή έρευνας της διδακτορικής διατριβής του αφορά τη θεωρία στοχαστικού ελέγχου συστημάτων, τη θεωρία ουρών, τις αρχιτεκτονικές δικτύων προσανατολισμένες στην παροχή υπηρεσιών, τη διασφάλιση ποιότητας εξυπηρέτησης κατανεμημένων συστημάτων, τη διαχείριση και μοντελοποίηση δικτύων σε εικονικά δίκτυα και cloud computing περιβάλλοντα.

Short CV

Konstantinos Katsalis received his Diploma in Electrical and Computer Engineering, University of Patras (2005) and his MSc in Computer and Communication Engineering, University of Thessaly (2007). Since August 2010, he is a research partner in the University of Thessaly and in the Informatics and Telematics Institute (ITI) of the Center for Research and Technology Hellas (CERTH). He also completed a PhD at the Computer and Communication Engineering Department in the University of Thessaly. His research interests focus on Stochastic Control Theory, Queueing theory, Distributed Systems, service based architectures, QoS, Modelling and management of computer networks, virtual networks, SDN and cloud computing technologies.

Σούρλας Βασίλειος

Διαχείριση Αντιγράφων και Δρομολόγησης σε Δίκτυα που Οργανώνονται με βάση το Περιεχόμενο

Περίληψη

Η διαδικασία διανομής περιεχομένου στο Διαδίκτυο τοποθετεί τους παρόχους περιεχομένου σε δεσπόζουσα θέση, με την παράδοση του περιεχομένου να συμβαίνει μεταξύ δύο τελικών σημείων, δηλαδή από τους παρόχους περιεχομένου στους καταναλωτές. Αυτό το μοντέλο οδηγείται από το υποκείμενο παράδειγμα δρομολόγησης του Διαδικτύου, δηλαδή της μεταφοράς πακέτων δεδομένων από το ένα τελικό σημείο στο άλλο. Αυτό το βασισμένο στην περιοχή (location-centric) μοντέλο περιορίζει τη δυνατότητα να αξιοποιηθούν πλήρως οι πόροι που είναι διαθέσιμοι κατά μήκος της διαδρομής από τον πάροχο στον καταναλωτή, όπως, για παράδειγμα, η προσωρινή δυνατότητα αποθήκευσης (caching). Τα δίκτυα που οργανώνονται με βάση το περιεχόμενο (Information-Centric Networks, ICN) έχουν προταθεί ως μια εναλλακτική της host-to-host επικοινωνίας σε μια host-to-content μορφή επικοινωνίας ή με άλλα λόγια από την άκρο σε άκρο μορφή επικοινωνίας σε ένα εγγενές δίκτυο διανομής περιεχομένου. Η τάση αυτή έχει προσελκύσει την προσοχή της ερευνητικής κοινότητας, η οποία υποστηρίζει ότι το περιεχόμενο, αντί των τελικών σημείων, πρέπει να είναι στο επίκεντρο της προσοχής. Οι προσπάθειες αυτές υπόσχονται, μεταξύ άλλων, μεγαλύτερη ευελιξία για την προσαρμογή στις νέες υπηρεσίες, βελτίωση της απόδοσης στα κατώτερα στρώματα του δικτύου και εγγενή υποστήριξη πολλαπλής διανομής (multicast).

Με δεδομένη την εμφάνιση ICN λύσεων, οι σχετικές ανάγκες διαχείρισης όσον αφορά τις επιδόσεις δεν έχουν επαρκώς οριστεί, παρά το γεγονός ότι είναι απολύτως απαραίτητες για τη σχετική λειτουργία του δικτύου και ζωτικής σημασίας για την επιτυχία των ICN προσεγγίσεων. Η έννοια της ροής, για παράδειγμα, είναι εντελώς διαφορετική στα ICN δίκτυα σε σύγκριση με το IP δίκτυο και θεμελιώδης έρευνα είναι αναγκαία, ώστε να γνωρίζουμε πώς χρησιμοποιείται το δίκτυο. Οι διάφορες προσεγγίσεις για τη διαχείριση των επιδόσεων και της κυκλοφορίας οφείλουν για παράδειγμα να ελέγξουν τη δρομολόγηση, να ρυθμίσουν τη λογική των πολιτικών αντικατάστασης στις προσωρινές μονάδες αποθήκευσης και να ελέγξουν που αποθηκεύεται κάθε στοιχείο πληροφορίας. Ως εκ τούτου, υπάρχει επείγουσα ανάγκη για τη διαχείριση των πόρων των ICN δικτύων και στην πραγματικότητα για το σχηματισμό του επιπέδου διαχείρισης και του επιπέδου ελέγχου τα οποία είναι απαραίτητα για την επιτυχία των δικτύων που οργανώνονται με βάση το περιεχόμενο ως μια νέα μορφή τεχνολογίας. Η συγκεκριμένη εργασία στοχεύει να δώσει λύσεις σε κρίσιμα προβλήματα που παραμένουν, όπως η διαχείριση των ICN δικτύων η οποία δεν έχει ακόμη αντιμετωπιστεί, με επίκεντρο τα βασικά χαρακτηριστικά της διαχείρισης της δρομολόγησης και των τεχνικών προσωρινής αποθήκευσης.

Ο κύριος στόχος μας είναι να διερευνήσουμε και να αναπτύξουμε βασικές λειτουργίες διαχείρισης των ICN δικτύων που σχετίζονται με τη δρομολόγηση και τη διαχείριση της προσωρινής αποθήκευσης. Συγκεκριμένα, έχουμε αναπτύξει μηχανισμούς που διαχειρίζονται τις διαδικασίες δρομολόγησης, επηρεάζοντας τη διαβίβαση των interest/subscription πακέτων και παίρνουν αποφάσεις για το πού και ποιο κομμάτι πληροφορίας θα αποθηκευτεί στην προσωρινή μνήμη (cache), ενώ επίσης επηρεάζουν τις πολιτικές αντικατάστασης σε αυτή. Ο στόχος είναι να βελτιωθεί η λειτουργία και η συνολική χρησιμότητα των ICN αρχιτεκτονικών χρησιμοποιώντας την προσωρινή αποθήκευση ως εγγενή αρχιτεκτονική λειτουργία. Τόσο ευκαιριακές μορφές προσωρινής αποθήκευσης όσο και υπηρεσίες διατήρησης αντιγράφων (CDN-like replication) εξετάζονται για την αντιμετώπιση αυτής της πρόκλησης. Έχουμε επινοήσει επίσης ένα σύνολο μηχανισμών προσωρινής αποθήκευσης, τους οποίους αξιολογούμε μέσω κατάλληλων αναλυτικών μοντέλων και οι οποίοι όχι μόνο βελτιώνουν σημαντικά τη συνολική ωφέλεια του δικτύου, αλλά και αποδεικνύουν την περαιτέρω δυναμική της συγκεκριμένης αρχιτεκτονικής που βασίζεται στο περιεχόμενο της πληροφορίας.

Αρχικά, περιγράφουμε ένα πλαίσιο τριών φάσεων, ως συμβολή στο πρόβλημα της αντιγραφής πληροφοριών στα ICN (replication) δίκτυα. Ο στόχος του προτεινόμενου πλαισίου είναι να ελαχιστοποιηθεί το συνολικό φορτίο της κυκλοφορίας στο δίκτυο, μέσα από την εγκατάσταση ενός προκαθορισμένου αριθμού συσκευών αντιγραφής και δεδομένου ότι κάθε συσκευή έχει πεπερασμένη δυνατότητα αποθήκευσης. Συγκεκριμένα, παρουσιάζουμε και αξιολογούμε ένα νέο αλγόριθμο για την επιλογή των θέσεων του δικτύου για την εγκατάσταση των συσκευών αντιγραφής. Επίσης, προτείνουμε δύο εναλλακτικούς off-line μηχανισμούς για την εκχώρηση των αντιγράφων κάθε στοιχείου πληροφορίας μεταξύ των επιλεγμένων συσκευών αντιγραφής. Προτείνουμε επίσης μια κατανεμημένη αρχιτεκτονική διαχείρισης των αντιγράφων της πληροφορίας που δυναμικά αναθέτει /

αλλάζει τα αποθηκευμένα αντίγραφα, προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί το συνολικό κόστος της κυκλοφορίας του δικτύου που προκύπτει από τα αιτήματα των χρηστών. Συγκεκριμένα, προτείνουμε τέσσερεις κατανεμημένους on-line αλγορίθμους διαχείρισης μνήμης, τους κατηγοριοποιούμε ανάλογα με το επίπεδο συνεργασίας που απαιτούν μεταξύ των κόμβων του δικτύου και τους συγκρίνουμε με βάση την απόδοση τους, την πολυπλοκότητά τους καθώς και το χρόνο σύγκλισης. Επίσης, υπολογίζουμε το κάτω όριο του συνολικού κόστους της κυκλοφορίας του δικτύου για μια ορισμένη κατηγορία τοπολογιών δικτύου και δείχνουμε ότι οι προτεινόμενοι αλγόριθμοι διαχείρισης των αντιγράφων της πληροφορίας αποδίδουν πολύ κοντά σε αυτό το κάτω όριο.

Παρουσιάζουμε και αποσυνθέτουμε ένα πλαίσιο ευκαιριακής προσωρινής αποθήκευσης σε ένα σύνολο βασικών πολιτικών, παραθέτουμε σε κάθε υποσύνολο τις πιο γνωστές πολιτικές και εισάγουμε μια ICN πολιτική σε κάθε ένα από αυτά τα υποσύνολα. Αναλύουμε επίσης ένα στοχαστικό μοντέλο που αποτυπώνει τη δυναμική των νέων προτεινόμενων πολιτικών και περιγράφουμε μια υλοποίηση του προτεινόμενου ευκαιριακού μηχανισμού αποθήκευσης, τον οποίο αξιολογούμε πειραματικά στο πειραματικό δίκτυο Planet Lab. Επιπλέον, προτείνουμε ένα νέο μηχανισμό δρομολόγησης, που λαμβάνει υπόψη τις δυνατότητες της ευκαιριακής προσωρινής αποθήκευσης των κόμβων του δικτύου. Συγκεκριμένα, παρουσιάζουμε έναν αλγόριθμο δυναμικού προγραμματισμού (DP) για τον υπολογισμό των διαδρομών ελαχίστου κόστους με βάση τα παρατηρούμενα μοτίβα που ακολουθούν οι επιθυμίες των χρηστών, προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί το συνολικό κόστος μεταφοράς της πληροφορίας στο δίκτυο που επιβάλλεται από τα αιτήματα τους.

Λέξεις κλειδιά: Διαχείριση δικτύων, Δίκτυα που οργανώνονται με βάση το περιεχόμενο, Διαχείριση αντιγράφων πληροφορίας, Δρομολόγηση, Δυναμικός προγραμματισμός

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Λέανδρος Τασιούλας, Καθηγητής, Τηλεπικοινωνιακά Δίκτυα, Τμήμα Ηλεκτρολόγων Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος

Σπυρίδων Λάλης, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τεχνολογίες Λογισμικού Λειτουργικών και Κατανεμημένων Συστημάτων, Τμήμα Ηλεκτρολόγων Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος

Γεώργιος Παύλου, Καθηγητής, Διαχείριση Τηλεπικοινωνιακών Δικτύων, Τμήμα Ηλεκτρολόγων Μηχανικών, UCL, London, UK

Vasileios Sourlas

Replication Management and Cache Aware Routing in Information-Centric Networks

Summary

Content distribution in the Internet places content providers in a dominant position, with delivery happening directly between two end-points, that is, from content providers to consumers. This model is driven by the underlying Internet routing paradigm, namely that of transferring datagrams from one routable endpoint to another. This location-centric model limits the ability to fully utilize resources that are available along the route from the provider to the consumer(s), such as storage (e.g., for caching) or computing (e.g., for re-encoding). Information-Centric Networking (ICN) has been proposed as a paradigm shift from the host-to-host Internet to a host-to-content one, or in other words, from an end-to-end communication system to a native distribution network. This trend has attracted the attention of the research community, which has argued that content, instead of end-points, must be at the center stage of attention. These efforts promise, among other things, more flexibility in adapting to new services, efficiency improvements on lower layers and native multicast support.

Given this emergence of ICN-oriented solutions, the relevant management needs in terms of performance have not been adequately addressed, yet they are absolutely essential for relevant network operation and crucial for the ICN approaches to succeed. The notion of a flow, for example, changes completely in ICN in comparison to IP and fundamental research is necessary in order to know how the network is being used for provisioning, charging, etc. Performance management and traffic engineering approaches are also required to control routing, to configure the logic for replacement policies in cache stores and to control decisions, where to cache for instance. Therefore, there is an urgent need to manage ICN resources and in fact to constitute their missing management and control plane which is essential for their success as clean-

slate technologies. In this thesis, we aim to provide solutions to crucial problems that remain, such as the management of ICN networks which has not yet been addressed, focusing on the key aspect of route and cache management.

Our main goal is to investigate and develop key network management functions for clean-slate ICNs related to route and cache management. Particularly, we have developed mechanisms that manage the routing processes by influencing the forwarding of interest/subscription packets and make caching decisions about where and which item to cache as well as influence the cache replacement policies. The aim is to improve the operations and overall utility of the ICN architectures through extensive and novel usage of caching as an inherent architectural function. Both opportunistic in-network and service-specific managed caching (CDN-like replication) is of interest in addressing this challenge. We have also devised a set of caching solutions, evaluated through proper analytical models, that not only dramatically improve the overall utility, but also demonstrate the further potential of the architectural paradigm of information-centrism.

Initially, we describe a three phase framework as a contribution to the problem of information replication in ICN. The objective of the proposed framework is to minimize the total traffic load in the network subject to installing a predefined number of replication devices and given that each device has storage limitations. Particularly, we present and evaluate a new algorithm for the selection of the location in the network to install replication devices. We also propose two alternative off-line mechanisms for the assignment of the replicas of each information item among the selected replications devices. We also propose a distributed cache management architecture for ICN that dynamically (re-)assigns information items to caches, in order to minimize the overall network traffic cost imposed by the user requests. In more details, we derive four distributed on-line intra-domain cache management algorithms, categorize them according to the level of cooperation needed and compare them in terms of performance, complexity, message overhead and convergence time. We derive also a lower bound of the overall network traffic cost for a certain class of network topologies and show that the proposed cache management algorithms perform closely to the derived lower bound.

We also describe and decompose an in-network opportunistic caching framework in a set of basic policies, show at each set the most known and introduce an ICN oriented policy at each one of them. We further propose a stochastic model that captures the dynamics of the new policies and describe a prototype implementation of the opportunistic caching mechanism which is also evaluated through Planetlab experiments. Moreover, we provide an enhancement of the opportunistic caching mechanism to enable client mobility. Finally, we present a new cache aware intra-domain routing scheme that dynamically computes the routes followed by each interest/subscription for each item and from each node in the network. Particularly, we analyze a dynamic programming (DP) approach for the computation of the minimum transportation cost paths based on the observed item request patterns, in order to minimize the overall transportation cost imposed by the user requests.

Keywords: Network management, Information-Centric Networks, Replication Management, Routing, Dynamic programming

Three - Member Supervisory Committee

Leandros Tassiulas, Professor, Computer Networks, Department Of Electrical and Computer Engineering, University of Thessaly, Volos, Greece

Spyros Lalis, Associate Professor, Operating and Distributed Systems, Department of Electrical and Computer Engineering, University of Thessaly, Volos, Greece

George Pavlou, Professor, Computer Network Management, Department of Electronic and Electrical Engineering UCL, London, UK

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within "Heraclitus II" programme

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Sourlas, V.**, Flegkas, P., & Tassiulas, L. (2014). A Novel Cache Aware Routing Scheme for Information-Centric Networks. *Computer Networks* – Elsevier, 59, 44-61.
2. **Sourlas, V.**, Gkatzikis, L., Flegkas, P., & Tassiulas, L.(2013). Distributed Cache Management in Information-Centric Networks. *IEEE Transactions on Network and Service Management (IEEE TNSM)*, *10* (3), 286-299.

3. Diallo, M., **Sourlas, V.,** Flegkas, P., Fdida, S., & Tassiulas, L. (2013). A Content-Based Publish/Subscribe framework for Large-scale Content Delivery. *Computer Networks – Elsevier*, *57*(4), 924-943.
4. **Sourlas, V.**, Flegkas, P., Paschos, G. S., Katsaros, D., & Tassiulas, L. (2011). Storage Planning and Replica Assignment in Content-Centric Publish/Subscribe Networks. *S.I. on Internet-based Content Delivery, Computer Networks – Elsevier*, *55* (18), 4021-4032.

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων – βιβλία περιλήψεων Publications in conference proceedings - books of abstracts

1. **Sourlas, V.**, Flegkas, P., & Tassiulas, L. (2013). Cache-Aware Routing in Information-Centric Networks.*IFIP/IEEE International Symposium on Integrated Network Management (IM 2013)* (pp. 582-588). Ghent, Belgium:IFIP/IEEE.
2. **Sourlas, V.**, & Tassiulas, L. (2013). Effective Cache Management and Performance Limits in ICN. *International Conference on Computing, Networking and Communications (ICNC 2013)* (pp. 955-960). San Diego, USA.
3. Flegkas, P., **Sourlas, V.**, Parisis, G., & Trossen, D. (2013). Storage Replication in Information-Centric Networking. *International Conference on Computing, Networking and Communications (ICNC 2013)* (pp. 850 – 855). San Diego, USA.
4. **Sourlas, V.**, Flegkas, P., Gkatzikis, L., & Tassiulas, L.(2012). Autonomic Cache Management in Information-Centric Networks. *13th IEEE/IFIP Network Operations and Management Symposium (NOMS 2012)* (pp. 121-129). Hawaii, USA:IEEE/IFIP.
5. Trossen, D., Vasilakos, X., Flegkas, P., **Sourlas, V.**, & Parisis, G. (2011). Mobility Work Re-Visited Not Considered Harmful. *IEEE WMCNT 2011* (pp. 1-8).Budapest, Hungary: IEEE.
6. **Sourlas, V.**, Paschos, G.S., Mannersalo, P., Flegkas, P., & Tassiulas, L. (2011, March). Modeling the dynamics of caching in content-based publish/subscribe systems. *26th ACM Symposium OnApplied Computing (SAC)* (pp. 478-485), Taiwan.: ACM
7. **Sourlas, V.**, Gkatzikis, L.,Tassiulas, L. (2011). On-Line Storage Management with Distributed Decision Making for Content-Centric Networks. *7th Conference on Next Generation Internet (NGI) 2011* (pp.1-8).Kaiseslautern, Germany:Euro-NF.
8. Diallo, M., Fdida, S., **Sourlas, V.**, Flegkas, P., & Tassiulas, L. (2011). Leveraging caching for Internet-scale content-based publish/subscribe networks. *IEEE ICC 2011* (pp. 1-5). Kyoto, Japan: IEEE.
9. **Sourlas, V.**, Paschos, G. S., Flegkas, P., & Tassiulas, L. (2010). Mobility support through caching in content-based publish/subscribe networks. *5th International Workshop on Content Delivery Networks (CDN 2010) in conjuction with 10th IEEE/ACM International Symposium on Cluster, Cloud and Grid Computing (CCGrid 2010)* (pp. 715-720). Melbourne, Australia:IEEE/ACM.
10. **Sourlas, V.**, Flegkas, P., Paschos, G.S., Katsaros, D., Tassiulas, L. (2010). Storing and Replication in Topic-Based Publish/Subscribe Networks. *IEEE Globecom 2010 Next-Generation Networking and Internet Symposium* (pp.1-5.) Miami, USA:IEEE.
11. **Sourlas, V.**, Paschos, G. S., Flegkas, P., & Tassiulas, L. (2009). Caching in content based publish/subscribe systems. *IEEE Globecom 2009 Next-Generation Networking and Internet Symposium* (pp. 1-6). Hawaii, USA:IEEE.
12. **Sourlas, V.** , Flegkas, P., Paschos, G. S., & Tassiulas, L. (2009). Distribute, Store and Retrieve Management Policies on Wireless Ad-Hoc Networks using the Content Delivery Publish/Subscribe Paradigm. *3rd IEEE Workshop on Autonomic Communications and Network Management - IM 2009 / ACNM 2009* (pp. 169-176). NY, USA:IEEE
13. **Sourlas, V.**, Flegkas, P., & Tassiulas, L. (2009). Policy Distribution using the Publish Subscribe Paradigm for Managing MANETs. *11th IFIP/IEEE International Conference on Management of Multimedia and Mobile Networks and Services (MMNS 2008) held as part of Manweek 2008* (pp. 14-19).Samos, Greece:IFIP/IEEE

Κεφάλαια σε Συλλογικά έργα/Book Chapters

1. **Sourlas, V.**, Flegkas, P., Katsaros, D., & Tassiulas, L. (2014). Content Replication and Delivery in Information-Centric Networks. In Mukaddim Pathan, Ramesh K. Sitaraman and Dom Robinson (Eds.) *Advanced Content Delivery and Streaming in the Cloud* (pp. 413-429).USA:Wiley Publishers.

Σύντομο Βιογραφικό

Ο **Βασίλης Σούρλας** γεννήθηκε στην Αθήνα, το 1980. Έλαβε το Δίπλωμά του από το Τμήμα Μηχανικών Ηλεκτρονικών Υπολογιστών και Πληροφορικής του Πανεπιστημίου Πατρών, το 2004 και το Μεταπτυχιακό του στην Επιστήμη των Υπολογιστών από το ίδιο Τμήμα, το 2006. Το 2013, έλαβε το Διδακτορικό του Δίπλωμα από το Τμήμα Ηλεκτρολόγων Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Μέχρι το Δεκέμβριο του 2014, εργαζόταν ως μεταδιδακτορικός ερευνητής στο ΕΚΕΤΑ-ΙΠΤΗΛ και στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, στην ομάδα του Καθηγητή Λέανδρου Τασιούλα. Τον Ιανουάριο του 2015, εντάχθηκε στο UCL, UK, για δύο χρόνια, ώστε να εκπονήσει τη MarieCurie (IEF) μεταδιδακτορική υποτροφία του (το πρόγραμμα Marie Curie IEF υποστηρίζει ερευνητικές προτάσεις από όλους τους τομείς της επιστημονικής έρευνας και το ποσοστό επιτυχίας είναι κάτω από 10% των προτάσεων που υποβάλλονται).Την περίοδο 2007-2013, εργάστηκε σε διάφορα ελληνικά και ευρωπαϊκά ερευνητικά προγράμματα ως υποψήφιος Διδάκτορας, ανάμεσα στα οποία και το ερευνητικό πρόγραμμα PURSUIT, το οποίο έλαβε το βραβείο “Future Internet Award”, ως η καλύτερη ευρωπαϊκή πρωτοβουλία για το μελλοντικό Διαδίκτυο, στο 10ο Συνέδριο Future Internet Assembly, που πραγματοποιήθηκε στο Δουβλίνο της Ιρλανδίας, σε συνεργασία με την ιρλανδική Προεδρία του Συμβουλίου της Ευρωπαϊκής Ένωσης.

Το 2010, για την εκπόνηση της διδακτορικής του διατριβής, έλαβε την υποτροφία “Ηράκλειτος ΙΙ”. Έχει δημοσιεύσει 30 ερευνητικές εργασίες σε διεθνή συνέδρια και περιοδικά, ενώ έχει διατελέσει κριτής σε πολλά συνέδρια και περιοδικά στην περιοχή των δικτύων των υπολογιστών. Οι εργασίες του έχουν συγκεντρώσεις 293 ετεροαναφορές (Google scholar 22/7/2015).

Τα κύρια ερευνητικά του ενδιαφέροντα εστιάζονται στα δίκτυα που οργανώνονται με βάση το περιεχόμενο, καθώς και στη βέλτιστη διαχείριση των πόρων των δικτύων των υπολογιστών.

Short CV

Vasilis Sourlas was born in Athens, Greece, in 1980. He received his Diploma Degree from the Computer Engineering and Informatics Department, University of Patras, Greece, in 2004 and the M.Sc. Degree in Computer Science and Engineering from the same Department in 2006. In 2013, he received his PhD from the Department of Electrical and Computer Engineering, University of Thessaly (Volos), Greece.

Until December 2014, he was a post-doc researcher at CERTH-ITI and at University of Thessaly, Greece, working with Professor Leandros Tassiulas. In January 2015, he joined UCL, UK for two years, for his Marie Curie (IEF) fellowship (the Marie Curie IEF programme supports research proposals from all fields of scientific research and the success rate is below 10% of the submitted proposals).

During the period 2007-2013, he participated in various EU funded research projects as a PhD candidate. Among them, PURSUIT has been awarded the Future Internet Award at the Future Internet Assembly (FIA) in Dublin 2013, for its outstanding contribution to redefining the existing Internet design, in order to ensure users’ stronger control over their data while enhancing broadband.

In 2010, he received the “Heraclitus II” scholarship, to support his PhD studies. He has 30 published research papers in peer reviewed international conferences and journals and he has served as a reviewer in several journals and conferences in the area of computer networking. His papers have 235 citations (Google scholar 2/2/2014).

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

Τμήμα Ιατρικής
School of Medicine

Τμήμα Κτηνιατρικής
Faculty of Veterinary Science

Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας
Department of Biochemistry and Biotechnology

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

Τμήμα Ιατρικής
School of Medicine

Νικολέττα Αργέντου

Ρυθμιστικά Τ - κύτταρα και επαγόμενη από απόπτωση φλεγμονή

Περίληψη

ΕΙΣΑΓΩΓΗ-ΣΚΟΠΟΣ: Τα ρυθμιστικά Τ - κύτταρα (regulatory T-cells - Tregs) έχουν κεντρικό ρόλο στο δίκτυο των μηχανισμών κεντρικής και περιφερικής ανοχής, συμμετέχοντας στη διατήρηση της ομοιοστασίας του οργανισμού. Έχει προταθεί πως η συσσώρευσή τους ευθύνεται για την αδυναμία εξάλειψης των παθογόνων (μέσω καταστολής και ειδικών, έναντι παθογόνων, ανοσιακών απαντήσεων) και τη συνακόλουθη χρονιότητα των λοιμώξεων. Ωστόσο, μελέτες σε πειραματόζωα έχουν δείξει πως η απουσία αυτών των πληθυσμών μπορεί να αποτελεί την αιτία ανεξέλεγκτων ανοσιακών απαντήσεων και καταστροφικής αυτοάνοσης φλεγμονώδους αντίδρασης των ιστών. Τόσο επιδημιολογικά όσο και πειραματικά ευρήματα των τελευταίων ετών αποδίδουν στη φλεγμονώδη βλάβη εμπλοκή σε παθογενετικές διεργασίες ιδιαίτερης σημασίας, με κυριότερη την αναδυόμενη σχέση μεταξύ φλεγμονής και καρκίνου. Δεδομένης της αδιευκρίνιστης σχέσης των χρόνιων λοιμώξεων τόσο με την πρόκληση φλεγμονής διαφόρων οργάνων όσο και με τους ανοσορρυθμιστικούς μηχανισμούς, η μελέτη αυτή σχεδιάστηκε με στόχο να διερευνηθεί ο ρόλος της ανοσορρύθμισης στην επαγόμενη από την απόπτωση φλεγμονή. Συγκεκριμένα, μελετήθηκε η φλεγμονή που συνοδεύει χρόνιες ιογενείς ηπατίτιδες κι εμπλέκεται στη συνακόλουθη καρκινογενετική διεργασία, άλλες αυτοδραστικής παθογενετικής βάσεως καταστάσεις (π.χ. αυτοανοσία, στεατοηπατίτιδες, φαρμακευτικές ηπατίτιδες, κλπ), καθώς και η άσηπτη μηχανική φλεγμονή που συνοδεύει τη χρόνια οστεοαρθρίτιδα. Ειδικότερα, η μελέτη επιχείρησε να διερευνήσει τη συσχέτιση (σε πρωτεϊνικό και μοριακό επίπεδο) των οδών της απόπτωσης και της φλεγμονής με εκείνες των ανοσορρυθμιστικών οδών που εμπλέκονται στη λειτουργία των Tregs. Η μελέτη έγινε στο πλαίσιο του ενδιαφέροντος που υπάρχει παγκοσμίως, σχετικά με την ανακάλυψη θεραπευτικών προσεγγίσεων με στόχο τα ρυθμιστικά κύτταρα (π.χ. μοριακή στόχευση του γονιδίου *FOXP3*).

ΥΛΙΚΟ- ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ: Συλλέχθηκαν βιοψίες ήπατος από 101 ασθενείς με χρόνιες ηπατοπάθειες [χρόνια ιογενής ηπατίτιδα Β (πριν και μετά από θεραπεία) και C, μη-αλκοολική λιπώδης διήθηση του ήπατος, αυτοάνοσες ηπατοπάθειες και φαρμακευτική ηπατίτιδα), ενώ ως ομάδα ελέγχου χρησιμοποιήθηκαν βιοπτικά δείγματα 8 ασθενών με ήπια τρανσαμινασαιμία αλλά χωρίς νεκρο-φλεγμονώδη στοιχεία και ιστολογία αρνητική για νόσο. Επιπρόσθετα, συλλέχθηκαν δείγματα αρθρικού υμένα από 27 ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα γόνατος και ισχίου ενώ ως ομάδα ελέγχου χρησιμοποιήθηκαν δείγματα 5 ασθενών με δευτεροπαθή ΟΑ λόγω τραύματος. Με τη μεθοδολογία της PCR πραγματικού χρόνου, προσδιορίστηκαν τα μεταγραφικά επίπεδα έκφρασης γονιδίων α) δεικτών των ρυθμιστικών κυττάρων (*FOXP3*, *IL10* και *TGFB*), β) δεικτών των Τ - κυττάρων (*CD4* και *CD8*), γ) φλεγμονωδών κυτταροκινών (*IL1B* και *TNFA*), δ) μεσολαβητών της απόπτωσης (*FAS*, *FASL* και *TRAIL*), ε) δεικτών της εξάντλησης (*PD1*, *PDL1* και *PDL2*) και της αποκατάστασης των Τ - κυττάρων (*IL-2* και *IFNG*), καθώς και στ) μορίων που συμμετέχουν στο μονοπάτι σοβαρής φλεγμονής και ίνωσης TGFB / ακτιβινών (οι ισομορφές *TGFB*; οι ακτιβίνες *A*, *B*, *C* και *E*; οι υποδοχείς *ALK4* και *ALK5*; οι ενδοκυττάριοι μεσολαβητές *SMAD-2*, *-3*,*-4*; ο αναστολέας *SMAD7*, καθώς και ο CTGF). Τέλος, στις περιπτώσεις που κρίθηκε απαραίτητο, πραγματοποιήθηκε πρωτεϊνικός εντοπισμός των μορίων με τις μεθοδολογίες της ανοσοαποτύπωσης κατά Western και της ανοσοϊστοχημικής χρώσης.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: Στον ηπατικό ιστό ασθενών με χρόνιες ηπατοπάθειες, παρατηρήθηκε θεαματική αύξηση των επιπέδων της μεταγραφικής και πρωτεϊνικής έκφρασης του *FOXP3* (ανεξαρτήτως της αιτιολογίας της βλάβης) συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, η οποία συσχετιζόταν ισχυρά με την ένταση της φλεγμονής. Παράλληλα, οι μεσολαβητές της απόπτωσης *FAS*, *FASL* και *TRAIL* εμφάνισαν αυξημένα επίπεδα, κάτι που δεν παρατηρήθηκε για τα γονίδια *IL10* και *TGFB1* (χαρακτηριστικά μόρια των

pTregs). Έπειτα από επιτυχή αντι-ιϊκή θεραπευτική παρέμβαση και μακροχρόνια ύφεση της ηπατίτιδας Β παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της μεταγραφικής έκφρασης των μορίων *FOXP3*, *IL10*, *TGFB1*, *PD1*, *PDL1*, *FASL* και *CD8* στο ήπαρ συγκριτικά με τους ασθενείς με ενεργή νόσο, πριν από οποιαδήποτε θεραπεία. Σε αντίθεση, δεν παρατηρήθηκαν αλλαγές στην έκφραση των γονιδίων *IL2*, *IFNG*, *CD4*, *IL1B*, *TNFA* και *FAS*. Επιπρόσθετα, τα μεταγραφικά επίπεδα των *FOXP3*, *PD1*, *PDL1* και *CD8* εμφάνισαν ισχυρή συσχέτιση με το στάδιο της φλεγμονής ενώ η μείωση της έκφρασής τους επιβεβαιώθηκε και σε πρωτεϊνικό επίπεδο. Στον αρθρικό υμένα των ασθενών με χρόνια οστεοαρθρίτιδα γόνατος και ισχίου παρατηρήθηκαν επίσης ισχυρές θετικές συσχετίσεις της έκφρασης του *FOXP3* με την αντίστοιχη έκφραση των *FAS*, *FASL* και *TRAIL*. Επιπλέον, το μόριο TRAIL εμφάνισε διαφορετικό μοτίβο έκφρασης ανάλογα με το μακροσκοπικό φαινότυπο της άρθρωσης• ειδικότερα παρουσίασε σημαντική αύξηση στις περιπτώσεις με υπερτροφικό φαινότυπο συγκριτικά με τις περιπτώσεις του ατροφικού και φυσιολογικού φαινότυπου οστεοαρθρίτιδας αλλά και την ομάδα ελέγχου. Τέλος, κατά τη μελέτη του μονοπατιού της ίνωσης TGFB / Ακτιβινών στις ηπατοπάθειες παρατηρήθηκε μια θεαματική αύξηση του αναστολέα *SMAD7* με ταυτόχρονη μείωση των μεταγραφικών επιπέδων των *TGFB1*, *SMAD2*, *SMAD3* και *CTGF* στους ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β σε παρατεταμένη ύφεση συγκριτικά με τους ασθενείς στη διάγνωση. Επιπρόσθετα, οι ασθενείς με NAFLD εμφάνισαν μια αντίστοιχη αύξηση του *SMAD7*, αλλά με ταυτόχρονη αύξηση των μορίων *TGFB1*, *TGFB3*, *TGFBR1*, *SMAD2* και *SMAD4*, σε σύγκριση με ασθενείς με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα χωρίς θεραπεία και χωρίς ανταπόκριση στη θεραπεία. Η έκφραση του *SMAD7* συσχετίστηκε με το στάδιο της φλεγμονής και ειδικότερα, παρουσίασε αύξηση στις περιπτώσεις ήπιας φλεγμονής (στάδιο I) και μείωση, προϊούσης της έντασης της φλεγμονής.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ: Παρατηρήθηκε κινητοποίηση των Tregs στο ήπαρ των ασθενών με χρόνιες ηπατοπάθειες (που χαρακτηρίζεται από τη θεαματική αύξηση της έκφρασης *FOXP3*), η οποία ακολουθεί ένα συγκεκριμένο πρότυπο, ανάλογα με το στάδιο της φλεγμονής και της έκφρασης μεσολαβητών της απόπτωσης (*FAS*, *FASL* και *TRAIL*). Οι ισχυρές συσχετίσεις μεταξύ των μεσολαβητών της απόπτωσης με την ανοσορρύθμιση που αναδεικνύονται στα χρόνια ηπατικά νοσήματα, επιβεβαιώνονται και στη χρόνια οστεοαρθρίτιδα που χαρακτηρίζεται από εμμένουσα άσηπτη φλεγμονή. Επιπρόσθετα, η επιτυχής αντι-ιϊκή θεραπεία της χρόνιας ηπατίτιδας Β φάνηκε να μειώνει τα παραπάνω φαινόμενα και να προκαλεί μία γενικευμένη μείωση της ανοσιακής καταστολής στο ήπαρ στη μακροχρόνια διατηρούμενη ύφεση χωρίς, ωστόσο, να παρατηρούνται φαινόμενα ανοσιακής αποκατάστασης. Η μείωση των ανασταλτικών οδών, οι οποίες έχουν ενεργοποιηθεί νωρίτερα για να εξισορροπήσουν τυχόν υπέρμετρες ανοσιακές απαντήσεις, είναι πιθανώς συνέπεια της μείωσης της ηπατικής φλεγμονής. Τα δεδομένα αυτά ενισχύουν το υποθετικό μοντέλο λειτουργίας των Tregs, σχετικό με την ιστική βλάβη λόγω φλεγμονής προκαλούμενης από αυξημένη απόπτωση που προτείνουμε, όπου οξεία ή χρόνια ιστική βλάβη, ανεξαρτήτως αιτιολογίας, προκαλεί αυξημένη απόπτωση των ιστών, η οποία οδηγεί σε αυξημένη φαγοκυττάρωση και αντιγονοπαρουσίαση αυτοαντιγόνων. Συνακόλουθη συσσώρευση Tregs αποσκοπεί στην παρεμπόδιση πιθανής καταστροφικής αυτοανοσίας στον προσβεβλημένο ιστό, από αυτοδραστικούς T - κλώνους. Τα ευρήματά μας συνηγορούν υπέρ του προστατευτικού ρόλου των Tregs σε διαφορετικούς τύπους επαγόμενης από απόπτωση φλεγμονής, ενισχύοντας την άποψη ότι η προτεινόμενη στόχευση της απόπτωσης, αντί των ρυθμιστικών κυττάρων, θα μπορούσε να αποδειχθεί μία περισσότερο υποσχόμενη θεραπευτική παρέμβαση.

Λέξεις κλειδιά: ρυθμιστικά Τ – κύτταρα, φλεγμονή, απόπτωση, ίνωση, χρόνια ηπατίτιδα β, χρόνια ηπατίτιδα C, μη-αλκοολική λιπώδης διήθηση του ήπατος, αυτοάνοση ηπατίτιδα, οστεοαρθρίτιδα, FOXP3, FAS, FASL, TRAIL, PD1, PDL1, TGFB, SMAD2. SMAD3, SMAD4, SMAD7, CTGF, ακτιβίνες

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Δρ. Ματθαίος Σπελέτας, Αναπληρωτής Καθηγητής Ανοσολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας *(επιβλέπων)*

Δρ. Αναστάσιος Ε. Γερμενής, Καθηγητής Ανοσολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Δρ. Γεώργιος Κουκούλης, Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Nikoletta Argentou

Regulatory T-cells and apoptosis-induced inflammation

Abstract

INTRODUCTION-OBJECTIVE: Regulatory T-cells (Tregs) play a central role in the network of central and peripheral mechanisms of tolerance participating in the maintenance of the organism's homeostasis. It has been suggested that their accumulation is responsible for the inability to eliminate pathogens and the subsequent chronicity of infections. However, animal studies have shown that the absence of these populations may be the cause of uncontrolled immune responses and autoimmune destructive inflammation of the tissue. In recent years, both epidemiological and experimental data indicate the implication of inflammation in several pathogenic processes, with the emerging link between inflammation and cancer being of major importance. Given the obscure relationship of chronic infections with inflammation of various organs and immunoregulatory mechanisms, this study was designed to investigate the role of immune regulation in apoptosis-induced. Specifically, the study focused on inflammation that accompanies chronic viral hepatitis and is involved in subsequent carcinogenesis, other autoimmune-based conditions (eg., autoimmunity, steatohepatitis, drug-induced hepatitis, etc.) and mechanical aseptic inflammation that accompanies chronic osteoarthritis. In particular, the aim was to explore the relationship (at a protein and molecular level) of apoptotic pathways and inflammation with those of immunoregulatory pathways involved in the function of Tregs. The study was conducted under the worldwide concern about the discovery of therapeutic approaches targeting regulatory cells (e.g. molecular targeting of *FOXP3* gene).

MATERIAL-METHODS: Liver biopsy specimens from 101 patients with various liver diseases [chronic viral hepatitis B (before treatment and on maintained continuous antiviral treatment response and remission) and C, NAFLD, autoimmune hepatitis, PBC and MTX-induced hepatitis] were evaluated. Eight liver biopsies with a mild increase of aminotransferases, whose histopathological examination revealed no pathology, served as "healthy" controls. Moreover, synovial tissue specimens, obtained from 27 patients with osteoarthritis of knee and hip, were enrolled in the study, while synovial tissue specimens from 5 patients with hip fracture served as controls.The mRNA expression levels of genes participating in several immune processes were assessed by a quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction. In particular, the studied genes represented: a) regulatory T-cell markers (*FOXP3*, *IL10* and *TGFB*); b) conventional T-cell markers (*CD4* and *CD8*); c) inflammatory cytokines (*IL1B* and *TNFA*); d) major apoptosis mediators (*FAS*, *FASL* and *TRAIL*); e) markers of T-cell exhaustion (*PD1*, *PDL1* and *PDL2*) and immune restoration (*IL-2* and *IFNG*) and f) molecules participating in TGFB/ Activins fibrotic pathway (*TGFB* isoforms; activins *A*, *B*, *C* and *E*; receptors *ALK4* and *ALK5*; intracellular mediators *SMAD-2*, *-3*, and *-4*; inhibitory *SMAD7*; CTGF).

RESULTS: Significant increase of *FOXP3* was observed in all disease groups, independently of the initial inducer, compared to controls, which was positively correlated with the intensity of inflammation. The mRNA expression levels of the apoptosis mediators *FAS*, *FASL* and *TRAIL*, but not of *IL-10* and *TGF-B1* (characterizing pTregs) were also significantly elevated and correlated with liver inflammation. Moreover, the expression of *FOXP3*, *IL10*, *TGFB1*, *PD1*, *PDL1*, *FASL* and *CD8* was significantly down-regulated in the maintained on-treatment long-term remission state. In contrast, liver expression of *IL2* and *IFNG*, along with *CD4*, *IL1B*, *TNFA* and *FAS* did not change significantly. Moreover, *FOXP3*, *PD1*, *PDL1* and *CD8* transcripts were positively correlated to the intensity of liver inflammation. In the synovial tissue of patients with osteoarthritis of hip and knee, FOXP3 expression was also significantly correlated with the expression of apoptosis mediators *FAS*, *FASL*, and *TRAIL*. Furthermore, *TRAIL* exhibited a statistically significant increase of mRNA expression in patients with hypertrophic joint compared to patients with atrophic and normal joint phenotype and the control group. Finally, concerning the fibrotic TGFB-Activins pathway, *SMAD7* was significantly elevated and *TGFB1*, *SMAD2*, *SMAD3* and *CTGF* were reduced in patients with chronic hepatitis B in the long-term remission state compared to patients at diagnosis. NAFLD patients also exhibited increased *SMAD7* expression compared to untreated chronic viral hepatitis patients and non-responders. *SMAD7* expression was elevated in patients with minimal inflammation followed by a reduction as inflammation becomes severe.

CONCLUSION: We observed mobilization of Tregs in the liver (characterized by a dramatic increase of *FOXP3* expression), which follows a certain pattern, depending upon the inflammatory stage and the expression of apoptosis mediators (*FAS*, *FASL*, and *TRAIL*). The strong correlations between major apoptosis mediators and immune-regulation that emerged in chronically inflamed liver tissue was also confirmed in chronically inflamed synovial tissue of osteoarthritis. Our data indicate that in the chronic hepatitis B disease model, the immunosuppressive liver environment is down-regulated in the maintained on-treatment long-term remission state and correlates with the intensity of liver inflammation, but not liver T-cell restoration. In addition, the contraction of the inhibitory pathways, as measured by the down-regulation of their liver mRNA expression in long-term remission, is possibly a mere consequence of the diminution of liver inflammation, after being hyper-expressed, in order to counterbalance excessive allo- and/or auto-reactive Teffs clones. The above-mentioned data strengthen the single operating model of Tregs, relative to the tissue damage due to inflammation caused by excessive apoptosis we propose, according to which, acute or chronic tissue damage, regardless of aetiology, causes increased apoptosis of the tissue, which leads to increased phagocytosis and antigen presentation of auto-antigens. Consequent accumulation of Tregs aims to prevent possible catastrophic autoimmunity in affected tissue from autoreactive T-cell clones. Our findings are in favour of the protective role of Tregs in different types of apoptosis-induced inflammation, supporting the opinion that targeting apoptosis instead of regulatory cells, could be a more promising therapeutic intervention.

Key words: regulatory T – cells, inflammation, apoptosis, fibrosis, chronic hepatitis B, chronic hepatitis C, non - alcoholic fatty liver disease, autoimmune hepatitis, osteoarthritis, FOXP3, FAS, FASL, TRAIL, PD1, PDL1, TGFB, SMAD2, SMAD3, SMAD4, SMAD7, CTGF, activins

Three - Member Supervisory Committee

Dr. Matthaios Speletas, Associate Professor of Immunology, Faculty of Medicine, University of Thessaly, Greece *(supervisor)*

Dr. Anastasios E. Germenis, Professor of Immunology, Faculty of Medicine, University of Thessaly, Greece

Dr. George Koukoulis, Professor of Pathology, Faculty of Medicine, University of Thessaly, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά Articles in journals

1. **Argentou, N.**, Germanidis, G., Hytiroglou, P., Apostolou, A., Vassiliadis, T., Patsiaoura, K., Sideras, P., Germenis, A.E., Speletas, M. TGF-β signaling is activated in patients with chronic HBV infection and repressed by SMAD7 overexpression after successful antiviral treatment. *Inflammation Research*. (submitted, under review)
2. Germanidis, G., **Argentou, N.**, Hytiroglou, P., Vassiliadis, T., Patsiaoura, K., Germenis, A.E., Speletas, M. (2013). Liver FOXP3 and PD1/PDL1 Expression is Down-Regulated in Chronic HBV Hepatitis on Maintained Remission Related to the Degree of Inflammation. *Front Immunol*, 2013;4:207.
3. Speletas, M., **Argentou, N.**, Germanidis, G., Vasiliadis, T., Mantzoukis, K., Patsiaoura, K., Nikolaidis, P., Karanikas, V., Ritis, K., Germenis, A.E. (2011). Foxp3 expression in liver correlates with the degree but not the cause of inflammation. *Mediators of Inflammation*, 2011;2011:827565.

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων – βιβλία περιλήψεων Publications in conference proceedings– books of abstracts

1. **Argentou, N.**, Germanidis, G., Apostolou, E., Vasiliadis, T., Sideras, P., Germenis, A.E., Speletas, M. (2012). Overexpression of SMAD7 protects liver from TGFb/Smad-mediated fibrogenesis. *Congress of Immunology*, Glasgow, Scotland. *Immunology*, 2012;137(Suppl.1):506.
2. Γερμανίδης, Γ., **Αργέντου, Ν.**, Βασιλειάδης, Θ., Πατσιαούρα, Κ., Μαντζούκης, Κ., Αναστασιάδης, Σ., Χυτίρογλου, Π., Γερμενής, Α., Σπελέτας, Μ. (2012). Η ηπατική έκφραση *FOXP3* και PD1/PDL1 ελαττώνεται στη χρόνια ηπατίτιδα Β σε διατηρούμενη ύφεση, σχετιζόμενη με το βαθ-

μό της φλεγμονής. *32ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, Αθήνα*. *AnnGastroenterol*, 2012;25(Suppl.1):31.

Germanidis, G., **Argentou, N.**, Vasiliadis, T., Patsiaoura, K., Mantzoukis, K., Anastasiadis, S., Chitiroglou, P., Germenis, A.E., Speletas, M. (2012). Liver *FOXP3* and PD1/PDL1 Expression is Down-Regulated in Chronic HBV Hepatitis on Maintained Remission Related to the Degree of Inflammation. *32nd National Congress of Gastroenterology*, Athens, Greece. *Ann Gastroenterol*, 2012;25 (Suppl.1):31.

3. **Argentou, N.**, Germanidis, G., Vassiliadis, T., Patsiaura, K., Mantzoukis, K., Ritis, K., Eleftheriadis, D., Evgenidis, N., Nikolaidis, P., Germenis, A.E., Speletas, M. (2010). Liver PD-1/PDL-1/PD-L2 mRNA expression quantitative analysis in patients with chronic HBV and HCV hepatitis. *International Liver Congress 2010 – the 45th annual meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL*), Vienna, Austria. *J Hepatol*, 2010;52 (Suppl.1):S241.

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες
Presentations in scientific conferences and meetings - workshops

1. **Αργέντου, Ν.** (2013, Μάρτιος). *Ανοσορρύθμιση και φλεγμονή.* Προφορική παρουσίαση στο 5ο Συνέδριο Παθολογίας Κεντρικής Ελλάδας, Λάρισα.

   Argentou, N. (2013, March). *Immunoregulation and inflammation*. Oral presentation at 5th International Congress of Internal Medicine of Central Greece, Larissa, Greece.

2. Γερμανίδης, Γ., **Αργέντου, Ν.**, Αποστόλου, Ε., Βασιλειάδης, Θ., Παναγιωτίδης, Β., Σιδεράς, Π., Γερμενής, Α.Ε., Σπελέτας. Μ. (2012, Νοέμβριος). *Η υπερέκφραση του SMAD7 προστατεύει το ήπαρ από την TGF-b/SMAD-μεσολαβούμενη ινογένεση*. Προφορική ανακοίνωση στο 32ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, Αθήνα.

   Germanidis, G., **Argentou, N.**, Apostolou, I., Vasiliadis, T., Panagiotidis, B., Sideras, P., Germenis, A.E., Speletas, M. (2012, November). *Overexpression of SMAD7 protects liver from TGFb/Smad-mediated fibrogenesis*. Oral presentation at 32ndNational Congress of Gastroenterology, Athens, Greece.

3. Γερμανίδης, Γ., **Αργέντου, Ν.**, Βασιλειάδης, Θ., Πατσιαούρα, Κ., Μαντζούκης, Κ., Θεοχαρίδου, Ε., Νικολαΐδης, Π., Καρανίκας, Β., Γερμενής, Α.Ε., Σπελέτας, Μ. (2011, Μάϊος). *Η έκφραση του FOXP3 στο ήπαρ σχετίζεται με το βαθμό αλλά όχι με το αίτιο της φλεγμονής*. Προφορική ανακοίνωση στο 12ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Χανιά.

   Germanidis, G., **Argentou, N.**, Vasiliadis, T., Patsiaoura, K., Mantzoukis, K., Theocharidou, E., Nicolaidis, P., Karanikas, V., Germenis, A.E., Speletas, M. (2011, May). *Foxp3 expression in liver correlates with the degree but not the cause of inflammation*. Oral presentation at 12th National Hepatology Congress, Chania, Greece.

4. Γερμανίδης, Γ., **Αργέντου, Ν.**, Βασιλειάδης, Θ., Πατσιαούρα, Κ., Μαντζούκης, Κ., Θεοχαρίδου, Ε., Νικολαΐδης, Π., Καρανίκας, Β., Γερμενής, Α.Ε., Σπελέτας, Μ. (2011, Οκτώβριος). *Τα ηπατικά επίπεδα του FOXP3 mRNA στη χρόνια ηπατίτιδα Β εξαρτώνται από την έκφραση των οδών FAS/FASL και PD-1/PD L1*. Προφορική ανακοίνωση στο 31ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, Θεσσαλονίκη.

   Germanidis, G., **Argentou, N.**, Vasiliadis, T., Patsiaoura, K., Mantzoukis, K., Theocharidou, E., Nicolaidis, P., Karanikas, V., Germenis, A.E., Speletas, M. (2011, October). *Hepatic levels of FOXP3 mRNA in chronic hepatitis B depend on expression of FAS/FASL and PD-1/PD-L1 pathways*. Oral presentation at 31st National Congress of Gastroenterology, Thessaloniki, Greece.

5. **Argentou, N.**, Germanidis, G., Vassiliadis, T., Mantzoukis, K., Patsiaoura, K., Metallidis, S., Stylianidis, S., Theocharidou, A., Nikolaidis, P., Germenis, A.E., Speletas, M.(2010, October - November). *Foxp3 expression in liver correlates with the degree but not the cause of inflammation*. Poster presented at The Liver Meeting AASLD, 61st Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases Boston, Massachusetts.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Νικολέττα Αργέντου** γεννήθηκε στο Μαρούσι Αττικής, το 1985. Φοίτησε στο Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής (ΜΒΓ) της Σχολής Επιστημών Υγείας του Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης, από όπου αποφοίτησε το Νοέμβριο του 2007. Κατά τη διάρκεια των προπτυχιακών της σπουδών, εκπόνησε διπλωματική εργασία με θέμα «Η έκφραση των μεθυλοτρανσφερασών του DNA από τα λεμφοκύτταρα στη Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια», στο Εργαστήριο Ανοσολογίας - Ιστοσυμβατότητας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Κατά τα έτη 2008-2013, εκπόνησε τη διδακτορική της διατριβή με θέμα «Ρυθμιστικά Τ- κύτταρα και επαγόμενη από απόπτωση φλεγμονή», χρηματοδοτούμενη από το πρόγραμμα διδακτορικών υποτροφιών «Ηράκλειτος ΙΙ». Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν γονίδια που χαρακτηρίζουν τα ρυθμιστικά Τ- κύτταρα καθώς και γονίδια που συμμετέχουν σε διάφορες ανοσιακές διεργασίες σε ασθενείς με χρόνια φλεγμονώδη νοσήματα του ήπατος και των αρθρώσεων. Η μελέτη επιχείρησε να διερευνήσει τη συσχέτιση της ανοσορρύθμισης με παράγοντες της φλεγμονής και της απόπτωσης. Τα αποτελέσματα της διατριβής της έχουν ανακοινωθεί σε ελληνικά και διεθνή συνέδρια και έχουν δημοσιευτεί σε έγκριτα διεθνή επιστημονικά περιοδικά. Παράλληλα με την εκτέλεση των πειραμάτων της διατριβής της, συμμετείχε σε διαγνωστικές εξετάσεις του εργαστηρίου, όπου ασχολήθηκε κυρίως με τη διάγνωση αιματολογικών κακοηθειών με τεχνικές μοριακής βιολογίας. Η διδακτορική της διατριβή εκπονήθηκε στο εργαστήριο Ανοσολογίας - Ιστοσυμβατότητας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας από όπου αναγορεύτηκε διδάκτορας το Μάρτιο του 2014.

Γνωρίζει Αγγλικά και Ιταλικά. Από το Νοέμβριο του 2014 εργάζεται ως συντονίστρια κλινικών δοκιμών στην Ογκολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας.

Short CV

Nikoletta Argentou was born in Marousi of Attica, in 1985. She studied at the Department of Molecular Biology and Genetics (MBG) in the School of Health Sciences at Democritus University of Thrace, from where she graduated in 2007. During her undergraduate studies, she worked on her Diploma Thesis concerning the expression of DNA methyltransferases by lymphocytes in chronic obstructive pulmonary disease at the Department of Immunology- Histocompatibility in the Faculty of Medicine at University of Thessaly.

During 2008 to 2013, she elaborated with her doctoral thesis under the title “Immune regulation and apoptosis-induced inflammation”, which has been financed by the PhD scholarship programme “Heraclitus II”. The study was designed to explore the relationship of immune regulation with apoptotic pathways and inflammation. More specifically, genes characterizing regulatory T- cells and various immune processes were studied in patients with chronic inflammatory diseases of liver and joints. The results of her thesis have been presented in several national and international congresses and they have been published in international scientific journals, as well. During her doctoral studies, she has been responsible for the diagnosis of haematological malignancies using molecular biology techniques.

She speaks English and Italian. She has been working as a lead clinical trial coordinator at the Department of Medical Oncology of the University Hospital of Larissa since November 2014.

Αικατερίνη Βελώνη

Η επίδραση των διφωσφονικών στην πώρωση των καταγμάτων. Μια πειραματική μελέτη σε κουνέλια

Περίληψη

Τα διφωσφονικά χρησιμοποιούνται στη θεραπεία της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης, της οστεοπόρωσης οφειλόμενης στην κορτιζόνη, στη νόσο Paget, σε νεοπλάσματα με δευτεροπαθείς εντοπίσεις και στην υπερασβεστιαιμία. Έχουν αντιοστεοκλαστική δράση, βελτιώνουν το δείκτη μάζας σώματος, μειώνουν τον κίνδυνο κατάγματος και τείνουν να σταθεροποιούν τα επίπεδα της αλκαλικής φωσφατάσης και την ομοιόσταση του Ca σε υπερμεταβολικές καταστάσεις. Διαφορετικοί οδοί χορήγησης και δοσολογίες έχουν περιγραφεί σε διαφορετικές καταστάσεις.

Ο μεταβολισμός των οστών στους ενήλικες συμβαίνει κατά προσέγγιση σε κύκλους 3-6 μηνών. Τα διφωσφονικά έχουν χημική δομή παρόμοια με αυτή του πυροφωσφορικού, συστατικού της μετάλλωσης του οστού. Αυτή η χημική υποκατάσταση (P-C-P αντί P-O-P) έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της οστικής απορρόφησης. Σε κυτταρικό επίπεδο, τα διφωσφονικά αναστέλλουν την τοπική συγκέντρωση οστεοκλαστών στις οστικές επιφάνειες και μειώνουν την ικανότητά τους να προσκολλώνται στο οστό. Επιπρόσθετα, τα διφωσφονικά ελαττώνουν τη διάρκεια ζωής των οστεοκλαστών.

Υπάρχουν 2 κατηγορίες διφωσφονικών: τα χαμηλής δραστικότητας απλά διφωσφονικά (π.χ ετινδρονάτη) που δεν περιέχουν άζωτο και έχουν χαμηλή αντι-απορροφητική δραστηριότητα και τα υψηλής δραστικότητας, αζωτούχα διφωσφονικά (π.χ. ζολενδρονικό οξυ, ιμπανδρονάτη) που έχουν κατά προσέγγιση 100 με 10.000 φορές το αντιαπορροφητικό δυναμικό της ετινδρονάτης. Ερευνητές εξετάζουν το κατά πόσο τα σύγχρονα διφωσφονικά μπορούν να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στην πώρωση ενός κατάγματος, διευκολύνοντας τη διαδικασία της πώρωσης και περιορίζοντας την οστεοπορωση λόγω αχρησίας.

Ο σκοπός της μελέτης αυτής είναι η απευθείας σύγκριση της επίδρασης διαφόρων διφωσφονικών στην πώρωση του κατάγματος. Χρησιμοποιήθηκαν σκελετικά ώριμα (>3 μηνών) αρσενικά κουνέλια Νέας Ζηλανδίας βάρους 3-3,5 κιλών. Σε 63 ζώα πραγματοποιήθηκε οστεοτομία στο μέσο της διάφυσης της ωλένης με παλλόμενο οστεοτόμο, υπό γενική αναισθησία. Σε όλα τα ζώα επετράπη η ελεύθερη κίνηση στο όριο του πόνου. Διφωσφονικά (ζολενδρονικό οξύ και ιμπανδρονάτη) χορηγήθηκαν με μια μεμονωμένη δόση μετά την οστεοτομία.

Τα ζώα χωρίστηκαν σε 3 ομάδες των 21. Τα πειραματόζωα της ομάδας A-21(A1-7 ομάδα ελέγχου, A2-7 ομάδα ζολενδρονικού, A3-7 ομάδα ιμπανδρονάτης) θανατώθηκαν στις 3 εβδομάδες χρησιμοποιώντας υψηλή ενδοφλέβια δόση τραπανάλης. Τα πειραματόζωα της ομάδας B-21(B1-7 ομάδα ελέγχου, B2-7 ομάδα ζολενδρονικού, B3-7 ομάδα ιμπανδρονάτης) θυσιάστηκαν στις 6 εβδομάδες. Τα πειραματόζωα της ομάδας C-21(C1-7 ομάδα ελέγχου, C2-7 ομάδα ζολενδρονικού, C3-7 ομάδα ιμπανδρονάτης) θανατώθηκαν στις 12 εβδομάδες. Έγινε εκτομή και των 2 ωλενών, πραγματοποιήθηκαν PQ-CT και εκτιμήθηκαν οι μηχανικές ιδιότητες και η ιστολογική εικόνα της περιοχής της οστεοτομίας. Η αριστερή ωλένη χρησιμοποιήθηκε ως αναφορά. Σε μια προκαταρκτική πιλοτική μελέτη, πλήρης πώρωση καταγράφηκε στις 6 εβδομάδες.

Σειριακές πλάγιες ακτινογραφίες ελήφθησαν από όλα τα ζώα άμεσα μετεγχειρητικά, την 1η και κάθε εβδομάδα στο εξής. Η ύπαρξη πλήρους πώρωσης (2 φλοιοί να γεφυρώνουν την περιοχή της οστεοτομίας), ατελούς πώρωσης (ένας φλοιός να γεφυρώνει την περιοχή της οστεοτομίας) και ψευδάρθρωσης (κανένα σημείο γεφύρωσης στην περιοχή της οστεοτομίας) στις 6 εβδομάδες, καταγράφηκε σε ομαδική ανασκόπηση των ακτινογραφιών και υπολογίστηκε ο λόγος διάμετρος πώρου/διάμετρος οστού.

Οι μηχανικές ιδιότητες της ωλένης του κουνελιού μελετήθηκαν χρησιμοποιώντας την υπολογιστική μηχανή Karl-Frank. Όλα τα δείγματα διατηρήθηκαν υγρά σε φυσιολογικό ορό και οι δοκιμασίες πραγματοποιήθηκαν μέσα σε 20 λεπτά από τη συλλογή τους. Χρησιμοποιήθηκε δοκιμασία κάμψης τριών σημείων, εφαρμόζοντας χαμηλό διασταυρούμενο ρυθμό παρεκτόπισης στα 0,05χιλιοστά/δευτερόλεπτο. Το φορτίο κάμψεως εφαρμόστηκε στην κοίλη επιφάνεια της δεξιάς ωλένης στην περιοχή της οστεοτομίας. Στην αριστερή ωλένη, το φορτίο εφαρμόστηκε στη μεσότητα τη διάφυσης. Το εύρος (L) του φορτιζόμενου οστού ήταν 30 χιλιοστά έτσι ώστε να διασφαλιστεί ότι 85-90% της καμπτικότητας του οστού οφείλεται στο φορτίο κάμψης. Το κριτήριο ενός κατάγματος χαμηλής έντασης ορίστηκε στα 5 N, έτσι ώστε να αποφευχθεί δομική βλάβη των δειγμάτων και να διευκολυνθεί η ιστομορφομετρική εκτίμηση. Πάρθηκαν καμπύλες φόρτισης-αποφόρτισης και

από αυτές υπολογίστηκαν μηχανικές παράμετροι του δομικού οστού, όπως φόρτιση του κατάγματος (N), δυσκαμψία (N/mm) και σκληρότητα (N*mm). Οι τιμές όλων των μηχανικών παραμέτρων της δεξιάς ωλένης καταγράφηκαν ως ποσοστιαία τιμή εκείνων της αντίθετης άθικτης ωλένης, σε μια προσπάθεια να περιοριστεί η επίδραση γενετικών και ανατομικών ποικιλομορφιών μεταξύ των ζώων.

Αφού ολοκληρώθηκαν οι μηχανικές δοκιμασίες, τα δείγματα των δεξιών ωλενών όλων των ζώων τοποθετήθηκαν σε διάλυμα φορμόλης 10%. Στη συνέχεια, αποκτήθηκαν λεπτές τομές 5 χιλιοστών, με τη χρήση χαμηλής ταχύτητας πριονιού, περιλαμβάνοντας τον πώρο και φυσιολογικό φλοιό και από τις 2 πλευρές. Τα δείγματα αφυδατώθηκαν σε χαμηλού βαθμού αλκοόλη και εμβαπτίστηκαν σε μεθυλμεθακρυλάτη. Ιστολογικές τομές πάχους 8-10 χιλιοστών, αποκτήθηκαν με τη βοήθεια μικροτόμου Polycut και χρωματίστηκαν με Goldner. Ιστομορφομετρικές μετρήσεις υπολογίστηκαν με μικροσκόπιο φωτός χρησιμοποιώντας το ημι-αυτοματοποιημένο πρόγραμμα λογισμικού OsteoMeasure, υιοθετώντας την ονοματολογία, σύμβολα και μονάδες της επιτροπής ιστομορφομετρικής ονοματολογίας της Αμερικάνικης Εταιρείας Μελέτης Οστού και Μετάλλων (ASBMR). Εκτιμήθηκαν οι παρακάτω πρωταρχικοί παράμετροι και επαγόμενοι δείκτες του πώρου: αριθμός οστεοβλαστών(NOb) και οστεοκλαστών (NOc), περίμετρος οστεοβλαστών (ObPm) και οστεοκλαστών (OcPm), λόγος επιφάνειας οστεοβλαστών (ObS/BS) και οστεοκλαστών (OcS/BS) προς επιφάνεια οστού, αριθμός οστεοβλαστών (NOb/BPm) και αριθμός οστεοκλαστών (NOc/BPm)/περίμετρος οστού, αριθμός οστεοβλαστών/περίμετρος οστεοβλαστών (NOb/ObPm), αριθμός οστεοκλαστών/περίμετρος οστεοκλαστών(NOc/OcPm), αριθμός οστικών δοκίδων (TbN), πάχος οστικών δοκίδων (TbTh) και διαχωρισμός οστικών δοκίδων (TbSp).

Οι πειραματικές διαδικασίες ελέγχθηκαν και εγκρίθηκαν από θεσμική επιτροπή φροντίδας ζώων σε συμφωνία με την τρέχουσα διεθνή πολιτική για πειράματα σε ζώα.

Για τη στατιστική ανάλυση, χρησιμοποιήθηκε η παραμετρική μέθοδος ανάλυσης ANOVA, με ή χωρίς προηγηθείσα μετατροπή των τιμών. Η κανονικότητα και ομοιογένεια των μετρήσεων ελέγχθηκαν αντίστοιχα με τα test Shapiro-Wilk και Levene. Για την ταυτοποίηση στατιστικά σημαντικών διαφορών μεταξύ των ομάδων χρησιμοποιήθηκε το Duncan test. Για την ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο SPSS για τα Windows (version 11.5) και όλα τα test πραγματοποιήθηκαν με πιθανότητα λάθους $p \leq 0.05$. Επίσης post-hoc στατιστική δυναμική ανάλυση (G*Power software for Windows v.2) πραγματοποιήθηκε με επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας $a=0,05$. Η ισχύς της μελέτης για τις εμβιομηχανικές παραμέτρους κυμάνθηκε μεταξύ 97-99%, για τις ιστομορφομετρικές παραμέτρους 77-99% και για το κλάσμα dC/dB 49%.

Κατά την ακτινολογική εκτίμηση, πρώιμα σημεία σχηματισμού περιοστικού πώρου ήταν εμφανή κατά την 3η εβδομάδα, ενώ σημεία γεφύρωσης στην περιοχή της οστεοτομίας παρουσιάστηκαν κατά την ίδια χρονική περίοδο. Υπολογίστηκε η επίπτωση της πώρωσης, ατελούς πώρωσης και ψευδάρθρωσης στις 6 και 12 εβδομάδες. Επίσης εκτιμήθηκαν οι μέσες τιμές του λόγου dC/dB στις 6 και 12 εβδομάδες σε όλες τις ομάδες. Δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των υποομάδων κατά τον υπολογισμό του παραπάνω κλάσματος.

Όσον αφορά τη μηχανική δοκιμασία, κατά τη σύγκριση δειγμάτων της ομάδας Β με αυτά της ομάδας C, δεν αναδείχτηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σχετικές με τις παραμέτρους δυσκαμψία και σκληρότητα. Δείγματα της ομάδας Α παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερες τιμές φορτίου κατάγματος συγκρινόμενα με εκείνα της ομάδας Β και C. Αναφορικά με το σύνολο των μηχανικών παραμέτρων, τα δείγματα από τις υπο-ομάδες A1, B1 και C1 (υποομάδες ελέγχου) παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερες τιμές συγκρινόμενα με χρονικά ισοδύναμες υποομάδες ενεργής θεραπείας.

Η εκτίμηση των δεδομένων που σχετίζονται με ιστολογικές παραμέτρους και αποτελέσματα της PQ-CT είναι υπό επεξεργασία.

Λέξεις κλειδιά: οστεοπόρωση, διφωσφονικά, ζώα

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Θεόφιλος Καραχάλιος, Καθηγητής Ορθοπαιδικής, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα *(επιβλέπων)*

Κωνσταντίνος Μαλίζος, Καθηγητής-Διευθυντής Ορθοπαιδικής Κλινικής, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα

Σωκράτης Βαρυτιμίδης, Αναπληρωτής Καθηγητής Ορθοπαιδικής, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα

Aikaterini Veloni

Biphosphonates' effect on fracture healing. An experimental study on rabbits.

Summary

Biphosphonates are used for the treatment of postmenopausal, glucocorticoid induced osteoporosis, Paget's disease and neoplastic disorders associated with secondary deposits, bone destruction and hypercalcemia. Generally these agents show an antiosteoclastic effect, improve BMD, reduce fracture risk and tend to normalize serum alkaline phosphatase and calcium homeostasis in high bone turnover states. Different routes of administration and dosage regimens are prescribed for different specific indications.

Bone turnover, in adults, occurs in approximately 3-6 month cycles. Biphosphonates have a chemical structure similar to that of pyrophosphate, part of the mineral phase of bone. This chemical substitution (P-C-P vs P-O-P) causes an inhibition of bone resorption. At a cellular level, biphosphonates inhibit local osteoclast recruitment on bone surfaces and reduce the ability of osteoclasts to bind to bone. Also BPs reduce the lifespan of osteoclasts. There are two classes of biphosphonates. The simple biphosphonates of lower potency (e.g. etidronate) do not contain nitrogen and have low antiresorptive activity. The bisphosphonates of higher potency, nitrogen containing (e.g. zoledronic acid, ibandronate) have approximately 100 to 10.000 times the resorptive potency of etidronate. Investigators have speculated on whether modern biphosphonates can play an important role in fracture repair by enhancing the healing process and limiting disuse osteoporosis.

The purpose of this study is a head to head comparison of the effects of different biphosphonates on fracture healing. New Zealand white male rabbits, weighting 3.0-3.5 kg and skeletally mature (>3 months) were used. A midshaft right ulna osteotomy was performed on 63 animals using a thin oscillating saw under general anaesthesia. All animals were left free to move as pain allowed. Biphosphonates (zolendronic acid and ibandronate) were administered as a single dose after surgery.

Animals were allocated in three different groups of 21. Experimental animals of group A-21 (A1-7 control group, A2-7 zoledronic acid, A3-7 ibandronate) were killed at 3 weeks using a high intravenous dose of trapanal. Experiments of group B-21 (B1-7 control group, B2-7 zoledronic acid, B3-7 ibandronate) were killed at 6 weeks. Experimental animals of group C-21 (C1-7 control group, C2-7 zoledronic acid, C3-7 ibandronate) were killed at 12 weeks. Both ulnae were dissected PQ-CT scans were performed and the mechanical properties and the histology of the osteotomy site were evaluated. The left ulna was used as a control. In an initial pilot study, complete union was recorded at six weeks.

Serial lateral radiographs were available for all animals (postoperatively, first week and every week thereafter). The existence of complete union (two cortices bridging the osteotomy site), incomplete union (one cortex bridging the osteotomy site) and non-union (no bridging of the osteotomy site) at six weeks was recorded following a panel review of radiographs and the ratio diameter callus/diameter bone (dC/dB) was calculated.

The mechanical properties of the rabbit's ulnae bone were studied using a Karl - Frank computerized testing machine. All specimens were kept wet in normal saline with the tests being performed within twenty minutes after harvesting. A three point bending test, applying a low cross-head displacement rate of 0.05 mm/sec, was used. The bending load was applied to the concave surface of the right ulna at the site of the osteotomy. On the left ulna, the load was applied at the midshaft. The span (L) of loaded bone was 30 mm to guarantee that 85-90% of the flexure of the bone was due to bending. Low fracture criteria were set at the level of 5 N in order to avoid structural damage of the specimens and to facilitate histomorphometric evaluation. Load - Deflexion curves were taken and from these the structural bone mechanical parameters of fracture load (N), stiffness (N/mm) and toughness (N.mm) were estimated. The values of all mechanical parameters of the right ulna were recorded as a per cent value of those of the contralateral intact ulna in an attempt to minimize the effect of genetic and anatomical variations between animals.

After the mechanical tests were completed, the right ulnae specimens of all animals were fixed in 10% buffer formalin. Then 5 mm thick slices were obtained, using a low speed diamond sawing machine, including the fracture callus and normal cortex from both sides. The specimens were dehydrated in degraded alcohol and embedded in methylmethacrylate. Histological sections, 8-10 cm thick, were cut on a Polycut Model microtome and stained with Goldner. Histomorphometric

measurements were calculated on light microscopy using a semi-automatized OsteoMeasure software program, adopting standardization of nomenclature, symbols and units, according to the American Society of Bone and Mineral Research (ASBMR) Histomorphometry Nomenclature Committee. The following primary parameters and derived indices of the callus were evaluated: number of osteoblasts (NOb) and osteoclasts (NOc), osteoblast's (ObPm) and osteoclast's (OcPm) perimeter, osteoblast (ObS/BS) or osteoclast (OcS/BS) surface/bone surface, number of osteoblasts (NOb/BPm) or number of osteoclasts (NOc/BPm)/bone perimeter, number of osteoblasts/osteoblast perimeter (NOb/ObPm), number of osteoclasts/osteoclast perimeter (NOc/OcPm), trabecular number (TbN), trabecular thickness (TbTh) and trabecular separation (TbSp).

Experimental procedures were reviewed and approved by an institutional animal care committee in accordance with the current National policy for experimentation in animals.

For statistical analysis the parametric method of one-way ANOVA analysis of variance was used, with or without previous transformations of the values. The normality and homogeneity of the measurements were tested with the Shapiro-Wilk and the Levene tests respectively. For the identification of relative statistical differences between groups, the Duncan test was used. For the analysis of the results, we used the statistical software SPSS for Windows (version 11.5) and all the tests were made with a level of possibility $p \leq 0.05$. A post-hoc statistical power analysis (G*Power software for Windows v.2) was also performed with a level of significance a=0,05. The power of the study for the biomechanical parameters ranged between 97-99%, for the histomorphometric parameters between 77-99% and for the ratio dC/dB was 49%.

On radiological evaluation, initial signs of formation of periosteal callus were apparent at the 3rd week time interval, while signs of bridging of the osteotomy site appeared at the same time. The incidence of union, incomplete union and nonunion at six and twelve weeks was calculated. The mean values of the ratio dC/dB at six and twelve weeks in all groups were also estimated. No statistically significant differences were found between groups when the above ratio was evaluated.

On mechanical testing, when specimens from Group B were compared to those of group C there were no statistically significant differences concerning the parameters stiffness and toughness. Specimens from group A showed statistically significantly lower fracture load values compared to those of group B and C. Concerning all mechanical parameters, specimens from Groups A1, B1 and C1 (controls) showed statistically significantly lower values when compared to those time equivalent groups with active treatment.

The evaluation of data related to histological parameters and PQ-CT recordings is still in progress.

Key words: osteoporosis, biphosphonates, animals

Three - Member Supervisory Committee

Theofilos Karachalios, Professor of Orthopaedics, Faculty of Medicine, School of Health Sciences, University of Thessaly, Larissa, Greece *(supervisor)*

Konstantinos Malizos, Professor – Director of Orthopaedic Clinic, Faculty of Medicine, School of Health Sciences, University of Thessaly, Larissa, Greece

Sokratis Varytimidis, Associate Professor of Orthopaedics, Faculty of Medicine, School of Health Sciences, University of Thessaly, Larissa, Greece

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Αικατερίνη Βελώνη** μεγάλωσε στην Καστοριά. Από το 1999 ως το 2005, φοίτησε στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Από το 2005 ως το 2007, διετέλεσε αγροτική ιατρός στο ΠΙ Λιβαδίου Ελασσόνας και από το 2007 ως το 2009, ειδικευόμενη ιατρός Γενικής Χειρουργικής στο Γ. Ν. Καστοριάς. Ταυτόχρονα υπήρξε επιστημονική συνεργάτιδα της Ορθοπαιδικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας. Τα έτη 2009 ως 2011, υπηρέτησε ως ειδικευόμενη Ορθοπαιδικής στο Γενικό Νοσοκομείο Καρδίτσας. Από το 2012, υπηρετεί ως ειδικευόμενη Ορθοπαιδικής στο ΠΓΝ Λάρισας. Στο πλαίσιο της εκπαίδευσης, παρακολούθησε την Παιδοορθοπαιδική στο Klinikum Dortmund στη Γερμανία. Είναι συγγραφέας ενός κεφαλαίου βιβλίου ορθοπαιδικής και δύο δημοσιεύσεων σε επιστημονικά περιοδικά. Η διδακτορική διατριβή που έχει εκπονήσει σχετίζεται με την οστεοπόρωση. Είναι μητέρα 2 παιδιών.

Short CV

Aikaterini Veloni was born in Kastoria. From 1999 till 2005, she studied in the School of Health Sciences at the Faculty of Medicine of the University of Thessaly (Greece). From 2005 till 2007, she served as a medical doctor in the Health center of Livadi, Elassona and from 2007 till 2009, she was a resident in the Department of General Surgery in the General Hospital of Kastoria. In the meantime, she was a scientific associate of the Orthopaedic Department of the University Hospital of Larissa. From 2009 till 2011, she served as a resident of Orthopaedics in the general Hospital of Karditsa. Since 2012, she serves as a resident of Orthopaedics in the University Hospital of Larissa. In terms of her education in orthopaedic surgery, she attended children's orthopaedics in Klinikum Dortmund in Germany. She is a co-writer in a chapter of an orthopaedic book and she has two publications in scientific journals. Her thesis is on osteoporosis. She is the mother of two sons.

Γεωργία Γεωργιάδου

Διερεύνηση της δράσης των παραγώγων του crocus sativus l., επί του κεντρικού νευρικού συστήματος στον επίμυ

Περίληψη

Ο κρόκος ο ήμερος (*Crocus Sativus L.*) είναι ένα σπάνιο φυτό, γνωστό από την αρχαιότητα, που καλλιεργείται σε χώρες της Μεσογείου και της Κεντρικής Ασίας. Τα αποξηραμένα κόκκινα στίγματα του άνθους του παρέχουν το μπαχαρικό σαφράν ή ζαφορά, προϊόν υψηλής φαρμακευτικής, χρωστικής και αρτυματικής αξίας. Η χημική ανάλυση των εκχυλισμάτων του φυτού έχει δείξει πως τα βασικά δρώντα συστατικά του σαφράν είναι τα καροτενοειδή κροκετίνη και κροκίνες, καθώς επίσης και οι μονοτερπενικές αλδεΰδες πικροκροκίνη και σαφρανάλη. Το έντονο χρώμα του σαφράν οφείλεται στην κροκετίνη και στις κροκίνες, η πικροκροκίνη είναι υπεύθυνη για τη χαρακτηριστική γεύση του, ενώ η σαφρανάλη παρέχει στο μπαχαρικό την ιδιαίτερη μυρωδιά του.

Ένας διαρκώς αυξανόμενος αριθμός μελετών, τόσο σε προκλινικό όσο και σε κλινικό επίπεδο, έχει αναδείξει τις ευεργετικές επιδράσεις των κροκινών σε διάφορα συστήματα και σε ποικίλες παθήσεις. Συγκεκριμένα, ερευνητικές εργασίες έχουν αποκαλύψει τις αξιοσημείωτες χημειοπροστατευτικές, αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις, αντικαρκινικές και καρδιοπροστατευτικές ιδιότητες των κροκινών. Όσον αφορά στο κεντρικό νευρικό σύστημα, υπάρχουν ενδείξεις ότι οι κροκίνες παρουσιάζουν αξιοσημείωτη νευροπροστατευτική δράση, δρουν ευεργετικά σε διαδικασίες μάθησης και μνήμης και ελαττώνουν τη βαρύτητα των συμπτωμάτων σε πειραματικά μοντέλα επιληψίας, νόσου Πάρκινσον και εγκεφαλικής ισχαιμίας. Κλινικές μελέτες ανέδειξαν μάλιστα και την αντικαταθλιπτική τους δράση, η οποία βρέθηκε συγκρίσιμη με εκείνη της φλουοξετίνης και της ιμιπραμίνης. Καθώς παραμένει άγνωστο αν η δρόγη αυτή παρεμβαίνει και σε άλλες παθοφυσιολογικές οδούς του νευρικού συστήματος, στόχος της διατριβής ήταν η διερεύνηση πιθανής ευεργετικής δράσης των κροκινών σε πειραματικά μοντέλα άγχους, ιδεοψυχαναγκαστικής διαταραχής και σχιζοφρένειας σε επίμυες του γένους Wistar.

Για να διερευνήσουμε την επίδραση των κροκινών στο άγχος επιλέχθηκε η δοκιμασία φωτός – σκότους, ένα πειραματικό μοντέλο που αξιολογεί την αγχολυτική δράση ουσιών σε επίμυες, εκμεταλλευόμενο τη φυσική αποστροφή των επίμυων προς το φως. Η συσκευή αποτελείται από έναν αδιαφανή πλαστικό χώρο, χωρισμένο σε δύο διαμερίσματα ίσων διαστάσεων, που επικοινωνούν μεταξύ τους με μια μικρή θύρα. Το ένα διαμέρισμα έχει μαύρο χρώμα και φέρει κάλυμμα οροφής, ενώ το άλλο έχει λευκό χρώμα και δε διαθέτει κάλυμμα, αλλά αντίθετα φωτίζεται από μια λάμπα 60W. Το πειραματόζωο τοποθετείται στο κέντρο του φωτεινού διαμερίσματος και αφήνεται ελεύθερο για 5 λεπτά. Η έκθεση στο φως του προκαλεί άγχος και το αναγκάζει να ζητήσει καταφύγιο στο σκοτεινό διαμέρισμα. Μια αγχολυτική ουσία αναστέλλει αυτή τη συμπεριφορά, με αποτέλεσμα το πειραματόζωο να παραμένει για περισσότερο χρόνο στο φωτεινό διαμέρισμα. Η επίδοση των πειραματόζωων υπολογίζεται με το λανθάνοντα χρόνο εισόδου στο σκοτεινό διαμέρισμα, το συνολικό χρόνο που το πειραματόζωο δαπάνησε στο φωτεινό διαμέρισμα και με τον ολικό αριθμό διελεύσεων από το ένα διαμέρισμα στο άλλο.

Για τη μελέτη της πιθανής επίδρασης των κροκινών στην ιδεοψυχαναγκαστική διαταραχή χρησιμοποιήσαμε την μετα-χλωρο-φαινυλ-πιπεραζίνη (m–CPP), έναν σεροτονινεργικό αγωνιστή, που έχει βρεθεί ότι επάγει συμπεριφορές αυτοκαθαρισμού σε επίμυες και επιδεινώνει τη συμπτωματολογία ασθενών με ιδεοψυχαναγκαστική διαταραχή. Η πειραματική διάταξη αποτελείται από έναν πλαστικό διαφανή κλωβό, ο οποίος συνδέεται με συσκευή ψηφιακής καταγραφής της κινητικότητας του πειραματόζωου. Κάθε πειραματόζωο τοποθετείται στο κέντρο του κλωβού και αφήνεται ελεύθερο για 10 λεπτά, ώστε να εξοικειωθεί με το χώρο. Ακολούθως λαμβάνει την φαρμακολογική αγωγή που του αντιστοιχεί και επανατοποθετείται στον κλωβό, όπου αφήνεται για 20 λεπτά, κατά τη διάρκεια των οποίων βιντεοσκοπείται η συμπεριφορά του και καταγράφεται η κινητικότητά του. Ακολούθως γίνεται η επεξεργασία των δεδομένων, κατά την οποία καταμετράται σε δευτερόλεπτα ο συνολικός χρόνος που το πειραματόζωο αφιέρωσε σε διαδικασίες αυτοκαθαρισμού, καθώς και ο αριθμός των επεισοδίων αυτοκαθαρισμού που παρουσίασε κάθε επίμυς.

Τέλος, για να διερευνήσουμε την αποτελεσματικότητα των κροκινών σε πειραματικά πρότυπα σχιζοφρένειας επιλέχθηκαν τρεις συμπεριφορικές τεχνι-

κές: η δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου για τα νοητικά ελλείμματα, η δοκιμασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης για τα αρνητικά συμπτώματα και μια δοκιμασία ανοικτού πεδίου για τα θετικά συμπτώματα. Κοινό στοιχείο και στα τρία πειραματικά μοντέλα ήταν η πρόκληση παθολογικών συμπτωμάτων με τη χρήση της κεταμίνης, ενός μη συναγωνιστικού ανταγωνιστή του NMDA υποδοχέα, ο οποίος σε υποαναισθητικές δόσεις επάγει ένα ψυχωσεομιμητικό σύνδρομο που χαρακτηρίζεται από υπερκινητικότητα, αταξία, στερεοτυπίες, κοινωνική απόσυρση και ελλείμματα λειτουργικής μνήμης. Ως εκ τούτου χρησιμοποιείται ευρέως σε πειραματικά μοντέλα σχιζοφρένειας.

Συνοπτικά η δοκιμασία αναγνώρισης νέου αντικειμένου είναι μια συμπεριφορική τεχνική που αξιολογεί την αναγνωριστική μνήμη στους επίμυες και βασίζεται στην φυσική τάση τους να εξερευνούν νέα αντικείμενα. Σε αυτήν, τα πειραματόζωα, μετά από μια δοκιμή εκπαίδευσης με δύο πανομοιότυπα αντικείμενα, εκτίθενται κατά τη δεύτερη φάση του πειράματος σε ένα καινούριο αντικείμενο που έχει αντικαταστήσει ένα από τα δύο ίδια αντικείμενα της πρώτης δοκιμής. Αν ο επίμυς εξερευνήσει για περισσότερο χρόνο το νέο από το ήδη γνωστό αντικείμενο αυτό αποτελεί ένδειξη καλής μνήμης.

Η δοκιμασία κοινωνικής αλληλεπίδρασης χρησιμοποιήθηκε ως πειραματικό πρότυπο των αρνητικών συμπτωμάτων της σχιζοφρένειας. Σύμφωνα με αυτή, δύο πειραματόζωα που έχουν λάβει ίδια αγωγή, έχουν παρόμοιο βάρος και είναι άγνωστα μεταξύ τους, τοποθετούνται ταυτόχρονα στον κλωβό κινητικότητας και αφήνονται ελεύθερα για 10 λεπτά, κατά τη διάρκεια των οποίων καταγράφεται η δραστηριότητά τους. Έπειτα, γίνεται η επεξεργασία των δεδομένων, κατά την οποία ελέγχουμε δύο παραμέτρους: το χρόνο που το ζεύγος των επίμυων αφιέρωσε σε κοινωνική αλληλεπίδραση και την κινητικότητα ως δείκτη γενικής δραστηριότητας.

Για την εκτέλεση της τρίτης τεχνικής και τη διερεύνηση των ψυχοκινητικών διαταραχών, το κάθε πειραματόζωο τοποθετείται σε κλωβό κινητικότητας και αφήνεται για 10 λεπτά ώστε να εξοικειωθεί με το χώρο. Ακολούθως απομακρύνεται από τη συσκευή, δέχεται τη φαρμακολογική αγωγή που του αντιστοιχεί και επανατοποθετείται στην πειραματική διάταξη για 10 λεπτά, στη διάρκεια των οποίων καταγράφεται η δραστηριότητά του. Έπειτα ακολουθεί η επεξεργασία των δεδομένων, κατά την οποία ελέγχουμε τις εξής παραμέτρους: την κινητικότητα, τις στερεοτυπικές κινήσεις της κεφαλής, τις στερεοτυπικές αιωρήσεις του σώματος, τις στερεοτυπικές κυκλικές κινήσεις μέσα στον κλωβό και την αταξία.

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε πως οι κροκίνες παρουσίασαν αξιοσημείωτη αγχολυτική δράση, συγκρίσιμη της διαζεπάμης, ανταγωνίστηκαν τη δράση του mCPP, ελαττώνοντας τον χρόνο που τα πειραματόζωα δαπάνησαν σε συμπεριφορά αυτοκαθαρισμού και τέλος ανέστειλαν τις ψυχοκινητικές διαταραχές, την κοινωνική απόσυρση, καθώς και τα μνημονικά ελλείμματα που προκάλεσε η κεταμίνη.

Η χρήση φυτικών ουσιών για θεραπευτικούς σκοπούς αποτελεί πανάρχαια τακτική. Ακόμη και σήμερα όμως τα φυτά αποτελούν εξαιρετικά ελκυστικές πηγές προέλευσης βιολογικά δραστικών ουσιών με θεραπευτικές ιδιότητες. Τα φυτικά σκευάσματα μπορούν να προσφέρουν σημαντικά πλεονεκτήματα όσον αφορά την ασφάλεια της θεραπείας, την ανοχή στο σκεύασμα, ακόμη και τη συμμόρφωση του αρρώστου. Η χρήση φαρμάκων φυτικής προέλευσης μπορεί να μην έχει πάντα επαρκείς επιστημονικές ενδείξεις, ωστόσο νεότερες φαρμακολογικές έρευνες ολοένα επιβεβαιώνουν τις παραδοσιακές γνώσεις για τις ιδιότητές τους. Συνεπώς η ανάγκη για περαιτέρω μελέτες είναι επιτακτική, ώστε να πιστοποιηθούν με επιστημονικά κριτήρια οι θεραπευτικές ενδείξεις, τα δοσολογικά σχήματα και το προφίλ των παρενεργειών.

Λέξεις κλειδιά: κροκίνες , επίμυς , άγχος , ιδεοψυχαναγκαστική διαταραχή, σχιζοφρένεια , mCPP, κεταμίνη

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

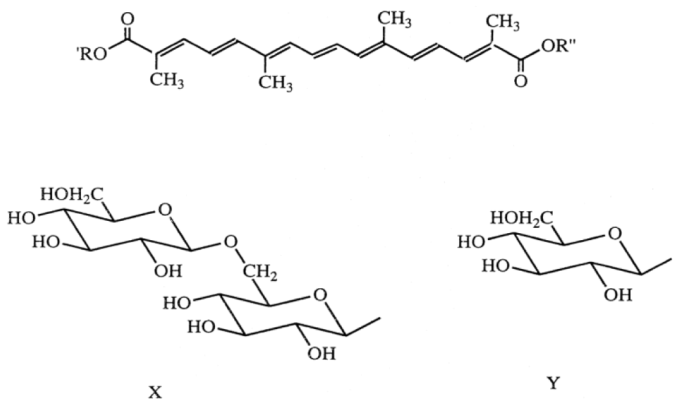
Δρ. Πιτσίκας Νικόλαος, Αναπληρωτής Καθηγητής Φαρμακολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας *(επιβλέπων)*

Δρ. Σακελλαρίδης Νικόλαος, Καθηγητής Φαρμακολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Δρ. Παπαδημητρίου Αλέξανδρος, Καθηγητής Νευρολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Εικόνα 1. *Το άνθος του κρόκου*

Picture 1. *Crocus sativus flower*



X Y

Κροκίνη 1: R' = R'' = X
Κροκίνη 2: R' = X, R'' = Y
Κροκίνη 3: R' = X, R'' = H
Κροκίνη 4: R' = Y, R'' = H
Κροκετίνη: R' = R'' = Y
X : γεντιοβιόζη
Y : γλυκόζη

Εικόνα 2. *Χημική δομή κροκινών και κροκετίνης*

Picture 2. *Chemical structure of crocetin and crocins*

Georgia Georgiadou

Effects of crocins, active constituents of Crocus sativus L., on the central nervous system of the rat

Abstract

Crocus sativus L. is a rare plant, known since antiquity, which is cultivated in countries of the Mediterranean Sea and of central Asia. The dried red stigmas of its flowers provide the spice saffron, a product of high pharmaceutical, colouring and culinary value. Chemical analysis of the plant's extracts has revealed that saffron's main active constituents are the carotenoids crocetin and crocins as well as the monoterpene aldehydes picrocrocin and safranal. Saffron's bright colour is due to crocetin and crocins, picrocrocin is responsible for its characteristic flavour, while safranal provides the spice's special scent.

A constantly growing number of studies, in preclinical as well as in clinical level has demonstrated-crocins' beneficial effects in various systems and diverse diseases. In particular, research papers have revealed remarkable chemopreventive, antioxidant, anti-inflammatory, antitumoral and cardioprotective properties of crocins. Regarding the central nervous system, there is evidence that crocins exhibit notable neuroprotective actions, act beneficially in learning and memory processes and alleviate symptoms in experimental models of epilepsy, Parkinson's disease and cerebral ischemia. Furthermore, clinical studies have revealed their antidepressant effect, which was found similar to that of fluoxetine and imipramine. Since it remains unknown if this drug affects other pathophysiological routes of the central nervous system, the aim of this study was to investigate the possible beneficial action of crocins on experimental models of anxiety, obsessive-compulsive disorder and schizophrenia in Wistar rats.

In order to examine the effect of crocins on anxiety we selected the light/dark test, an experimental model which evaluates the anxiolytic action of compounds in rodents and is based on their innate aversion to brightly illuminated areas. The test apparatus consists of a wooden box divided into two compartments of equal size, which communicate through a small doorway. One of the compartments is coloured black and is covered with a lid, whereas the other is coloured white, has no roof and is illuminated by a 60-W bulb. The animal is placed in the center of the light compartment and is left free for 5 minutes. Exposure to light causes anxiety to the rat and forces it to seek shelter into the dark compartment. An anxiolytic compound reverses this behaviour, thus the animal remains in the light compartment longer. Rats' performance is measured by the latency to enter the dark chamber, the total time spent in the light chamber and the total number of transitions between compartments.

For the evaluation of crocins' possible effects on obsessive-compulsive disorder we selected m–chlorophenylpiperazine (m-CPP), a serotoninergic agonist, which is known to induce excessive self-grooming in rats and exacerbates symptoms in patients suffering from obsessive-compulsive disorder. The apparatus consists of a cage made of plexiglass. The cage is connected to a device, which records digitally the rats' motor activity. Each animal is placed individually into the center of the apparatus and is left for 10 minutes in order to habituate. Afterwards, it receives the assigned treatment and is placed again in the cage for a 20 minute session, during which its behaviour and motility are recorded. Then data analysis follows, which includes counting in seconds the total time spent in grooming behaviour and the number of grooming events.

Finally, in order to examine crocins' efficacy in experimental models of schizophrenia, we selected three behavioural techniques: the novel object recognition task for the cognitive deficits, the social interaction test for the negative symptoms and an open field test for the positive symptoms of the disease. Common part in all three models was the generation of pathological symptoms through the use of ketamine, a non-competitive antagonist of the NMDA receptor, which in subanesthetic dosage produces a psychotomimetic syndrome, characterized by hyperlocomotion, ataxia, stereotypies, social withdrawal and working memory deficits. Therefore, it is widely used in experimental models of schizophrenia.

Briefly the novel object recognition test is a behavioural technique which evaluates working memory in rats and is based on their spontaneous tendency to explore new objects. During the procedure, rats after a training trial with two identical

objects, are exposed during the second trial of the experiment to a novel object which has replaced one of the two similar objects of the first session. If the rat explores the novel object for a longer period than the familiar object, this is an indication of intact memory. The social interaction test was used as an experimental model of the negative symptoms of schizophrenia. According to this technique, two rats which have received the same treatment, have similar weight and are unfamiliar to each other are placed simultaneously in a motility cage and are allowed to explore one another freely for a 10 minute period, during which their activity is recorded. Afterwards, data processing is done, during which two parameters are being checked: the time that the pair of rats spent in social interaction and motility as an index of general activity.

In order to perform the third test for the exploration of the psychomotor disorders of schizophrenia, each animal is placed in a motility cage and is left there for 10 minutes to habituate. Thereafter, it is removed from the apparatus, receives the appropriate pharmacological treatment and is put again in the device for a 10 minute period, during which its activity is recorded.During the data processing which follows, the next parameters are being monitored: motor activity, stereotypic head weaving, stereotypic body swaying, stereotypic circling movements throughout the cage and ataxia.

Statistical analysis of the results demonstrated that crocins exhibited a remarkable anxiolytic effect, similar to that of diazepam, antagonized the action of mCPP reducing the time spent by rats in self-grooming and finally reversed the psychomotor disorders, social withdrawal and memory deficits, caused by ketamine.

Use of herbal medicine for therapeutic purposes is performed since immemorial times. Even today however plants constitute a particularly attractive source of chemical bioactive compounds with healing properties. Natural agents can offer advantages in terms of safety, tolerability and even patient compliance. Use of medicinal plants may not have adequate research supporting, however modern pharmacological studies are starting to confirm traditional knowledge concerning their effects. Thus, the need for further research is urgent in order to document in scientific terms the therapeutic indications, dosage and side effects.

Key words: crocins, rat, anxiety, obsessive-compulsive disorder, schizophrenia, mCPP, ketamine

Three - Member Supervisory Committee

Dr Pitsikas Nikolaos, Associate Professor of Pharmacology, Medical School, University of Thessaly, Greece *(supervisor)*

Dr Sakellaridis Nikolaos, Professor of Pharmacology, Medical School, University of Thessaly, Greece

Dr Papadimitriou Aleksandros, Professor of Neurology, Medical School, University of Thessaly, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Georgiadou, G.**, Grivas V., Tarantilis, P.A., Pitsikas, N. (2014). Crocins, the active constituents of Crocus Sativus L., counteracted ketamine-induced behavioural deficits in rats. *Psychopharmacology* (Berl). *231*(4), 717-26.
2. **Georgiadou, G.**, Tarantilis, P.A., Pitsikas, N. (2012). N. Effects of the active constituents of Crocus Sativus L., crocins, in an animal model of obsessive-compulsive disorder. *Neurosci Lett. 528*(1), 27-30.

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες Presentations in scientific conferences and meetings - workshops

1. **Georgiadou, G.**, Grivas, V., Tarantilis, P.A., Polissiou, M.G., Pitsikas, N. (2012, July) *Crocins, the active constituents of Crocus Sativus L., antagonized psychotomimetic effects produced by the NMDA receptor antagonist ketamine in rats*. Poster presented at 8th FENS Forum of Neuroscience, Barcelona, Spain.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Γεωργία Γεωργιάδου** γεννήθηκε στην Καβάλα, το 1980. Το 2000 εισήχθη με Πανελλήνιες Εξετάσεις στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, από όπου και αποφοίτησε το 2008, με βαθμό Λίαν Καλώς. Ακολούθως εργάστηκε ως ιατρός αγώνων στις Διευθύνσεις Πρωτοβάθμιας και Δευτεροβάθμιας Εκπαίδευσης Πιερίας και ως αγροτική ιατρός στο Περιφερειακό Ιατρείο Πυργετού, με τρίμηνη άσκηση στο Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας.

Το 2013, απέκτησε το Διδακτορικό της Δίπλωμα από το Εργαστήριο Φαρμακολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, με τίτλο «Διερεύνηση της δράσης των παραγώγων του Crocus Sativus L., επί του κεντρικού νευρικού συστήματος στον επίμυ», με βαθμό «Άριστα». Στη συνέχεια, εργάστηκε ως μεταδιδακτορική ερευνήτρια του Εθνικού Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών σε κλινική μελέτη με θέμα «Γενετική βάση, μεσογειακή διατροφή και νόσος Alzheimer», καθώς και σε ερευνητική εργασία με θέμα «Μηχανισμοί Παθογένειας της νόσου Πάρκινσον». Κατά τη διάρκεια εκπόνησης της διδακτορικής της διατριβής, συμμετείχε στη διδασκαλία των προπτυχιακών φοιτητών στο πλαίσιο των μαθημάτων Φαρμακολογία I και II.

Το 2008, έλαβε Έπαινο στο 5ο Πανελλήνιο Συνέδριο Φαρμακολογίας για συλλογική εργασία με τίτλο «Effects of the active constituents of Crocus Sativus L., crocins, in an animal model of anxiety.» και για το χρονικό διάστημα 2011-2013, έλαβε υποτροφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος II», για την ολοκλήρωση της διδακτορικής της διατριβής.

Γνωρίζει αγγλικά (Certificate of Proficiency in English, University of Cambridge) και γαλλικά (Certificat pratique de langue française, Université de Paris Sorbonne) και έχει επτά δημοσιεύσεις σε διεθνή επιστημονικά περιοδικά.

Short CV

Georgia Georgiadou was born in Kavala, Greece in 1980. In 2000, after passing successfully the admission exams, she started studying in the Medical School of the University of Thessaly and graduated in 2008. Afterwards, she worked as a medical doctor at athletic games organized by the Departments of Primary and Secondary Education of Pieria, as well as at the Regional Medical Office of Pyrgetos, after a three-month practice at the General Hospital of Larissa.

In 2013, she completed her PhD thesis at the Pharmacology Laboratory of the Medical School of the University of Thessaly, titled «Effects of the active constituents of Crocus sativus L. on the central nervous system of rats». Subsequently, she worked as a post-doctoral researcher at the National and Kapodistrian University of Athens, both in a clinical trial titled «Genetic base, mediterranean diet and Alzheimer's disease» and in a research study titled «Mechanisms of pathogenesis in Parkinson's disease». During her doctoral studies she participated in the training of pre-graduate students in the courses of Pharmacology I and II.

In 2008, she received praise in the 5th Greek Congress of Pharmacology for a collective study titled «Effects of the active constituents of Crocus Sativus L., crocins, in an animal model of anxiety» and for the years 2011-2013, she received a grant, under the programme "Heraclitus II", for the completion of her thesis.

She speaks English and French and has participated as author in seven publications of international scientific journals.

Ανδρέας Κουτσούμπας

Ανάπτυξη πρότυπης μεθόδου ταυτόχρονης ανίχνευσης είκοσι (20) αυτοαντισωμάτων με χρόνια αυτοάνοσα ηπατικά και εξωηπατικά νοσήματα

Περίληψη

Υφιστάμενη γνώση: Η διαγνωστική προσέγγιση των αυτοάνοσων νοσημάτων του ήπατος (ΑΝΗ) όπως η αυτοάνοση ηπατίτιδα (ΑΗ), η πρωτοπαθής χολική κίρρωση (ΠΧΚ) και η πρωτοπαθής σκληρυντική χολαγγειίτιδα (ΠΣΧ) απαιτεί έλεγχο για ένα μεγάλο αριθμό αυτοαντισωμάτων[1-3]. Τόσο η ΑΗ όσο οι ΠΧΚ και ΠΣΧ χαρακτηρίζονται από προοδευτική καταστροφή του ήπατος που οδηγεί στην κίρρωση και στην αυξημένη θνητότητα, ιδιαίτερα αν δεν διαγνωστούν έγκαιρα και παραμείνουν αθεράπευτες. Σε ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών, η διάγνωση γίνεται σε μη αναστρέψιμα στάδια της νόσου[4]. Η ανίχνευση των σχετιζόμενων με τα ΑΝΗ αυτοαντισωμάτων οδηγεί στην έγκαιρη διάγνωσή τους και επηρεάζει την έκβασή τους. Στην κλινική πράξη ελέγχονται μια σειρά από αυτοαντισώματα και κυρίως αυτά έναντι των λείων μυϊκών ινών (SMA, smooth muscle antibodies), αντι-πυρηνικών αντισωμάτων (ΑΝΑ, anti-nuclear antibodies), αντισωμάτων κατά μικροσωμίων ήπατος-νεφρών (anti-LKM, anti-liver kidney microsomal antibodies)[5], αντι-μιτοχονδριακών αντισωμάτων (ΑΜΑ, anti-mitochondrial antibodies), αντισωμάτων κατά του κυτταροπλάσματος των ουδετεροφίλων (ANCA, anti-neutrophil cytoplasmic antibodies)[2-3]. Η συχνότερη και η πιο κλασική μέθοδος ανίχνευσης των αυτοαντισώματων σε ΑΝΗ είναι ο Έμμεσος Ανοσοφθορισιμός (ΕΑΦ). Η μέθοδος απαιτεί χειριστές με πολύχρονη εμπειρία και εξειδίκευση για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων, ενώ παράλληλα δεν προσφέρει πληροφορίες για αντιδραστικότητα έναντι μεμονωμένων αυτοαντιγόνων και ειδικότερα εκείνων που μπορεί να είναι προγνωστικά και κλινικά χρήσιμα στα ΑΝΗ[1-2].

Γίνεται λοιπόν αντιληπτό ότι ο έλεγχος των αυτοαντισωμάτων, σχετιζόμενων με ΑΝΗ, αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι της ρουτίνας των ανοσολογικών εργαστηρίων, κάτι που υποδηλώνεται και από το γεγονός ότι τα τεστ ανίχνευσης αυτοαντισωμάτων σε ηπατικά νοσήματα συμπεριλαμβάνεται μέσα στους 5 πιο συχνούς ελέγχους αυτοαντισωμάτων για τη διερεύνηση αυτοανοσίας οποιασδήποτε αιτιολογίας. Στην καθημερινή πρακτική σήμερα, μπορεί να απαιτηθούν περισσότερες από 20 διαγνωστικές δοκιμασίες (tests) για την ανίχνευση αυτοαντισωμάτων σχετιζόμενων με τα ΑΝΗ και τις ιογενείς ηπατίτιδες με τις συμβατικές μεθόδους της ELISA, του ανοσοφθορισμού και της ανοσοαποτύπωσης.

Σκοπός: Το ερευνητικό αντικείμενο της συγκεκριμένης διατριβής έχει σκοπό την ανάπτυξη ενός νέου συστήματος για την ανίχνευση των αντισωμάτων που σχετίζονται με τα ηπατικά νοσήματα (liver disease-specific antibodies), που βασίζεται στην πολυμετρική ανάλυση (multiparametric analysis) αυτοαντισωμάτων όπως για παράδειγμα εκείνο της πολυπλεξίας σήματος με φωτοβολία και πολυμετρικής γραμμικής ανοσοαποτύπωσης.

Μέθοδοι

Βιολογικό Υλικό: Μελετήθηκαν οροί από 50 ασθενείς με ΑΗ, 75 με ΠΧΚ και 35 με ΠΣΧ.

Σχεδιασμός της μελέτης: Χρησιμοποιώντας ανασυνδυασμένα αυτοαντιγόνα σχετιζόμενα με τα ΑΝΗ αναπτύχθηκαν πολυμετρικές μέθοδοι ανάλυσης αυτοαντισωμάτων όπως αυτές της γραμμικής ανοσοαποτύπωσης (line immunoblot), profile ELISA και της πολυπλεξίας σήματος με φωτοβολία. Όσον αφορά την τελευταία, τα αυτοαντιγόνα συνδέθηκαν το καθένα με διαφορετικά χρωματισμένα με φθορισμό μικροσφαιριδία *Luminex* και επωάστηκαν με τα υπό εξέταση δείγματα ορών και διαλύματα ελέγχου. Μετά από μια δεύτερη επώαση με *R*-phycoerythrin-conjugated αντι-ανθρώπειο IgG, τα μικροσφαιρίδια αναλύθηκαν με τον ειδικό κυτταρομετρητή ροής. Η ευαισθησία και η ειδικότητα των πολυμετρικών μεθόδων συγκρίθηκε με συμβατικές μεθόδους ανίχνευσης αυτοαντισωμάτων στα ίδια δείγματα. Όλοι οι συμμετέχοντες συναίνεσαν για τη συμμετοχή τους στη μελέτη, ενώ η Επιτροπή Δεοντολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας ενέκρινε την πραγματοποίηση της μελέτης.

Στατιστική ανάλυση δεδομένων: Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του προγράμματος SPSS, 10η έκδοση και τις ανάλογες στατιστικές δοκιμασίες όπου ήταν εφαρμόσιμες.

Στον Πίνακα 1, παρουσιάζονται αναλυτικά οι δοκιμασίες ανίχνευσης αυτοαντισωμάτων που σχετίζονται με τα ΑΝΗ, τις ιογενείς ηπατίτιδες και τις εξωηπατικές αυτοάνοσες διαταραχές που σχετίζονται με τα νοσήματα αυτά, για τα οποία απαιτείται έλεγχος στην καθημερινή κλινική πρακτική. Οι συμβατικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση των αυτοαντισωμάτων αυτών αναφέρονται επίσης στον Πίνακα 1.

Αποτελέσματα

Πολυμετρική γραμμική ανοσοαποτύπωση: Αναπτύχθηκαν μέθοδοι πολυμετρικής γραμμικής ανοσοαποτύπωσης που περιλαμβάνουν τα παρακάτω αυτοαντιγόνα: M2 (PDC-E2, BCOADC-E2, OGDC-E2), gp210, sp100, F-actin, SLA, CYP2D6, FTCD, SLA, centromere, Ro-52, Ro-60, SS-B, Scl-70, Jo-1, Ribosome P.

Πολυμετρική profile ELISA: PDC-E2, BCOADC-E2, OGDC-E2, gp210, sp100

Πολυπλεξία σήματος με φωτοβολία: M2 (PDC-E2, BCOADC-E2, OGDC-E2), gp210, sp100, hTG, DGP, Sm, RNP, SS-A 60, SS-A 52, SS-B, Scl-70, Jo-1, Ribosome P, Chromatin.

Όσον αφορά την εκτίμηση της ευαισθησίας και ειδικότητας της προτεινόμενης μεθοδολογίας σε νοσήματα του ήπατος, η ερευνητική μας ομάδα ανέπτυξε σετ μικροσφαιριδίων για την ανίχνευση των ειδικών για την ΠΧΚ αντισωμάτων έναντι M2, sp100, gp210 αντιγόνων. Τα σετ αυτά δοκιμάστηκαν σε 75 δείγματα ορών ασθενών με ΠΧΚ και 84 παθολογικούς μάρτυρες (ασθενείς με χρόνια HBV, HCV και AH) και 50 υγιείς μάρτυρες. Τα απολέσματα της πολυπλεξίας σήματος με φωτοβολία δείχνουν 92-99% συμφωνία με την μέθοδο των απλών ELISA. Η ειδικότητα πολυπλεξίας σήματος με φωτοβολία ήταν εξίσου καλή ή ακόμη καλύτερη αυτών της ELISA. Κανένας από τους μάρτυρες δεν έδωσε ψευδώς θετικά αποτελέσματα.

Με βάση τα παραπάνω δεδομένα, οι πολυμετρικές μέθοδοι έχουν τα παρακάτω πλεονεκτήματα σε σχέση με τις ‘κλασικές’ μεθόδους (ELISA, ανοσοφθορισμός, ανοσοαποτύπωση)

- *Σημαντικό Κοινωνικό Όφελος* (μείωση σε 1 από πολλαπλές 5-8 του αριθμού των αιμοληψιών ανά άτομο)
- *Υψηλή Ταχύτητα* (σε 1.5 ώρα αποτελέσματα που απαιτούν 10πλάσιο χρόνο όταν ελεγχθούν με συμβατικές μεθόδους

Πίνακας 1. *Αυτοαντισώματα και αυτοαντιγόνα σχετιζόμενα με τα αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος, τις ιογενείς ηπατίτιδες και τις έξω-ηπατικές αυτοάνοσες διαταραχές τους*[3,6-9]

Νόσος	**Εργαστηριακοί δείκτες**	**Συμβατικές Μέθοδοι**
Αυτοάνοσα Νοσήματα Ήπατος		
Αυτοάνοση Ηπατίτιδα (ΑΗ)	ANA (dsDNA, histones H1, H2A, H2B, H3, H4, centromere, RNP, SSA (Ro-52, Ro-60), SSB, Jo1, chromatin, Scl-70, Sm), SMA (F-actin), anti-LKM1 (CYP2D6), anti-LC1 (FTCD), anti-SLA	ΕΑΦ, ELISA, ανοσοαποτύπωση
Πρωτοπαθής Χολική Κίρρωση (ΠΧΚ)	AMA (PDC-E2, BCOADC-E2, OGDC-E2), anti-gp210, anti-sp100, anti-p62	ΕΑΦ, ELISA, ανοσοαποτύπωση
Πρωτοπαθής Σκληρυντική Χολαγγειίτιδα (ΠΣΧ)	*Ό,τι για την ΑΗ και επί πλέον ANCA*	ΕΑΦ, ELISA
Ιογενείς Ηπατίτιδες		
Ιός της ηπατίτιδας B (HBV)	ANA, SMA	ΕΑΦ, ELISA
Ιός της ηπατίτιδας C (HCV)	ANA, SMA, anti-LKM1, anti-LC1	ΕΑΦ, ELISA
Ιός της ηπατίτιδας D (HDV)	Anti-LKM3	

Εξωηπατικές αυτοάνοσες διαταραχές		
Αυτοάνοση θυροειδίτιδα (ΑΘ)	TPO, Tg	ΕΑΦ, ELISA
Ρευματολογικά αυτοάνοσα νοσήματα	ANA (Sm, RNP, SS-A, SS-B and Scl-70, RNP, Sm, Ribosomal P κλπ)	ΕΑΦ, ELISA, ανοσοαποτύπωση
Κοιλιοκάκη	anti-hTG, DGP	ΕΑΦ, ELISA

Συντμήσεις: *ANA=αντιπυρηνικά αντισώματα, histone=ιστόνη, centromere=κεντρομερίδιο, RNP=ριβονουκλεοπρωτεΐνες, SMA=αντισώματα έναντι λείων μυϊκών ινών, anti-LKM1=αντισώματα κατά μικροσωμίων ήπατος-νεφρών τύπου 1, CYP2D6, κυτόχρωμα P450 2D6, anti-F-actin=αντισώματα έναντι νηματοειδούς (Filamentous) ακτίνης, anti-SLA=αντισώματα κατά διαλυτών αντιγόνων ήπατος, anti-LC1=αντισώματα κατά κυτοσολίων ήπατος τύπου 1, FTCD=φορμινινοτρανσφεράση της κυκλοδεαμινάσης, ANCA=αντισώματα κατά κυτταροπλάσματος ουδετεροφίλων, AMA=αντιμιτοχονδριακά αντισώματα, PDC-E2=E2 υπομονάδα του συμπλέγματος της πυρουβικής αφυδρογονάσης, BCOADC-E2=E2 υπομονάδα του συμπλέγματος της κετοξικής δεϋδρογονάσης με διακλαδούμενη άλυσο, OGDC-E2=E2 υπομονάδα του συμπλέγματος της κετογλουταρικής δεϋδρογονάσης, ΕΑΦ=έμμεσος ανοσοφθορισμός, hTG, ανθρώπειος ιστική διαγλουταμινάση, DGP, απαμιδιωμένο πεπτιδίου γλιαδίνης, chromatin=χρωματίνη, Ribosomal P=ριβόσωμα P*

- *Χαμηλό κόστος* (Μείωση του συνολικου κόστους αντιδραστηρίων και αποζημίωσης εργατικού δυναμικού)
- *Μείωση του κόστους συντήρησης* (service) πολυάριθμων μηχανημάτων
- *Εξοικονόμηση χώρων* εργαστηρίου και αποθήκευσης αντιδραστηρίων-ψυγείων
- *Μέγιστη Ευελιξία* (η ίδια τεχνολογία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τις ανάγκες Βιολόγων, Γενετιστών, Ανοσολόγων, Μικροβιολόγων, κλπ)

Συμπέρασμάτα: Οι παραμετρικές μέθοδοι για την ανίχνευση αυτοαντισωμάτων σε ΑΝΗ έχουν συγκριτικά πλεονεκτήματα σε σχέση με τις συμβατικές μεθόδους ανίχνευσης αυτοαντισωμάτων που έχουν εφαρμοστεί μέχρι σήμερα για τον πλήρη, συστηματικό & διαγνωστικό έλεγχο αυτοαντισωμάτων σε άτομα που διερευνούνται για διαταραχές των ηπατικών ενζύμων και πάσχουν ενδεχομένως από ΑΝΗ ή ιογενείς ηπατοπάθειες.

Λέξεις κλειδιά: αυτοάνοσα νοσήματα ήπατος, εξωηπατικά αυτοάνοσα νοσήματα, αυτοαντισώματα, πολυμετρικές μέθοδοι

Βιβλιογραφία

1. Bogdanos DP, Invernizzi P, Mackay IR, Vergani D. Autoimmune liver serology: current diagnostic and clinical challenges. World J Gastroenterol 2008;14:3374-87.
2. Dalekos GN, Zachou K, Liaskos C, Gatselis N. Autoantibodies and defined target autoantigens in autoimmune hepatitis: an overview. Eur J Intern Med 2002;13:293-303.
3. Zachou K, Rigopoulou E, Dalekos GN. Autoantibodies and autoantigens in autoimmune hepatitis: important tools in clinical practice and to study pathogenesis of the disease. J Autoimmune Dis 2004;1:2.
4. Krawitt EL. Autoimmune hepatitis. N Engl J Med 2006;354:54-66.
5. Zachou K, Rigopoulou EI, Tsikrikoni A, Alexandrakis MG, Passam F, Kyriakou DS, Stathakis NE, Dalekos GN. Autoimmune hepatitis type 1 and primary biliary cirrhosis have distinct bone marrow cytokine production. J Autoimmun 2005;25:283-8.
6. Liaskos C, Rigopoulou E, Zachou K, Georgiadou S, Gatselis N, Papamihali R, Dalekos GN. Prevalence and clinical significance of anticardiolipin antibodies in patients with type 1 autoimmune hepatitis. J Autoimmun 2005;24:251-60.
7. Rigopoulou EI, Dalekos GN. Anti-sp100 antibodies in primary biliary cirrhosis. Scand J Gastroenterol 2004;39:406-7; author reply 407.
8. Smyk DS, Rigopoulou EI, Koutsoumpas AL, Kriese S, Burroughs AK, Bogdanos DP. Autoantibodies in autoimmune pancreatitis. Int J Rheumatol 2012;2012:940831.
9. Mytilinaiou MG, Meyer W, Scheper T, Rigopoulou

EI, Probst C, Koutsoumpas AL, Abeles D, Burroughs AK, Komorowski L, Vergani D, Bogdanos DP. Diagnostic and clinical utility of antibodies against the nuclear body promyelocytic leukaemia and Sp100 antigens in patients with primary biliary cirrhosis. Clin Chim Acta 2012;413:1211-6.

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Ειρήνη Ι. Ρηγοπούλου, MD, PhD, Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Κωνσταντίνος Μακαρίτσης, MD, PhD, Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Δημήτριος Π. Μπόγδανος, MD, PhD, Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Andreas Koutsoumpas

Development of a prototype method for the concurrent testing of 20 antigen-specific autoantibodies in patients with autoimmune liver diseases and extra-hepatic autoimmune diseases.

Summary

Background: The diagnostic approach of autoimmune liver diseases (AiLD) such as autoimmune hepatitis (AIH), primary biliary cirrhosis (PBC) and primary sclerosing cholangitis (PSC) necessitates the detection of a large number of autoantibodies[1-3.] AIH, PBC and PSC are characterized by progressive destruction of liver leading to cirrhosis and death, especially if they are not diagnosed promptly and remain untreated. A significant proportion of patients are diagnosed late when the disease is not reversible[4]. The accurate detection of AiLD-related autoantibodies leads to prompt diagnosis and effective treatment. In routine practice, detection includes testing of SMA (smooth muscle antibodies), anti-nuclear antibodies (ANA), anti-liver kidney microsomal antibodies (LKM)[5], anti-mitochondrial antibodies (AMA), anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA)[2-3]. The most commonly-used assay for autoantibody detection is indirect immunofluorescence (IIF), but the method is observer-dependent, time-consuming and semi-quantitative. Another disadvantage of IIF is that it fails to detect antigen-specific immune responses [1-2].

It has become clear that routine testing of AiLD-related autoantibodies may require more than 20 different tests if full-pack test is required using conventional ELISA, IIF and immunoblotting.

Aim: To develop multiparametric assays for the concurrent testing of multiple antigen-specific autoantibodies for the prompt diagnosis of AiLD. Such methods include Multiple Analyte Profiling Luminex Methodology and multiple line/dot immunoassay.

Methods

Biological Material: We studied 50 patients with AIH, 75 with PBC and 35 with PSC.

Study design: Using recombinant AiLD-related autoantigens, we developed multiparametric assays such as line immunoblot, profile ELISA and flowcytometric multiplexing. Ethics committee approval has been obtained for the completion of the study. Statistical analysis will be carried using SPSS, v10.

Table 1 provides a list of autoantibodies routinely tested in individuals with a suspicion of an autoimmune liver disease.

Results

Polymetric Linear blotting: We developed polymetric linear blotting which includes PBC-specific autoantigens M2 (PDC-E2, BCOADC-E2, OGDC-E2), PBC-specific ANA (gp210, sp100), AIH (F-actin, SLA, CYP2D6, FTCD, SLA), centromere, Ro-52, Ro-60, SS-B, Scl-70, Jo-1, Ribosome P.

Polymetric (profile) ELISA: PDC-E2, BCO-ADC-E2, OGDC-E2, gp210, sp100

Luminex multiplexing: M2 (PDC-E2, BCOADC-E2, OGDC-E2), gp210, sp100, hTG, DGP, Sm, RNP, SS-A 60, SS-A 52, SS-B, Scl-70, Jo-1, Ribosome P, Chromatin.

Table 1. *A list of autoantibodies routinely tested in individuals with a suspicion of an autoimmune liver disease, viral hepatitides and extra-hepatic autoimmune diseases* [3, 6-9]

Disease	**Autoantibody**	**Conventional assay**
Autoimmune Liver Diseases		
Autoimmune Hepatitis (AIH)	ANA (dsDNA, histones H1, H2A, H2B, H3, H4, centromere, RNP, SSA (Ro-52, Ro-60), SSB, Jo1, chromatin, Scl-70, Sm), SMA (F-actin), anti-LKM1 (CYP2D6), anti-LC1 (FTCD), anti-SLA	IIF, ELISA, immunoblotting
Primary biliary cirrhosis (PBC)	AMA (PDC-E2, BCOADC-E2, OGDC-E2), anti-gp210, anti-sp100, anti-p62	IIF, ELISA, immunoblotting
Primary sclerosing cholangitis (PSC)	*As AIH, and ANCA*	IIF, ELISA
Viral hepatitides		
Hepatitis B virus (HBV)	ANA, SMA	IIF, ELISA
Hepatitis C virus (HCV)	ANA, SMA, anti-LKM1, anti-LC1	IIF, ELISA
Hepatitis D virus (HDV)	Anti-LKM3	
Extrahepatic autoimmune diseases		
Autoimmune thyroiditis	TPO, Tg	IIF, ELISA
Autoimmune rheumatic diseases	ANA (Sm, RNP, SS-A, SS-B and Scl-70, RNP, Sm, Ribosomal P κλπ)	IIF, ELISA, immunoblotting
Celiac disease	anti-hTG, DGP	IIF, ELISA

The sensitivity of the multiparametric methods was comparable or superior to conventional assays such as single-antigen ELISA or IIF. The specificity of the multiparametric assays was >95%. For example, we developed set of microspheres for the detection of antigen-specific PBC-autoantibodies against M2, sp100, gp210 antigens. The sets were tested in 75 serum samples patients with PBC, 84 patients with pathological controls (patients with chronic HBV, HCV and AIH) and 50 healthy controls. The results of multiplexing with the Luminex technology showed 92-99% concordance rates with the conventional ELISAs. The specificity of the multiparametric assays (92-99%) is comparable to conventional ELISA or IIF.

Based on the above, multiparametric assays (profile ELISAs, line or dot immunoassays and multiplexing) are advantageous compared to the classic autoantibody detection methods such as conventional IIF or single antigen ELISA and immunoblotting. Such advantages are the following:

1. *Social impact*: *reduction of blood sampling per individual*
2. *High throughput*
3. *High speed (tests are completed in 1.5h)*
4. *Cost effectiveness*
5. *Limitation of Space requirements for equipment and storage*
6. *Flexibility* (the technology can be used for autoantibody as well as antigen detection in biological fluids)

Conclusions: Multiparametric test assays for the detection of liver-disease related autoantibodies have several advantages compared to conventional assays, which have so far been used for autoantibody detection in individuals with a clinical suspicion of autoimmune liver disease. These assays can also be used for autoantibody behaviour over time in patients with an established autoimmune liver disease.

Key words: autoimmune liver diseases, extra-hepatic autoimmune diseases, autoantibodies, multiparametric assays

References

1. Bogdanos DP, Invernizzi P, Mackay IR, Vergani D. Autoimmune liver serology: current diagnostic and clinical challenges. World J Gastroenterol 2008;14:3374-87.
2. Dalekos GN, Zachou K, Liaskos C, Gatselis N. Autoantibodies and defined target autoantigens in autoimmune hepatitis: an overview. Eur J Intern Med 2002;13:293-303.
3. Zachou K, Rigopoulou E, Dalekos GN. Autoantibodies and autoantigens in autoimmune hepatitis: important tools in clinical practice and to study pathogenesis of the disease. J Autoimmune Dis 2004;1:2.
4. Krawitt EL. Autoimmune hepatitis. N Engl J Med 2006;354:54-66.
5. Zachou K, Rigopoulou EI, Tsikrikoni A, Alexandrakis MG, Passam F, Kyriakou DS, Stathakis NE, Dalekos GN. Autoimmune hepatitis type 1 and primary biliary cirrhosis have distinct bone marrow cytokine production. J Autoimmun 2005;25:283-8.
6. Liaskos C, Rigopoulou E, Zachou K, Georgiadou S, Gatselis N, Papamihali R, Dalekos GN. Prevalence and clinical significance of anticardiolipin antibodies in patients with type 1 autoimmune hepatitis. J Autoimmun 2005;24:251-60.
7. Rigopoulou EI, Dalekos GN. Anti-sp100 antibodies in primary biliary cirrhosis. Scand J Gastroenterol 2004;39:406-7; author reply 407.
8. Smyk DS, Rigopoulou EI, Koutsoumpas AL, Kriese S, Burroughs AK, Bogdanos DP. Autoantibodies in autoimmune pancreatitis. Int J Rheumatol 2012;2012:940831.
9. Mytilinaiou MG, Meyer W, Scheper T, Rigopoulou EI, Probst C, Koutsoumpas AL, Abeles D, Burroughs AK, Komorowski L, Vergani D, Bogdanos DP. Diagnostic and clinical utility of antibodies against the nuclear body promyelocytic leukaemia and Sp100 antigens in patients with primary biliary cirrhosis. Clin Chim Acta 2012;413:1211-6.

Three - Member Supervisory Committee

Eirini I. Rigopoulou, MD,PhD, Assistant Professor in Internal Medicine, University of Thessaly, Greece

Konstantinos P. Makaritsis, MD, PhD, Assistant Professor in Internal Medicine, University of Thessaly, Greece

Dimitrios P. Bogdanos, MD, PhD, Assistant Professor in Internal Medicine, University of Thessaly, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Ανακοινώσεις σε συνέδρια και ημερίδες Presentations in conferences and meetings - workshops

1. Pavlidis, P., Shums, Z., **Koutsoumpas, A.L.**, Milo, J., Papp, M., Uemurea, T., Symk, D., Bogdanos, D.P., Forbes, A., Norman, G.L. (2014, March). *Diagnostic and clinical significance of Crohn's disease-specific ANTI-MZGP2 antibodies by a novel ELISA*. Paper presented at 9th International Congress of Autoimmunity, Nice, France.
2. Pavlidis, P., Romanidou, O., Roggenbuck, D., Mytilinaiou, M.G., **Koutsoumpas, A.L.**, Al-Sulttan, F., Conrad, K., Forbes, A. Bogdanos, D.P. (2012, May). *Ileal inflammation is a prerequisite for the development of GP2-specific pancreatic autoantibodies in patients with Crohn's disease*. Paper presented at 8th International Congress of Autoimmunity, Granada, Spain.
3. Rigopoulou, E.I., **Koutsoumpas, A.L.**, Smyk, D.S., Mytilinaiou, M.G., Forbes, A., Vergani D., Conrad, K., Bogdanos, D.P. (2012, May). *Molecular mimicry and immunological cross-reactivity between enteroviral and pancreatic autoantigens. Implications for the pathogenesis of type 1 diabetes.* Paper presented at 8th International Congress of Autoimmunity, Granada, Spain.

Σύντομο Βιογραφικό

Ο **Ανδρέας Κουτσούμπας** είναι πτυχιούχος του Τμήματος Ιατρικής του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης. Ολοκλήρωσε την ειδικότητα της Γαστρεντερολογίας στο Λονδίνο (UCH) και στην Αθήνα (1ο Νοσοκομείο ΙΚΑ). Μετά το πέρας της ειδικότητας, μετεκπαιδεύτηκε στα Ιδιοπαθή Φλεγμονώδη Νοσήματα του Εντέρου (ΙΦΝΕ) και στον Ενδοσκοπικό Υπέρηχο στο UCH (Λονδίνο).

Εργάζεται ως Senior Clinical Fellow in Gastroenterology στο John Radcliffe Hospital στην Οξφόρδη, όπου και εκπαιδεύεται σε ‘Advanced Endoscopy’. Ολοκληρώνει εξ αποστάσεως μεταπτυχιακό τίτλο σπουδών στο Ελληνικό Ανοικτό Πανεπιστήμιο και είναι Διδάκτωρ της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Τα ερευνητικά του ενδιαφέροντα περιλαμβάνουν τα αυτοάνοσα νοσήματα του ήπατος και τα ΙΦΝΕ, με έμφαση στην παθογένεση των νόσων αυτών και στους ορολογικούς τους δείκτες, καθώς και Advanced Endoscopy Techniques.

Είναι συγγραφέας 18 άρθρων σε περιοδικά διεθνούς εμβέλειας. Είναι ενεργό μέλος της Ελληνικής Γαστρεντερολογικής Εταιρείας, της Ελληνικής Εταιρείας Μελέτης Ήπατος, των British Society of Gastroenterology, European Crohn’s and Colitis Organisation, European Association for the Study of Liver και Fellow of European Board of Gastroenterology and Hepatology.

Short CV

Andreas Koutsoumpas graduated from Medical School (Aristotle University) in Thessaloniki, Greece. He was trained in Gastroenterology in London (UCH) and in Athens (1st IKA Hospital). Post CCT, he was trained in Inflammatory Bowel Diseases (IBD) and in Endoscopic Ultrasound at UCH, London.

He is currently a Senior Clinical Fellow in Gastroenterology at John Radcliffe Hospital, Oxford and he is training in Advanced Endoscopy. He is about to complete a Master’s Degree in Hellenic Open University (distance learning) and he has completed a PhD at the University of Thessaly (Medical School). His research interests include liver autoimmune diseases, IBD, with an emphasis on disease pathogenesis and serological markers and Advanced Endoscopy Techniques.

He has published 18 articles in peer-reviewed journals. He is active member of the Hellenic Society of Gastroenterology, the Hellenic Association for the Study of Liver Diseases, the British Society of Gastroenterology, the European Crohn’s and Colitis Organisation, the European Association for the Study of the Liver and he is a Fellow of the European Board of Gastroenterology and Hepatology.

Αντιγόνη Μαμάρα

Μελέτη των γονιδίων και των πρωτεϊνών TACI και ICOS σε ασθενείς με λεμφοπαραγωγά σύνδρομα

Περίληψη

Εισαγωγή: Τα λεμφοπαραγωγά σύνδρομα (Β χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία, Non-Hodgkin λεμφώματα υψηλού και χαμηλού βαθμού κακοήθειας, κλπ.) αποτελούν τη συχνότερη αιματολογική κακοήθεια στο Δυτικό κόσμο, με σημαντική νοσηρότητα και θνητότητα. Πρόσφατα, έχει δειχθεί ότι ο φαινότυπος και η πρόγνωση των λεμφοπαραγωγών συνδρόμων σχετίζεται με το γονότυπο διαφόρων ανοσογονιδίων (π.χ. IL-10) κι ιδιαίτερα της υπεροικογένειας του TNF (π.χ. CD40). Οι υποδοχείς *TNFRSF13B/TACI* και *TNFRSF13C/BAFFR* ενεργοποιούν το μεταγραφικό παράγοντα NF-κB και παίζουν σημαντικό ρόλο στην ομοιόσταση, στην ισοτυπική μεταστροφή και στη διαφοροποίηση των φυσιολογικών Β-κυττάρων, ενώ ο υποδοχέας ICOS συμμετέχει στην ενεργοποίηση των Β-κυττάρων, κατά τη διάρκεια θυμοεξαρτώμενων ανοσιακών απαντήσεων. Τα μόρια αυτά, τα οποία φαίνεται να έχουν κομβική συμμετοχή στις θυμοανεξάρτητες και θυμοεξαρτώμενες ανοσιακές απαντήσεις αντίστοιχα, έχουν πρόσφατα συγκεντρώσει το ενδιαφέρον των ερευνητών, στο βαθμό που κλινικές δοκιμές με αντι-TACI μονοκλωνικά αντισώματα βρίσκονται ήδη σε εξέλιξη. Γενετικές βλάβες στα γονίδιά τους είχαν συσχετιστεί στο παρελθόν με τις αντισωματικές ανεπάρκειες, ενώ παράλληλα, οι ασθενείς με ανοσοανεπάρκειες έχουν μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης λεμφώματος σε σχέση με το γενικό πληθυσμό. Παρά ταύτα, ο ακριβής βιολογικός ρόλος των μορίων και η σχέση τους με τα παραπάνω νοσήματα δεν έχουν ακόμη διελευκανθεί επαρκώς. Σκοπός της συγκεκριμένης μελέτης ήταν: i) η μελέτη του γονιδίου *TNFRSF13B/TACI* σε Έλληνες ασθενείς με αντισωματικές ανεπάρκειες και ii) η μελέτη των μορίων TACI, BAFFR και ICOS σε ασθενείς με Β χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία, η πιθανή συσχέτιση της έκφρασής τους με την εμφάνιση και τον φαινότυπο της νόσου, αλλά και η σημασία της στόχευσής τους.

Υλικό και Μέθοδοι: Συλλέχθηκαν 53 δείγματα ασθενών με αντισωματικές ανεπάρκειες (18 με CVID, 17 με sIgAD, 14 με sIgG4 και 4 με παροδική υπογαμμασφαιριναιμία της νεογνικής ηλικίας), 94 δείγματα ασθενών με ΧΛΛ, 30 δείγματα ασθενών με NHL και 315 δείγματα φυσιολογικών μαρτύρων. Στα δείγματα των ασθενών και σε ένα μέρος των δειγμάτων των φυσιολογικών μαρτύρων πραγματοποιήθηκε ολοκληρωμένος αιματολογικός, ανοσοφαινοτυπικός και ορολογικός έλεγχος, ενώ στους ασθενείς με ΧΛΛ έγινε παράλληλα καταγραφή των αυτοάνοσων εκδηλώσεων, καθώς και της συχνότητας και εντόπισης των λοιμώξεων. Στους ασθενείς με ΧΛΛ μελετήθηκαν επιπλέον προγνωστικοί δείκτες της νόσου, όπως η έκφραση των μορίων CD38 με κυτταρομετρία ροής, καθώς και οι υπερμεταλλάξεις της βαριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών με PCR-sequencing. Η πρωτεϊνική έκφραση των υποδοχέων TACI και BAFFR ελέγχθηκε με κυτταρομετρία ροής, ενώ η έκφραση των *TNFRSF13B/TACI* και *TNFRSF13C/BAFFR* σε μεταγραφικό επίπεδο πραγματοποιήθηκε με Q-RT-PCR. Στον ορό ασθενών με ΧΛΛ και φυσιολογικών μαρτύρων έγινε προσδιορισμός των προσδετών BAFF και APRIL. Η μεταβίβαση αντιαποπτωτικών σημάτων μέσω της πρωτεΐνης TACI ελέγχθηκε μετά από καλλιέργεια των ΧΛΛ κυττάρων, παρουσία των προσδετών BAFF και APRIL. Η μοριακή ανάλυση περιελάμβανε την ανάλυση αλληλουχίας βάσεων του γονιδίου *TNFRSF13B* στους ασθενείς με αντισωματικές ανεπάρκειες, ενώ παράλληλα έγινε ανίχνευση των πολυμορφισμών P251L και V220A του γονιδίου *TNFRSF13B* και των πολυμορφισμών P21R και H159Y του γονιδίου *TNFRSF13C* στα δείγματα ασθενών με ΧΛΛ και φυσιολογικών μαρτύρων.

Αποτελέσματα: Η μελέτη του γονιδίου *TNFRS13B* κατέδειξε ότι οι γενετικές βλάβες σε αυτό δεν είναι αιτιολογικές για την εμφάνιση αντισωματικών ανεπαρκειών και μπορεί να επηρεάσουν το φαινότυπό τους, μόνο αν συνδυαστούν με άλλους γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες. Οι βλάβες σε Έλληνες ασθενείς με CVID εμφανίζονται το ίδιο συχνά με τους υπόλοιπους Καυκάσιους πληθυσμούς, ενώ σε ασθενείς με sIgG4D εμφανίζονται σχετικά συχνότερα (18.18%). Αναλυτικότερα, η ανάλυση αλληλουχίας βάσεων του γονιδίου *TNFRSF13B* στους ασθενείς με αντισωματικές ανεπάρκειες στο σύνολό τους αποκάλυψε την ύπαρξη τεσσάρων παρανοηματικών (missense) μεταλλάξεων, μιας προσθήκης βάσης, τριών σιωπηλών πολυμορφισμών και τριών ιντρονικών αντικαταστάσεων, που ήδη έχουν περιγραφεί στη βιβλιογραφία. Πιο συγκεκριμένα, ένας ασθενής

με CVID είχε την μετάλλαξη C104R (rs34557412), ένας ασθενής με sIgG4D ανεπάρκεια είχε τη μετάλλαξη A181E (rs72553883) και ένας τρίτος ασθενής με επιλεκτική IgG4 ανεπάρκεια είχε την προσθήκη c.204insA (p.L69TfsX12). Επιπρόσθετα, ένας ασθενής με CVID είχε τον πολυμορφισμό V220A (rs56063729), ενώ ο κοινός πολυμορφισμός P251L (rs34562254) ήταν παρών σε έντεκα ασθενείς (τρεις με CVID, πέντε με IgAD, δύο με sIgG4D και ένας με THI). Όλοι οι ασθενείς ήταν ετεροζυγώτες για τις προαναφερόμενες γενετικές βλάβες, με μοναδική εξαίρεση έναν ασθενή με IgAD, ο οποίος ήταν ομόζυγος για τον πολυμορφισμό P251L.

Η μελέτη των ασθενών με ΧΛΛ κατέδειξε ότι τα νεοπλασματικά τους κύτταρα χαρακτηρίζονται από χαμηλή ένταση φθορισμού της πρωτεΐνης BAFFR, χαμηλή έκφραση της πρωτεΐνης TACI κατά κανόνα, ενώ στον ορό τους είναι ιδιαίτερα χαμηλά έως μη ανιχνεύσιμα τα επίπεδα BAFF και ιδιαίτερα αυξημένα τα επίπεδα APRIL, συγκριτικά με τους φυσιολογικούς μάρτυρες. Επιπλέον, αποκαλύφθηκε ότι η πρωτεΐνη TACI σχετίζεται θετικά με την παρουσία μονοκλωνικού κλάσματος και αρνητικά με την έκφραση της πρωτεΐνης CD11c, ενώ η πρωτεΐνη BAFFR σχετίζεται θετικά με την πρωτεΐνη CD79b. Παρά το γεγονός ότι τα νεοπλασματικά κύτταρα με υψηλή έκφραση TACI είναι πιο ανθεκτικά στην απόπτωση, όταν διεγερθούν με BAFF και APRIL, συγκριτικά με τα TACI αρνητικά κύτταρα, δεν ανιχνεύθηκε κάποια σχέση των πρωτεϊνών TACI και BAFFR με την πρόγνωση της νόσου. Παρ'όλα αυτά, οι ασθενείς με υπότυπο IGHV1 του γονιδίου της βαριάς αλύσου των ανοσοσφαιρινών παρουσίαζαν χαμηλότερη ένταση φθορισμού της πρωτεΐνης BAFFR (p=0.024). Επιπλέον, παρόλο που η CD27 έκφραση φαίνεται ότι στα φυσιολογικά Β-κύτταρα συνάδει με την έκφραση του *TNFRSF13B*, η πλειοψηφία των ασθενών με ΧΛΛ παρουσίασε χαμηλή έκφραση του γονιδίου *TNFRSF13B*, τόσο σε επίπεδο μεταγραφικό, όσο και σε πρωτεϊνικό. Το εύρημα χαμηλής έκφρασης της πρωτεΐνης TACI είναι χαρακτηριστικό της ΧΛΛ, καθώς τα νεοπλασματικά κύτταρα των ασθενών με NHL παρουσίαζαν υψηλότερη έκφρασή της. Αντίθετα, η χαμηλή ένταση φθορισμού της πρωτεΐνης BAFFR παρατηρήθηκε τόσο σε νεοπλασματικά κύτταρα ασθενών με ΧΛΛ όσο και σε νεοπλασματικά κύτταρα ασθενών με NHL. Το γεγονός ότι τα ευρήματα της πρωτεϊνικής έκφρασης δε συνάδουν με της μεταγραφικής δείχνει ότι η χαμηλή BAFFR έκφραση είναι αποτέλεσμα μετα-μεταγραφικών τροποποιήσεων. Καμία συσχέτιση δε βρέθηκε μεταξύ της TACI και BAFFR έκφρασης με την παρουσία αυτοανοσίας, υπογαμμασφαιριναιμίας, τον κίνδυνο εμφάνισης λοιμώξεων και την επιβίωση των ασθενών.Η μελέτη των πολυμορφισμών του γονιδίου *TNFRSF13B-P251L* και *TNFRSF13B-V220A*, που είναι οι πιο κοινοί, αλλά και των πολυμορφισμών *TNFRSF13C-P21R* και *TNFRSF13C-H159Y* που έχουν βρεθεί σε μεγαλύτερη συχνότητα σε ασθενείς με αντισωματική ανεπάρκεια σε σχέση με το γενικό πληθυσμό, έδειξε ότι δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς τη συχνότητα εμφάνισης ανάμεσα στους ασθενείς με ΧΛΛ και στους φυσιολογικούς μάρτυρες.

Συμπεράσματα: 1. Οι μεταλλάξεις του γονιδίου *TNFSRF13B* δεν είναι αιτιολογικές για την εμφάνιση αντισωματικών ανεπαρκειών, αλλά μπορεί να σχετίζονται με τον φαινότυπό τους, αν συνδυαστούν με άλλους γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες.

2. Η χαμηλή έκφραση TACI φαίνεται να αποτελεί χαρακτηριστικό εύρημα για την πλειονότητα των ασθενών με ΧΛΛ και παρά την έκφραση του CD27 μορίου, ισχυροποιεί την υπόθεση προέλευσης του λευχαιμικού κυττάρου από τον Β1-υποπληθυσμό. Από την άλλη, το πρότυπο έκφρασης του BAFFR από τα νεοπλασματικά Β-κύτταρα μπορεί να το καταστήσει αφενός ένα χρήσιμο δείκτη για τον έλεγχο της υπολειπόμενης νόσου, αλλά και στόχο επιλεγμένων θεραπευτικών παρεμβάσεων. Τα αποτελέσματα αυτά μπορούν να ληφθούν υπόψιν στην περίπτωση αντι-TACI και αντι-BAFFR θεραπευτικών προσεγγίσεων.

Λέξεις κλειδιά: TACI, BAFFR, BAFF, APRIL, απόπτωση, Β χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία, ανοσοανεπάρκειες

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Δρ. Ματθαίος Σπελέτας, Αναπληρωτής Καθηγητής Εργαστηριακής Ανοσολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας *(επιβλέπων)*

Δρ. Αναστάσιος Ε. Γερμενής, Καθηγητής Εργαστηριακής Ανοσολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Δρ. Ζωή Δανιήλ, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Πνευμονολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Σχολή Επιστημών Υγείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Antigone Mamara

The study of TACI and ICOS molecules in patients with lymphoproliferative disorders

Abstract

Purpose / Objective: Lymphoproliferative disorders, LPDs (B cell chronic lymphocytic leukemia, B-CLL Non-Hodgkin lymphomas, NHL etc.) comprise the most common hematologic malignancies in Western countries with high morbidity and mortality rates. Recent studies indicate that the phenotype and the prognosis of LPDs are associated with immunogenes (for example IL-10) and especially with the TNF superfamily members (for example CD40). TACI and BAFFR activate NF-κB and participate in the homeostasis, the isotype switching and the differentiation of normal B cells whereas ICOS participates in activating B cells. These molecules play an important role in T independent and T dependant immune responses respectively and anti-TACI and anti-BAFFR therapeutic approaches are still available. Mutations of *TNFRSF13B*, *TNFRSF13C* and *ICOS* genes have been associated with antibody deficiencies and they may predispose to lymphomas. Nevertheless, the biological role of the molecules and their contribution to the disease phenotype remains as yet obscure. The aim of this study was i) to detect the mutations of TNFRSF13B gene in Greek patients with antibody deficiencies and ii) to determine the expression of *TNFRSF13B/*TACI, *TNFRSF13C/*BAFFR and ICOS on B-CLL cells and their contribution to the phenotype and the prognosis of the disease.

Materials and methods: Peripheral blood and/or bone marrow from 53 patients with antibody deficiencies (18 with CVID, 17 with sIgAD, 14 with sIgG4 and 4 with THI), 94 patients with B-CLL, 30 patients with low-grade NHL and 315 healthy individuals were collected. The mRNA and protein levels of *TNFRSF13B* and *TNFRSF13C* were estimated by qRT-PCR and flow cytometry (TACI clone 1a1, Abcam & BAFFR clone 11C1, Biolegend), respectively. BAFF and APRIL serum levels were estimated by ELISA. In CLL patients, the prognostic factors CD38 and the hypermutation status of IGHV gene were determined using flow cytometry and PCR-sequencing, respectively. CLL cells exhibiting high or absent TACI,were stimulated by BAFF and APRIL and the apoptosis status was estimated by flow cytometry using an Annexin V-FITC/7-AAD (7-AAD) kit. The molecular analysis of *TNFRSF13B* gene in patients with antibody deficiencies was performed using PCR-sequencing and the detection of the polymorphisms TNFRSF13B-P251L, TNFRSF13B-V220A, TNFRSF13C-P21R and TNFRSF13c-H159Y using PCR-RFLP.

Results: Our data provide evidence that *TNFRSF13B*/TACI alterations are not causative of CVID. Possibly, they predispose to humoral deficiencies and/or contribute to their phenotype when combined with other immune gene alterations. It was revealed that Greek patients display several of the already described common alterations of *TNFRSF13B*/TACI gene. Their prevalence in CVID patients was comparable to that observed in other Caucasian populations, while their prevalence in patients with sIgG4D was rather high (18.18%). In particular, four missense mutations, an insertion, three silent polymorphisms and three intronic alterations, already described in the literature, were detected in the patients of the study. A patient with CVID displayed the C104R mutation (rs34557412), another with sIgG4D carried the A181E mutation (rs72553883) and a third with sIgG4D the frameshift alteration c.204insA (p.L69TfsX12). Moreover, another patient with CVID carried the polymorphic variant V220A (rs56063729), while the other common variant P251L (rs34562254) was present in 11 patients (3 with CVID, 5 with sIgAD, 2 with sIgG4D and 1 with THI). All patients were heterozygotes for the above alterations, with the exception of a patient with sIgAD who was homozygous in the P251L polymorphism.

Our study provides clear evidence that CLL cells are characterized by low BAFFR and variable TACI expression, along with low to undetectable BAFF and increased APRIL serum levels compared to healthy individuals. We also identified that TACI expression was positively correlated with the presence of monoclonal gammapathy and inversely with CD11c expression, while the intensity of BAFFR was significantly correlated with the intensity of CD79b. Finally, although TACI expression seems to protect CLL cells from apoptosis in vitro, no prognostic significance of TACI and BAFFR expression in CLL was found. However, patients carrying IGHV1 genes displayed a lower intensity of BAFFR (p=0.024). Considering that all CLL cells were CD27+ and the majority of them also IgD+, TACI expression was not correlated with CD27 and IgD. Further molecular analyses revealed that the mRNA *TNFRSF13B* expression was equivalent to protein membrane

expression indicating that the low TACI expression observed in the majority of CLL cells is due to a dysregulated *TNFRSF13B* gene expression. The low BAFFR expression was observed both in patients with CLL and NHL. Interestingly, *TNFRSF13C* mRNA levels were equivalent between malignant and normal B cells, further supporting that the lower intensity of BAFFR expression on malignant CLL cells is a post-transcriptional event. On the other hand, *TNFRSF13B*/TACI expression and *TNFRSF13C*/*BAFFR* expression were not significantly associated with the presence of autoimmunity, hypogammaglobulinemia, the infection risk and the survival of the patients. Finally, variants of TNFRSF13B (P251L, V220A) and TNFRSF13C (P21R, H159Y) were observed both in B-CLL patients and healthy individuals with a rather similar frequency.

Conclusions: 1. (The) Mutations in *TNFRSF13B* gene are not causative factors for the appearance of antibody deficiencies, but they possibly predispose to humoral deficiencies and/or contribute to their phenotype when combined with other immune gene alterations.

2. TACI expression and BAFFR MFI are low in the majority of CLL patients, are not associated with disease prognosis and are accompanied by very low or absent serum BAFF and high APRIL. Taking into account that CLL cells are CD27+, the low TACI expression suggests that CLL may derive from CD5+ B cell populations rather than memory B cells. Also, low BAFFR MFI could be used for the minimal residual disease of CLL. These findings should be taken into account in the case of anti-TACI and anti-BAFFR therapeutic approaches.

Key words: TACI, BAFFR, BAFF, APRIL, apoptosis, B chronic lymphocytic leukemia, immunodeficiencies

Three - Member Supervisory Committee

Dr. Matthaios Speletas, Associate Professor of Immunology, Faculty of Medicine, School of Health Science, University of Thessaly, Greece *(supervisor)*

Dr. Anastasios E. Germenis, Professor of Immunology, Faculty of Medicine, School of Health Science, University of Thessaly, Greece

Dr. Zoe Daniil, Associate Professor of Pulmonology, Faculty of Medicine, School of Health Science, University of Thessaly, Greece

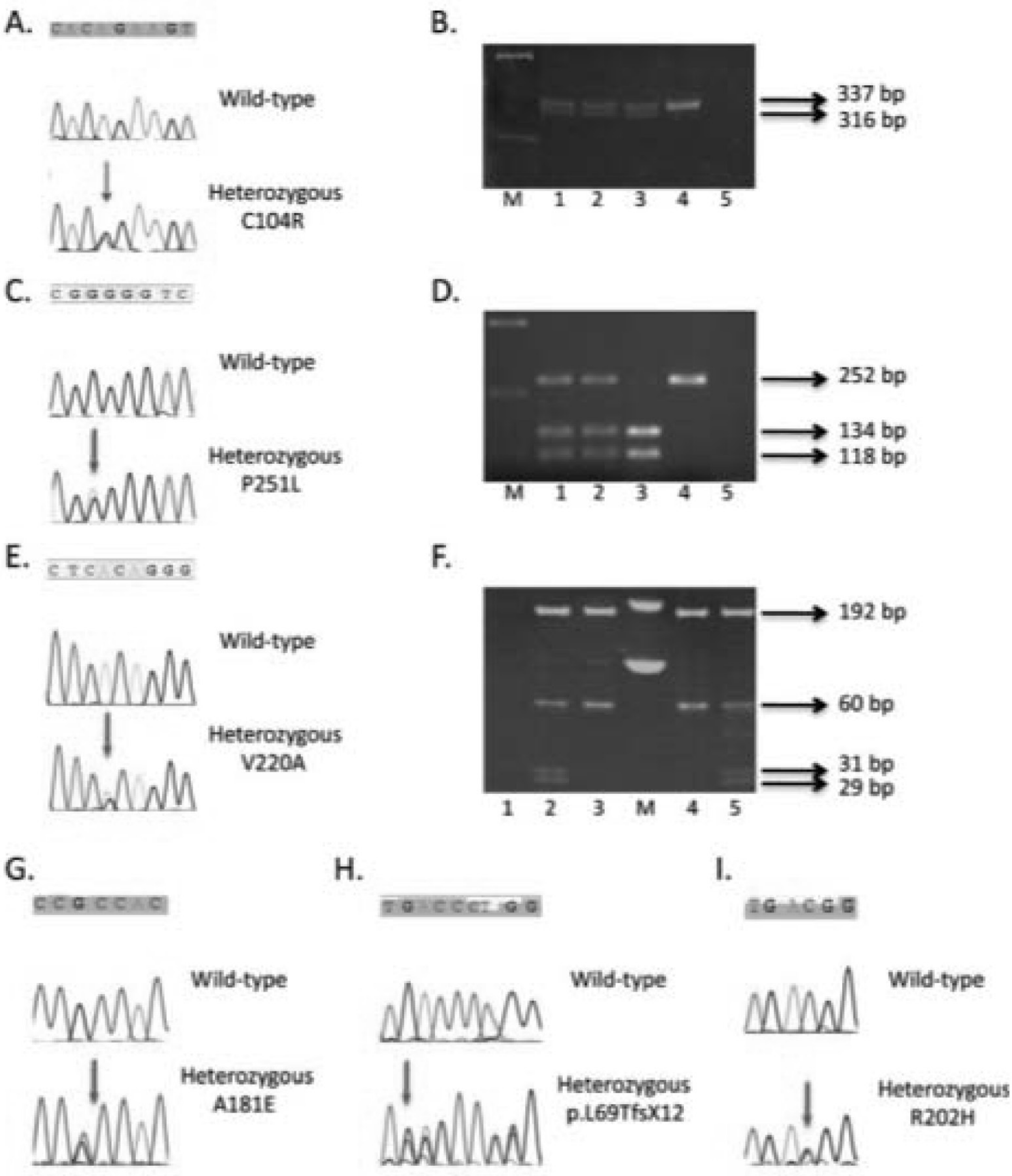


Figure 1. *The detected frameshift alteration and missense mutations of TNFRSF13B/TACI gene, in Greek patients with antibody deficiencies.*

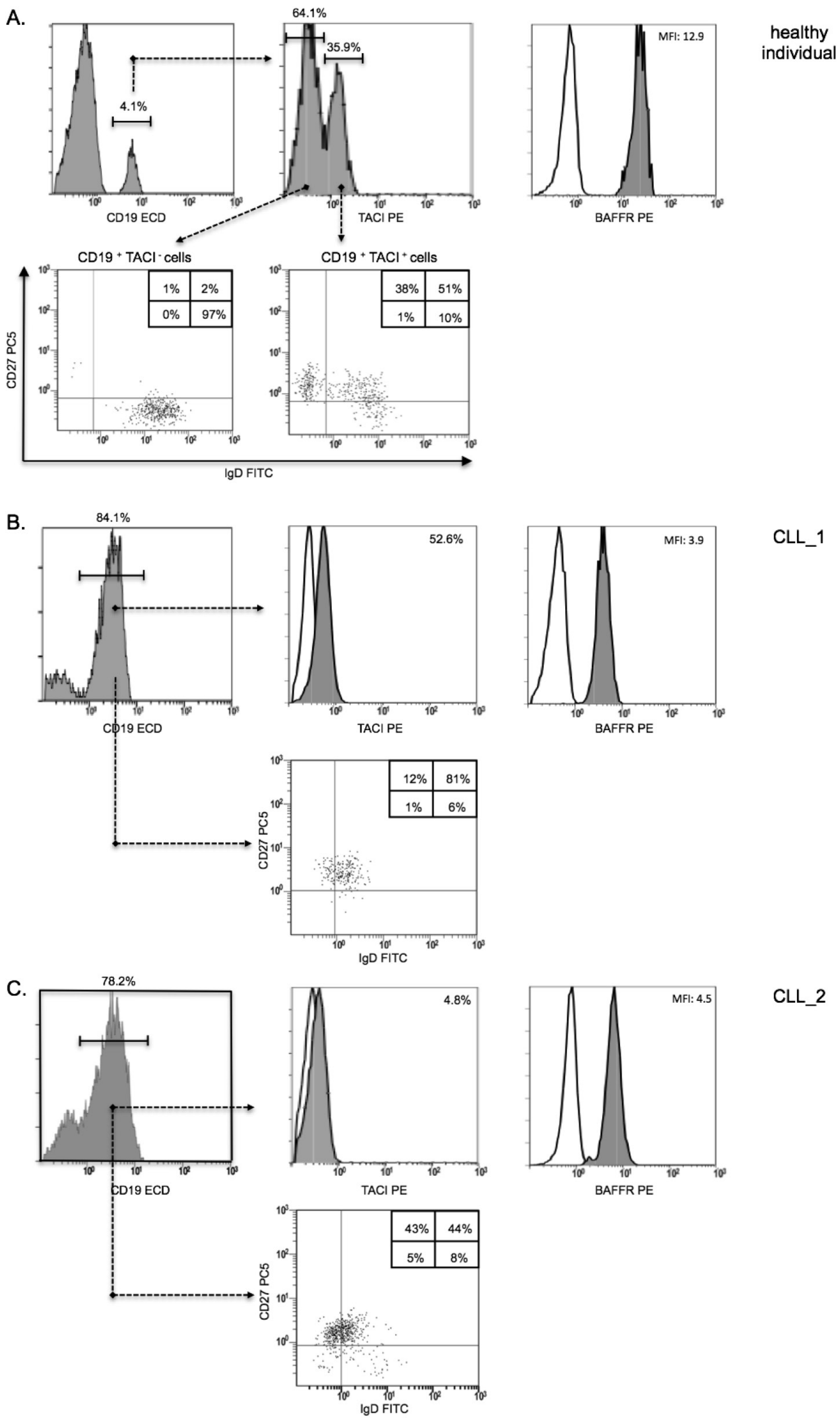


***Figure 2**. TACI along with CD27 and IgD expression on B cells established by flow cytometry in a healthy individual (A) and 2 patients with CLL (B and C).*

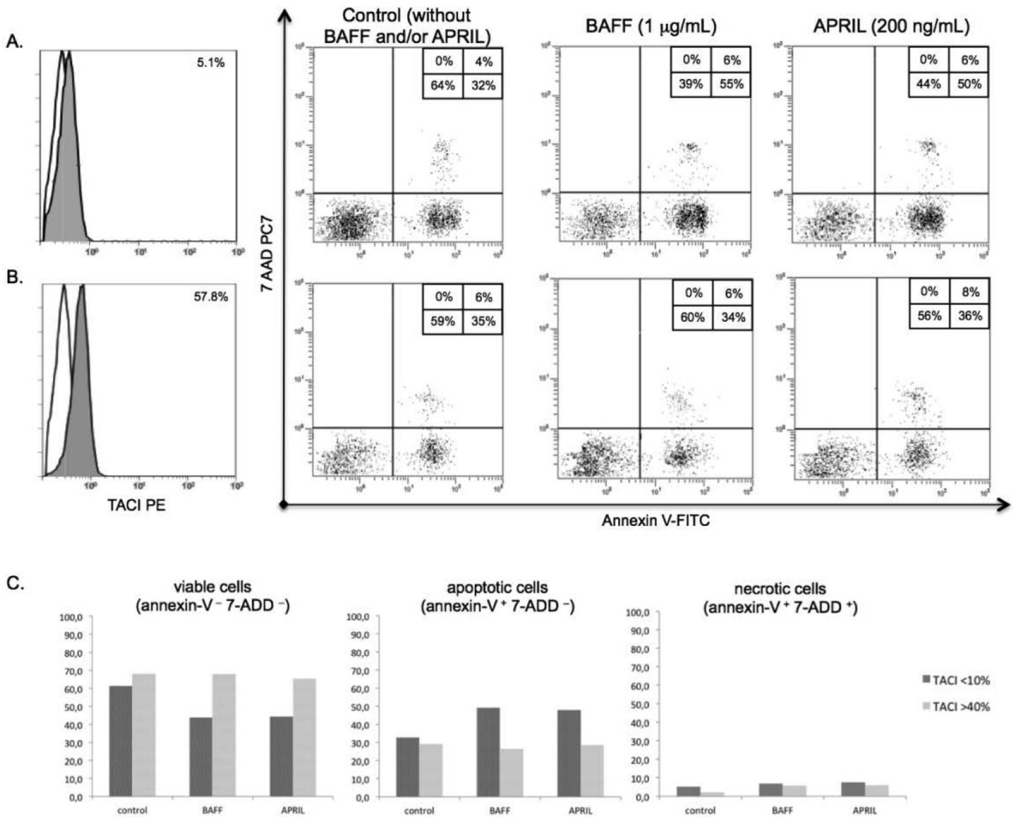


Figure 3 . *TACI expression protects CLL cells from apoptosis in vitro. CLL cells with very low (A), or high (B) TACI expression were cultured with IMDM medium without any stimulus (internal control) or stimulated by either BAFF or APRIL for 24 h. Cells were harvested and stained with Annexin V (x-axis) and 7-AAD (y-axis) to discriminate between viable (double negative), apoptotic (Annexin V-FITC positive, 7-AAD negative) and necrotic (double positive) cells. Results are summarized in the bar graphs in the lower panel of the figure (C) and are obtained from three independent experiments in 6 CLL patients with low (3 patients; mean: 3.2%, range: 1.7% - 5.1%) and high TACI expression (3 patients; mean: 49.7%, range: 40.1% - 57.8%).*

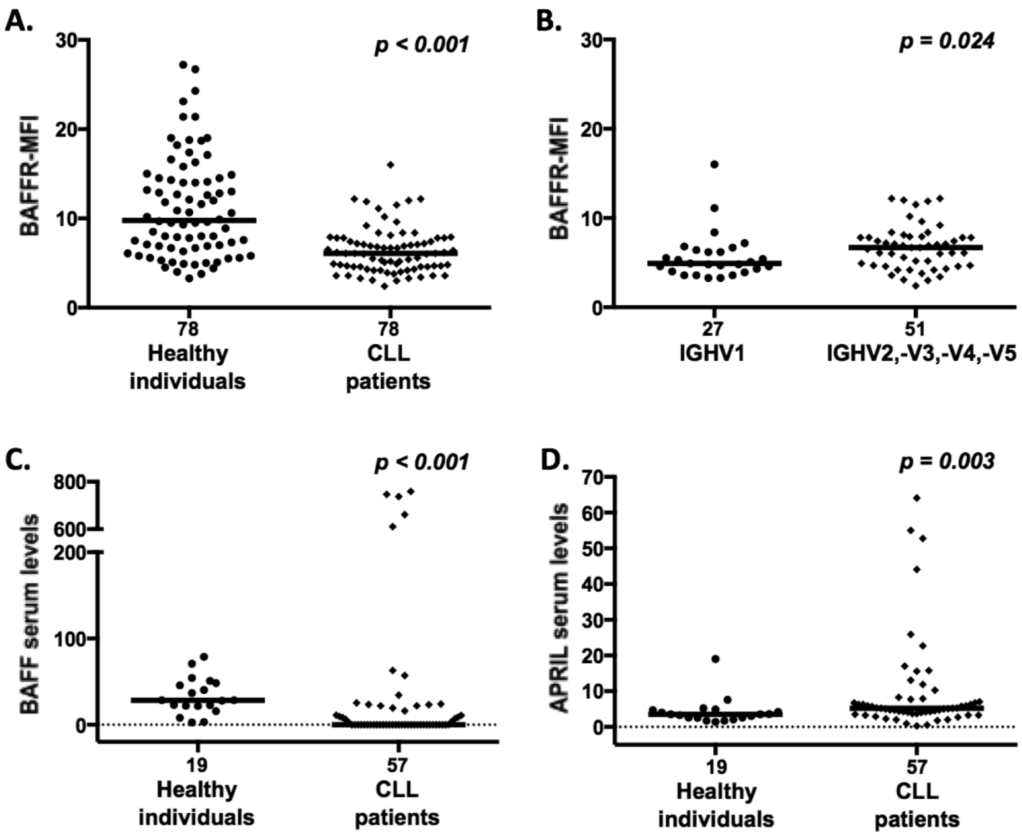


Figure 4. *A.BAFFR-MFI in healthy individuals and CLL patients. B. BAFFR-MFI in CLL patients with IGHV1 and the other IGHV genes. C. BAFF levels in CLL patients and healthy controls. D. APRIL serum levels in CLL patients and controls. Lines indicate median values. The significant p-values refer to Mann-Whitney U test.*

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος « Ηράκλειτος II» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά/Articles in journals

1. **Mamara, A.**, Germenis, A.E., Kompoti, M., Palassopoulou, M., Mandala, E., Banti, A., Giannakoulas, N., Speletas, M. (2015). TACI expression and signaling in chronic lymphocytic leukemia, *J Immunol Res 2015*, Article ID 478753. (διαθέσιμο μόνο ηλεκτρονικά προς το παρόν)
2. Speletas, M., **Mamara, A.**, Papadopoulou-Alataki, E., Iordanakis, G., Liadaki, K., Bardaka, F., Kanariou, M., Germenis, A.E. (2011). *TNFRSF13B/*TACI Alterations in Greek Patients with Antibody Deficiencies, *J Clin Immunol 2011*, *31*(4), 550-9.

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων – βιβλία περιλήψεων Publications in conference proceedings - books of abstracts

1. Speletas, M., Moschovi, M., Argentou, N., Kolokotsa, E.N., **Mamara, A.** Pieper, K., Adamaki, M., Eibel, H., Germenis, A.E. (2013, June). *TNFRSF13B/TAC*I and *TNFRSF13C/*BAFFR expression in acute lymphoblastic leukemia. *18th Congress of European Hematology Association* Vol. 98 (Suppl.1) (p.: 509). Stocholm, Sweden: European Hematology Association.
2. **Μαμάρα, Α.**, Παλασοπούλου, Μ., Γιαννακούλας, Ν., Μανδαλά, Ε., Μπαντή, Α., Γερμενής, Α.Ε., Σπελέτας, Μ. (2013). Μελέτη της πρωτεΐνης TACI στη Β-χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία. *5ο Συνέδριο Παθολογίας Κεντρικής Ελλάδος* (σελ.117). Λάρισα: Παθολογική Κλινική και Ομώνυμο Ερευνητικό Εργαστήριο Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

   Mamara, A., Palassopoulou, M., Giannakoulas, N., Mandala, E., Banti, A., Germenis, A.E., Speletas, M. (2013). Study of TACI protein in B cell chronic lymphocytic leukemia. *5th Congress of Internal Medicine of Central Greece* (p.117). Larissa, Greece: Department of Medicine and Research Lab of Internal Medicine, University of Thessaly.
3. Αργέντου, Ν., **Μαμάρα, Α.**, Βασιλόπουλος, Γ., Βλαχοστέργιος, Π., Παπαχαραλάμπους, Κ., Ιωάννου, Μ., Γερμενής, Α.Ε., Σπελέτας, Μ. (2013). Ταχεία ανίχνευση της μετάλλαξης MYD88-L625P με PCR-RFLP, που σχετίζεται αιτιολογικά με την μακροσφαιριναιμία Waldenstrom. *5ο Συνέδριο Παθολογίας Κεντρικής Ελλάδος* (σελ. 118). Λάρισα: Παθολογική Κλινική και Ομώνυμο Ερευνητικό Εργαστήριο Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

   Argentou, N., **Mamara, A.**, Vassilopoulos, G., Vlachostergios, P., Papacharalampous, K., Ioannou, M., Germenis, A.E., Speletas, M. (2013). Rapid detection of MYD88-L265P mutation by PCR-RFLP associated with *Waldenstrom* macroglobulinemia. *5th Congress of Internal Medicine of Central Greece* (p.118). Larissa, Greece: Department of Medicine and Research Lab of Internal Medicine, University of Thessaly, Greece.
4. Σπελέτας, Μ., Κολοκοτσά, Ε.Ν., Αργέντου, Ν., **Μαμάρα, Α.**, Αθανασιάδου, Α., Αδαμάκη, Μ., Μοσχόβη, Μ. (2012). Μελέτη της έκφρασης των *TNFRSF13B/*TACI και *TNFRSF13C/*BAFFR στην οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (ΟΛΛ). *23ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο* (Τόμος 3, Τεύχος 4, σελ. 29) Θεσσαλονίκη: Ελληνική Αιματολογική Εταιρεία.

   Speletas, M., Kolokotsa, E.N., Argentou, N., **Mamara, A.**, Athanasiadou, A., Adamaki M., Moschovi, M. (2012). *TNFRSF13B*/TACI and *TNFRSF13C*/BAFFR expression in acute lymphoblastic leukemia. *23nd Congress of the Hellenic Society of Hematology* (Vol. 3, suppl.4, p.: 29). Thessaloniki, Greece: Hellenic Society of Haematology.
5. **Mamara, A**, Kalala, F., Florou, Z., Mandala, E., Palasopoulou, M., Mpardaka, F., Giannakoulas, N., Mpanti, A., Germenis, A.E., Speletas, M. (2012). *TNFRSF13B/*TACI and *TNFRSF13C/* BAFFR in B cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL). *3nd European Congress of Immunology* (Vol. 137, Suppl.1, p.:162). Glasgow, Scotland: European Federation of Immunological Societies.
6. **Μαμάρα, Α.**, Μπαρδάκα, Φ., Μανδαλά, Ε., Παλασοπούλου, Μ., Κάρτσιος, Χ., Λιαδάκη, Κ., Γιαννακούλας, Ν., Τσιόνη, Κ., Εφραιμίδου, Σ., Παπαδούλης, Ν., Καρτάσης, Ζ., Ματσουκά, Π., Καλαλά, Φ., Σπελέτας, Μ. (2011). Μελέτη της έκφρασης των *TNFRSF13B/*TACI και *TNFRSF13C/* BAFFR σε ασθενείς με χρόνια Β λεμφοϋπερπλαστικά σύνδρομα. *22ο Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο* (Τόμος 2, Τεύχος 4, σελ.: 143). Αθήνα: Ελληνική Αιματολογική Εταιρεία.

   Mamara, A., Bardaka, F., Mandala, E., Palassopoulou, M., Kartsios, C.H., Liadaki, K., Giannakoulas, N., Tsioni, K., Efraimidou, S., Papadoulis, N., Kartasis, Z., Matsouka, P., Kalala, F., Speletas, M. (2011). *TNFRSF13B*/ TACI and *TNFRSF13C*/BAFFR expression in patients with lymphoproliferative disorders. *22nd Congress of the Hellenic Society of Hematology* (Vol. 2, suppl.4, p. 143). Athens, Greece: Hellenic Society of Haematology.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Αντιγόνη Μαμάρα** γεννήθηκε στη Λάρισα το 1984. Σπούδασε στο Τμήμα Βιολογίας της Σχολής Θετικών Επιστημών του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης (ΑΠΘ), από όπου αποφοίτησε το 2007. Κατά τη διάρκεια των προπτυχιακών της σπουδών, εκπόνησε διπλωματική εργασία με θέμα «Χαρακτηρισμός και αντιμικροβιακή δράση ουσιών που παράγονται από το προβιοτικό βακτήριο *Bacillus subtilis*», στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας του τμήματος Βιολογίας (ΑΠΘ) και πραγματοποίησε πρακτική άσκηση στο εργαστήριο Ανοσολογίας και Ιστοσυμβατότητας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (ΠΘ).

Από το 2008 έως το 2013, με υποτροφία « Ηράκλειτος ΙΙ», ασχολήθηκε με την εκπόνηση της διδακτορικής της διατριβής με θέμα «Μελέτη των γονιδίων και των πρωτεϊνών TACI και ICOS σε ασθενείς με λεμφοπαραγωγά σύνδρομα», η οποία πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Ανοσολογίας και Ιστοσυμβατότητας της Ιατρικής Σχολής (ΠΘ). Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν το γονίδιο *TNFRSF13B/TACI* σε Έλληνες ασθενείς με αντισωματικές ανεπάρκειες και τα μόρια TACI, BAFFR και ICOS σε ασθενείς με Β χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία, η πιθανή συσχέτιση της έκφρασής τους με την εμφάνιση και τον φαινότυπο της νόσου αλλά και η σημασία της στόχευσής τους. Τα αποτελέσματα της διατριβής της έχουν ανακοινωθεί σε ελληνικά και διεθνή συνέδρια και έχουν δημοσιευτεί σε έγκριτα επιστημονικά περιοδικά. Παράλληλα με την εκτέλεση των πειραμάτων της διατριβής της, συμμετείχε σε εξετάσεις ρουτίνας του εργαστηρίου, όπου ασχολήθηκε κυρίως με τη διάγνωση αιματολογικών κακοηθειών με Κυτταρομετρία ροής.

Γνωρίζει Αγγλικά και Γαλλικά. Τα τελευταία 7 χρόνια εργάζεται σε Φροντιστήρια Μέσης Εκπαίδευσης, παραδίδοντας μαθήματα Βιολογίας σε μαθητές Λυκείου.

Short CV

Antigoni Mamara was born in Larissa, in 1984. She studied Biology at the School of Biology in the Faculty of Science of the Aristotle University of Thessaloniki (AUTH), from where she graduated in 2007.

During her undergraduate studies, she worked on her Diploma Thesis concerning the functional inhibitory effect of probiotic *Bacillus subtilis* on the growth of various strains of microorganisms at the Laboratory of Microbiology in School of Biology (AUTH). Afterwards, she worked as a trainee Biologist at the Laboratory of Immunology and Histocompatibility in the School of Medicine of the University of Thessaly (UTH).

From 2008 to 2013, she wrote her doctoral thesis entitled: “The study of TACI and ICOS molecules in patients with lymphoproliferative disorders” at the Laboratory of Immunology and Histocompatibility (UTH). More specifically, she detected the mutations of the *TNFRSF13B* gene in Greek patients with antibody deficiencies and she also determined the expression of *TNFRSF13B*/TACI, *TNFRSF13C/BAFFR* and ICOS in patients with B cell chronic lymphocytic leukemia and their contribution to the phenotype and the prognosis of the disease. For her PhD studies she was awarded a « Heraclitus II» scholarship. The results of her thesis have been presented in many national and international congresses and they have been published in international journals as well. During her research, she also did some routine laboratory work, being the responsible for the diagnosis of hematological malignancies using Flow Cytometry.

She speaks English and French. Over the last seven years she has been teaching Biology to students of private high school education.

Μαρία Μπακαρόζη

Ο ρόλος των ενδοκυττάριων σηματοδοτικών μηχανισμών σε ασθενείς με ιογενείς ηπατίτιδες

Περίληψη

Η λοίμωξη από τον HBV αποτελεί σοβαρό παγκόσμιο πρόβλημα δημόσιας υγείας, με 350 περίπου εκατομμύρια άτομα να έχουν αναπτύξει χρόνια ηπατίτιδα Β (WHO, www.who.int) . Η Ελλάδα ανήκει στις χώρες με ενδιάμεση ενδημικότητα για τη νόσο (3-5%), ενώ υπάρχουν περιοχές, μεταξύ των οποίων και η Θεσσαλία, που έχουν αυξημένο επιπολασμό [1].

Η εγγενής όσο και η ειδική ανοσιακή απάντηση έναντι του HBV έχει δειχθεί ότι παίζουν σημαντικό ρόλο τόσο στον έλεγχο του ιικού πολλαπλασιασμού όσο και στην παθογένεια της ηπατικής βλάβης. Η IFN-γ αποτελεί τη σημαντικότερη ίσως κυτταροκίνη για την επιτυχή έναρξη αλλά και διατήρηση της αποτελεσματικής ανοσιακής απάντησης στην HBV λοίμωξη και φαίνεται να καθορίζει την ένταση, την ποικιλομορφία και την ποιότητα της ειδικής έναντι του ιού CD4 και CD8 Τ λεμφοκυτταρικής απάντησης [2-3].

Μελέτες σε ασθενείς με οξεία HBV λοίμωξη έδειξαν ότι, κατά την ασυμπτωματική φάση, ο ιός εξαπλώνεται στο ήπαρ, χωρίς να μπορεί να επάγει την επαρκή παραγωγή IFN-α/β προκειμένου να περιορίσει τον ιικό πολλαπλασιασμό. Σε αυτό φαίνεται να συμβάλλει η καταστολή των δραστικών κυττάρων της εγγενούς ανοσιακής απάντησης, που είναι τα φυσικά κύτταρα φονιάδες (natural killer (NK) cells) και τα NK T κύτταρα, τα οποία έχει δειχτεί ότι κατά τη φάση της μέγιστης ιαιμίας αδυνατούν να παράγουν IFN-γ [4-6].

Μελέτες σε διαγονιδιακά ποντίκια και ανθρώπινες κυτταρικές σειρές έδειξαν ότι στην HBV λοίμωξη ενεργοποιούνται αρκετοί ενδοκυττάριοι σηματοδοτικοί μηχανισμοί, συμπεριλαμβανομένου αυτού της p38 mitogen activated protein kinase (MAPK), που εμπλέκονται στην παραγωγή κυτταροκινών και στη διαφοροποίηση των Τ λεμφοκυττάρων. Η ενεργοποίηση της ενδοκυττάριας οδού της p38 MAPK συντελεί στην ταχεία παραγωγή IFN-γ από τα NK κύτταρα [7-9]. Δεδομένα που να αφορούν στο ρόλο της ενδοκυττάριας οδού της p38 MAPK στη χρόνια HBV λοίμωξη είναι ανεπαρκή.

Σκοπός της διδακτορικής διατριβής είναι η μελέτη της συμβολής της ενδοκυττάριας οδού της p38 MAPK σε διάφορα στάδια της φυσικής ιστορίας της χρόνιας HBV λοίμωξης.

Ασθενείς: Μελετήθηκαν 13 ασθενείς με χρόνια HBV λοίμωξη, οι οποίοι παρακολουθούνται από το Ηπατολογικό Ιατρείο της Παθολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Οι 10 από τους ασθενείς είχαν χρόνια ενεργό ηπατίτιδα Β και οι 3 ήταν ανενεργοί φορείς του ιού (HBV-DNA<2000IU/ml). Η διάγνωση της νόσου βασίστηκε σε κριτήρια που έχουν θεσπιστεί από διεθνείς επιστημονικές εταιρείες. Παράλληλα, σαν υγιείς μάρτυρες μελετήθηκαν 3 άτομα παρόμοιας ηλικίας, βάσει του αρνητικού ελέγχου που είχαν για τον ιό της ηπατίτιδας Β και C. Από τους δέκα ασθενείς με χρόνια ενεργό HBV λοίμωξη, οι μισοί έλαβαν αγωγή με πεγκυλιωμένη ιντερφερόνη–2a (PEG-IFN-2a) και οι υπόλοιποι έλαβαν αγωγή με νουκλεοσ(τ)ιδικά ανάλογα (ΝΑ). Όλοι οι ασθενείς μελετήθηκαν τόσο πριν την έναρξη της αντι-ιικής αγωγής όσο και μετά την ιολογική και βιοχημική ανταπόκριση σε αυτή, όπως ορίζεται από τις οδηγίες για τη θεραπεία της HBV λοίμωξης. Όλοι οι συμμετέχοντες συναίνεσαν για τη συμμετοχή τους στη μελέτη, ενώ η Επιτροπή Δεοντολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας ενέκρινε την πραγματοποίηση της μελέτης.

Μέθοδοι: Μονοπύρηνα κύτταρα του περιμερικού αίματος (Peripheral blood mononuclear cells, PBMCs) απομονώθηκαν από φρέσκο ηπαρινισμένο φλεβικό αίμα με τη μέθοδο της φυγοκέντρησης κλίσης πυκνότητας με τη χρήση φικόλης. Η ενεργοποίηση της p38 MAPK προσδιορίσθηκε με την κυτταρομετρία ροής στο σύνολο των PBMCs όσο και στους υποπληθυσμούς αυτών (CD3+, CD3-, CD56+ και CD56- κύτταρα) μετά από 30, 60, 120 και 240 λεπτά επώασης με τους μη ειδικούς διεγέρτες arsenite, phorbol myristate acetate (PMA) και ionomycin και τους συνδυασμούς των ανασυνδυασμένων ανθρώπινων κυτταροκινών rhIL-12 με rhIL-2 και rhIL-12 με rhIL-18.Ακολούθησε η χρώση των PBMCs με συνδυασμούς των φωσφοειδικών αντισωμάτων έναντι των επιφανειακών αντιγόνων CD3 και CD56, έναντι της φωσφορυλιωμένης p38 MAPK, έναντι της IL-10 και της IFN-γ. Η ανάλυση έγινε με FACs Calibur και το λογισμικό BD Cell Quest Prosoftware.

Αποτελέσματα: Πριν την έναρξη της αντιιικής αγωγής, οι ασθενείς με χρόνια ενεργό ηπατίτιδα Β εμφάνιζαν υψηλότερα ποσοστά ενεργοποιημένων PBMCs ως προς τη p38 MAPK σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες. Οι ανενεργοί φορείς της νόσου εμφάνιζαν τα υψηλότερα ποσοστά και από τις τρεις ομάδες (εικόνα 1). Οι διαφορές αυτές αφορούσαν τόσο στο σύνολο των PBMCs όσο και στους επιμέρους κυτταρικούς υποπληθυσμούς. Κατά τη φάση της βιοχημικής και ιολογικής ανταπόκρισης στην αντιιική

αγωγή, ασθενείς που έλαβαν ΝΑ παρουσίαζαν γενικά χαμηλότερα ποσοστά ενεργοποίησης ως προς την p38 MAPK κυττάρων σε σχέση με αυτά κατά τη φάση της ιαιμίας. Όσον αφορά στους 5 ασθενείς που έλαβαν αγωγή με PEG-IFN-a διαπιστώθηκαν δύο διαφορετικές τάσεις. Τρεις από τους 5 ασθενείς παρουσίασαν αύξηση του ποσοστού των ενεργοποιημένων ως προς τη p38 MAPK κυττάρων στη φάση της βιοχημικής και ιολογικής ανταπόκρισης, σε αντίθεση με τους υπόλοιπους 2 που εμφάνισαν μείωση των ποσοστών τους. Οι εν λόγω διαφορές αφορούσαν τόσο στο σύνολο των PBMCs όσο και στους τέσσερεις κυτταρικούς υποπληθυσμούς σε όλες τις επιμέρους συνθήκες, δηλαδή όλους τους διεγέρτες και στις τέσσερεις χρονικές στιγμές επώασης.

Τέλος, προσδιορίστηκαν τα επίπεδα της IFN-γ σε υπερκείμενα κυτταροκαλλιεργειών PBMCs ατόμων και από τις 3 ομάδες μελέτης, μετά ενεργοποίηση αυτών με rhIL-12+rhIL-2 και rhIL-12+rhIL-18 με ή χωρίς την παρουσία του αναστολέα της p38 MAPK, SB203580. Χρησιμοποιιήθηκε μια εμπορικά διαθέσιμη sandwich ELISA. Η ενεργοποίηση των PBMCs με το συνδυασμό κυτταροκινών rhIL-12 και rhIL-18, τόσο με όσο και χωρίς την προσθήκη του αναστολέα της p38 MAPK, σχετίζονταν με μεγαλύτερη παραγωγή IFN-γ σε σύγκριση με το συνδυασμό των κυτταροκινών rhIL-12 και rhIL-2 για όλες τις υπό μελέτη ομάδες. Η ομάδα των υγιών μαρτύρων εμφάνιζε τα χαμηλότερα ποσοστά συγκεντρώσεων IFN–γ σ΄όλες τις συνθήκες μελέτης. Η προσθήκη του αναστολέα της p38 MAPK είχε σαν αποτέλεσμα τη μείωση της συγκέντρωσης της IFN–γ για όλες τις ομάδες ελέγχου.

Συμπερασματικά, η ενεργοποίηση της σηματοδοτικής οδού της p38 MAPK φαίνεται να εμπλέκεται στην παθογένεια και στην έκβαση της χρόνιας HBV λοίμωξης με μηχανισμούς σχετιζόμενους με την παραγωγή IFN-γ.

Λέξεις κλειδιά: p38 MAPK, ιογενείς ηπατίτιδες, HBV, χρόνια ηπατίτιδα Β

Βιβλιογραφία:

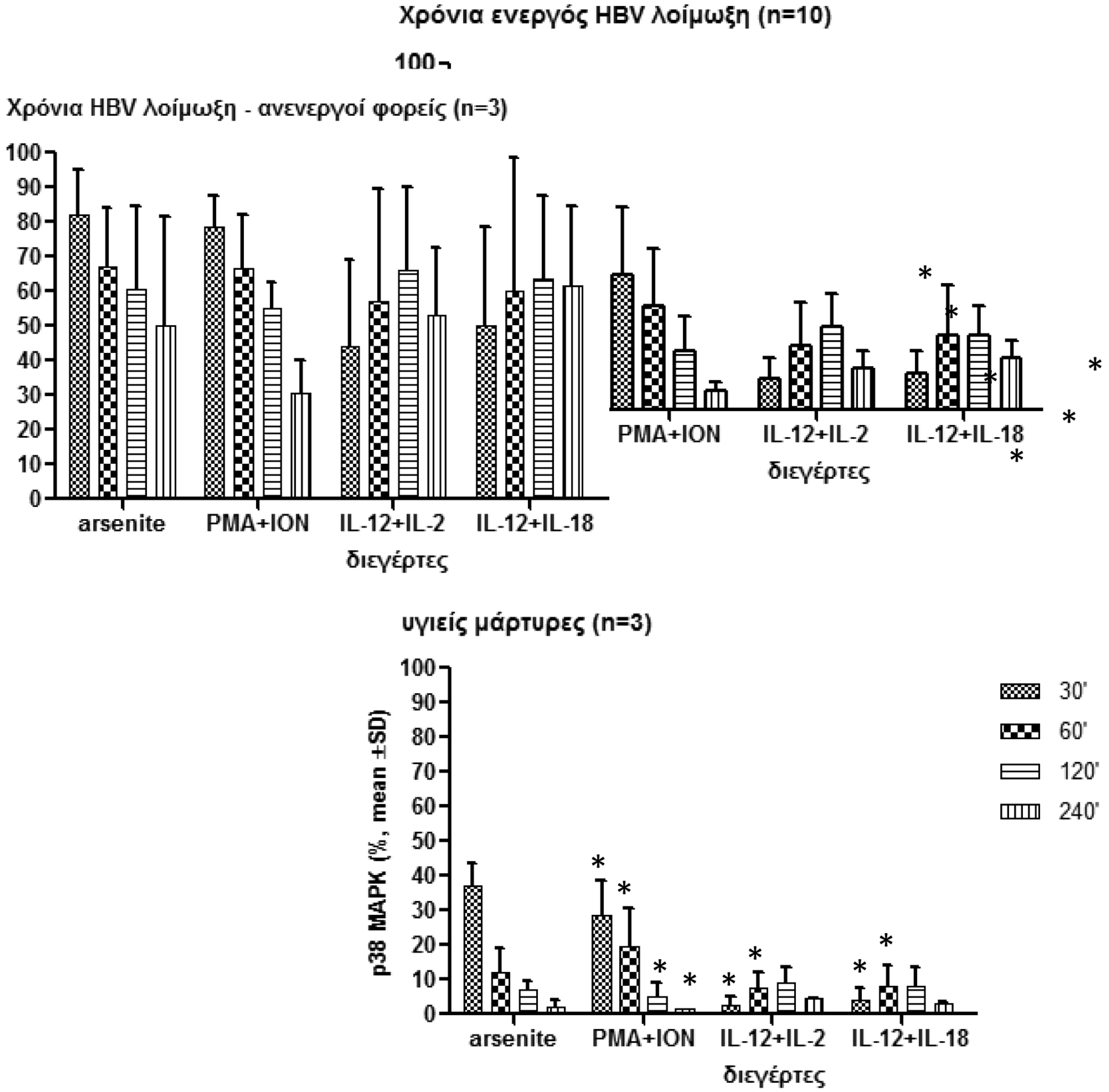
1. Stefos A. et al, Descripitve epidemiology of chronic hepatitis B by using data from a hepatitis registry in Central Greece, European Journal of Internal Medicine, 20 (2009): 35-43
2. Lee W. et al, Hepatitis B Virus Infection, The New England Journal of Medicine, 337 (1997): 1733-45
3. Liaw Y. et al, Hepatitis B Virus Infection, Lancet, 373 (2009): 582-92
4. Chang J. et al, The innate immune response to hepatitis B infection, Antiviral Research, 96 (2012): 405-413
5. Cooper A. et al, Cytokine induction by Hepatitis B virus capsid in macrophages is facilitated by membrane heparin sulfate and involves TLR2, J Immunology, 175 (2005): 3165-76
6. Rigopoulou E. et al, Lamivudine plus Interleukin-12 combination therapy in chronic hepatitis B, Hepatology, 5 (2005): 1028-36
7. Cuenda A. p38 MAPK pathway regulation, function and role in human diseases, BiochimBiophysActa, 8 (2007): 1358-75
8. Tarn et al. Hepatitis B Virus X protein activates the p38 MAPK pathway in dedifferentiated hepatocytes, Journal of Virology, 10 (2002): 9763-72
9. Jacques et al. Intrahepatic-endothelial and Kuppfer cells involved in immunosuppressive and NK/NK-T cell disorders in the viral acute hepatitis, Clin. Exp. Immunology, 152 (2008): 298-310

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Ειρήνη Ι. Ρηγοπούλου, Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας *(επιβλέπουσα)*

Γεώργιος Ν. Νταλέκος, Καθηγητής Παθολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Δημήτριος Π. Μπόγδανος, Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας Πανεπιστημίου Θεσσαλίας



Εικόνα 1: *Ενεργοποίηση της p38 MAPK στα PBMCs (%) στις τρεις επιμέρους ομάδες μελέτης (χρόνια HBV λοίμωξη-ανενεργοί φορείς, χρόνια ενεργός HBV λοίμωξη, και υγιείς μάρτυρες) στις τέσσερις διαφορετικές χρονικές στιγμές επώασης με τους επιμέρους διεγέρτες (* σύγκριση μεταξύ ασθενών με χρόνια ενεργό HBV λοίμωξη, ανενεργούς φόρεις και υγιείς μάρτυρες, p<0.005).*

Maria Bakarozi

The role of intracellular signaling pathways in patients with chronic viral hepatitis

Summary

Infection with hepatitis B virus (HBV) is a global health problem. More than 350 million people are chronically infected with HBV and it is reported that almost 600000 die annually from cirrhosis, hepatic failure and hepatocellular carcinoma. The prevalence of HBV infection has a wide geographical variation (WHO, www.who.int). Greece is considered a country of intermediate prevalence for HBV infection (3-7%), though there are regions, including places in Thessaly where clusters of HBV infection exist [1].

Innate and adaptive immune responses against HBV have been shown to play a pivotal role in the control of viral replication as well as in the causation of liver damage. IFN-γ has been so far the most important cytokine for the induction and initiation of a successful immune response against HBV. Several studies have shown IFN-γ to determine the magnitude, variety and quality of HBV specific CD4+ and CD8+ T cell responses [2-3]. Studies in patients during the initial asymptomatic phase of acute HBV infection have demonstrated that the virus can spread to the liver without being able to induce adequate IFN-α/β to limit viral replication. Natural killer (NK) cells, that constitute a key figure of innate immune responses, even though present during this phase, fail to produce IFN-γ to suppress HBV replication [4-6].

Studies in transgenic mice and human cell lines have shown that during HBV infection several intracellular signaling pathways, including p38 mitogen activated protein kinase (MAPK), are involved in cytokine production and T-cell differentiation. Activation of p38MAPK contributes to rapid IFN-γ production from NK cells (CD56+) [7-9]. Data related to the role of p38MAPK in HBV infection are scarce.

The aim of this study was to investigate the role of p38MAPK signaling pathway in different phases of the natural history of chronic HBV infection.

Patients: Thirteen patients with HBeAg(-) chronic HBV infection, who attended the Outpatient Liver Clinic of the Department of Medicine, Larissa Medical School, University of Thessaly, Greece were studied. Ten patients had chronic active hepatitis and 3 were inactive carriers of HBV (<2000IU/ml). Three healthy individuals were studied as controls. Amongst the 10 HBeAg(-) chronic HBV patients, 5 were treated with nucleos(t)ide analogues (NA) and 5 were treated with Pegylated-IFN-a. All were studied before and during antiviral treatment, at the time of biochemical and virological response. All patients consented to participate in the study. The ethical committee of the University of the Medical School of the University of Thessaly approved the study protocol.

Methods: Cryopreserved peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were used to determine phosphorylation of p38MAPK (p-p38) by flow cytometry. To stimulate p-p38, PBMCs were incubated with non-specific stimuli (arsenite, phorbol myristate acetate (PMA) and ionomycin) and combination of recombinant human cytokines, rhIL-12 + rhIL-2 and rhIL-12 + rhIL-18 for 30, 60, 120 and 240 min. PBMCs were then stained with the following monoclonal antibodies, Alexa 647 conjugated phosphop38 MAPK, fluorescein isothiocyanate (FITC) conjugated anti-CD3, FITC conjugated anti-hIFN-*γ* and PE conjugated anti-IL-10 and PC5 conjugated anti-CD56 antibodies. Flow cytometric analysis was performed by a FACs Calibur and BD CellQuest Pro software was used for data analysis. P38 MAPK phosphorylation was analyzed in total PBMCs and in T-cell subpopulation (CD3+, CD3-, CD56+ and CD56- cells).

Results: Both patients with hepatitis B and inactive carriers had significantly higher percentages of p-p38 MAPK positive PBMCs than healthy donors. Inactive carriers had the highest percentage of p-p38 positive PBMCs amongst the 3 groups (Figure 1). Patients receiving NA demonstrated reduced percentages of p-p38 MAPK positive PBMCs compared to those before treatment. Patients receiving Peg-IFN-a presented 2 different trends in p-p38 at the time of virological response; 3 patients had higher and 2 patients had lower percentage of p-p38 positive PBMCs compared to those before treatment. Similar results were obtained in all T-cell subpopulations independent of the stimulus used.

We have also determined levels of IFN-γ in the supernatants of PBMCs with a commercial standard sandwich ELISA after culture for 1 day with rhIL-12+ı rhIL-2 and rhIL-12+rhIL-18 in the presence or absence of the p38 MAPK inhibitor, SB203580. Stimulation with rhIL-12+rhIL-18 in the presence or absence of SB203580 induced greater IFN-γ production compared to rhIL-12+ rhIL-2 at all conditions in all 3 groups. Healthy controls had the lowest concentrations of IFN-γ. Inhibition of p38 MAPK resulted in reduction of IFN-γ production in all studied groups.

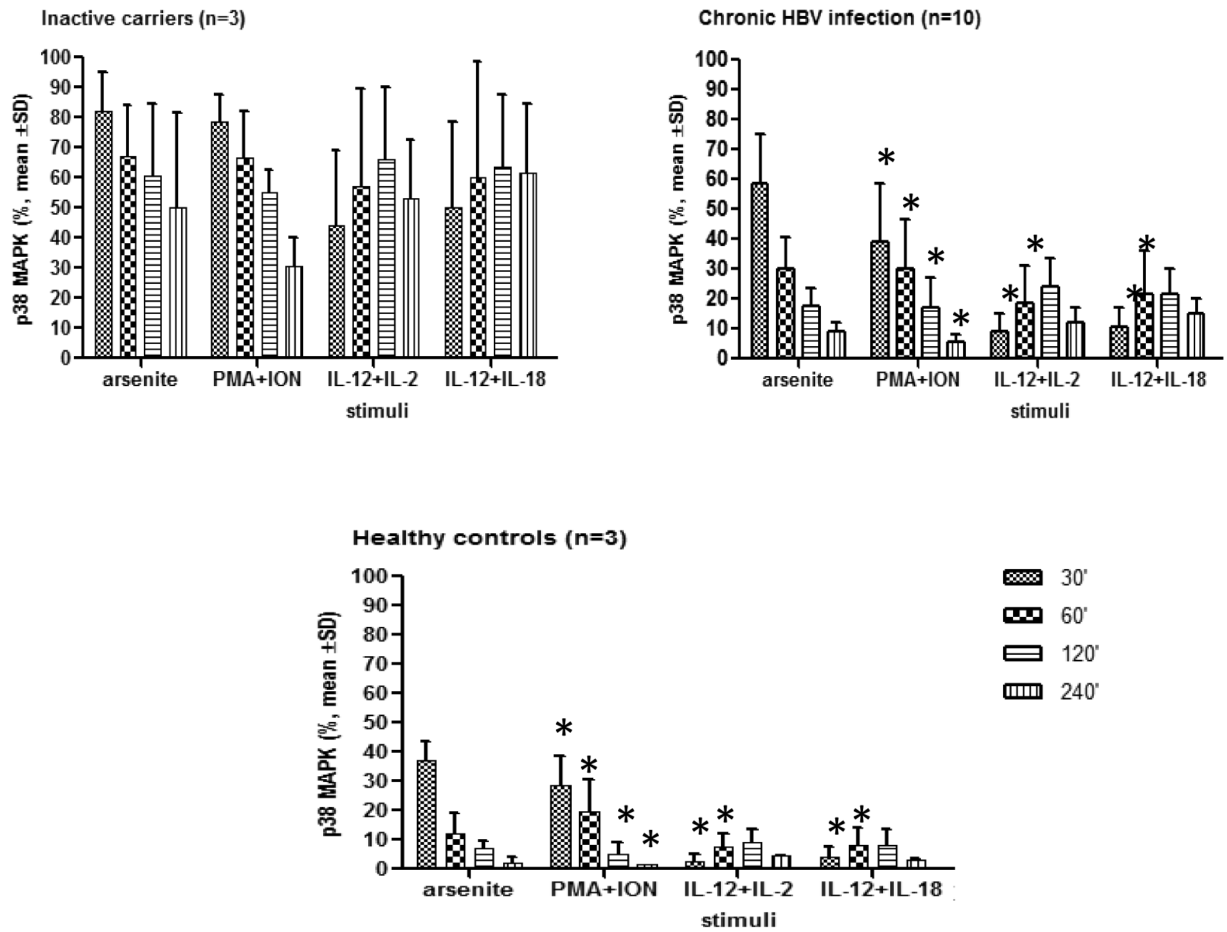


Figure 1: *Phosphorylation of p38 MAPK in PBMCs (%, mean±SD) in 3 groups (inactive carriers of HBV, chronic HBV infection before treatment and healthy controls) at 4 time points with different stimuli. Inactive carriers had the highest percentages of all (* for the comparison between inactive carriers and chronic HBV infection and healthy controls, p<0,05)*

In conclusion, stimulation of p38 MAPK signaling pathway seems to be involved in the pathogenesis and outcome of chronic HBV infection and it is related with IFN-γ production.

Key words: p38 MAPK, viral hepatitis, HBV, chronic hepatitis B

References:

1. Stefos A. et al, Descripitve epidemiology of chronic hepatitis B by using data from a hepatitis registry in Central Greece, European Journal of Internal Medicine, 20 (2009): 35-43
2. Lee W. et al, Hepatitis B Virus Infection, The New England Journal of Medicine, 337 (1997): 1733-45
3. Liaw Y. et al, Hepatitis B Virus Infection, Lancet, 373 (2009): 582-92
4. Chang J. et al, The innate immune response to hepatitis B infection, Antiviral Research, 96 (2012): 405-413
5. Cooper A. et al, Cytokine induction by Hepatitis B virus capsid in macrophages is facilitated by membrane heparin sulfate and involves TLR2, J Immunology, 175 (2005): 3165-76
6. Rigopoulou E. et al, Lamivudine plus Interleukin-12 combination therapy in chronic hepatitis B, Hepatology, 5 (2005): 1028-36

7. Cuenda A. p38 MAPK pathway regulation, function and role in human diseases, BiochimBiophysActa, 8 (2007): 1358-75

8. Tarn et al. Hepatitis B Virus X protein activates the p38 MAPK pathway in dedifferentiated hepatocytes, Journal of Virology, 10 (2002): 9763-72

9. Jacques et al. Intrahepatic-endothelial and Kuppfer cells involved in immunosuppressive and NK/NK-T cell disorders in the viral acute hepatitis, Clin. Exp. Immunology, 152 (2008): 298-310

Three - Member Supervisory Committee

Eirini I. Rigopoulou, Assistant Professor of Internal Medicine, University of Thessaly, Greece *(supervisor)*

George N. Dalekos, Professor of Internal Medicine, University of Thessaly, Greece

Dimitrios P. Bogdanos, Assistant Professor of Internal Medicine, University of Thessaly, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες Presentations in scientific conferences and meetings - workshops

1. **Μπακαρόζη, Μ.**, Μπόγδανος, Δ. Π., Νταλέκος, Γ.Ν, Ρηγοπούλου, Ε. Ι. (2015, Μάιος). *Ο ρόλος του σηματοδοτικού δρόμου της p38 ενεργοποιημένης από μιτογόνα πρωτεϊνικής κινάσης (mitogen-activated protein kinase* (p38-MAPK)) στη φυσική πορεία της χρόνιας HBV λοίμωξης. Αναρτημένη ανακοίνωση στο 14ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, Κως – 1ο Βραβείο καλύτερης αναρτημένης ανακοίνωσης.

   Bakarozi, M., Bogdanos, D. P., Dalekos, G. N., Rigopoulou, E. I. (2015, May). *The role of signaling pathway of mitogen activated protein kinase (p38 MAPK) in the natural history of chronic HBV infection.* Poster presentation in 14th Pan-Hellenic Hepatology Congress, Kos, Greece -1st Award in poster session.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Μαρία Μπακαρόζη** γεννήθηκε στη Λάρισα το 1984. Σπούδασε στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (Π.Θ), από όπου αποφοίτησε το 2008. Από το 2008, έχει παρακολουθήσει τα Μετεκπαιδευτικά Προγράμματα Μαθημάτων της Παθολογικής κλινικής του Π.Θ, στα οποία έχει συμμετάσχει και ως εκπαιδεύτρια. Από το 2009 έως το 2012, εκπαιδεύτηκε στο Ηπατολογικό Ιατρείο της Παθολογικής κλινικής, όπως και στο Ερευνητικό Εργαστήριο της Παθολογικής κλινικής του Π.Θ.

Από το 2009 έως το 2015, με υποτροφία «Ηράκλειτος ΙΙ», ασχολήθηκε με την εκπόνηση της διδακτορικής της διατριβής με θέμα «Ο ρόλος των ενδοκυττάριων σηματοδοτικών μηχανισμών στους ασθενείς με ιογενείς ηπατίτιδες», η οποία πραγματοποιήθηκε στο Ερευνητικό Εργαστήριο της Παθολογικής κλινικής του Π.Θ. Συγκεκριμένα, μελετήθηκε ο ρόλος της ενδοκυττάριας σηματοδοτικής οδού της p38 MAPK σε ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα Β. Τα αποτελέσματα της διατριβής της ανακοινώθηκαν στο 14ο Πανελλήνιο Ηπατολογικό Συνέδριο, κερδίζοντας το πρώτο βραβείο μεταξύ των αναρτημένων ανακοινώσεων.

Γνωρίζει Αγγλικά. Τα τελευταία χρόνια εργάζεται ως ειδικευόμενη ιατρός στην Παθολογική κλινική του ΠΘ.

Short CV

Maria Bakarozi was born in Larissa in 1984. She studied Medicine at the School of Medicine of the University of Thessaly (UTH), from where she graduated in 2008.

From 2009 to 2012, she worked as a trainee in the Research Laboratory of Internal Medicine and the Hepatology Outpatient Clinic of the University of Thessaly. From 2008 until now, she has attended the Postgraduate Courses of the Department of Internal Medicine, UTH.

From 2009 to 2015, she worked on her doctoral thesis entitled: “The role of intracellular signaling in patients with chronic viral hepatitis”. More specifically, she studied the role of p38 MAPK signaling pathway in different phases of the natural history of chronic HBV infection. For her PhD studies she was awarded a “Heraclitus II” scholarship. The results of her thesis have been presented at the 14th Pan-Hellenic Hepatology Congress where she won the first award in poster session.

She speaks English. Over the last years she has been working as a medical resident in the Department of Internal Medicine at University of Thessaly.

Μαριάνθη Παπαναγιώτου

Οστικές Μορφογενετικές Πρωτεΐνες (BMPs) στην αντιμετώπιση ψευδαρθρώσεων και οστικών ελλειμμάτων

Περίληψη

Σε μεγάλο αριθμό επεμβάσεων του μυοσκελετικού προκύπτει η ανάγκη κάλυψης οστικών ελλειμμάτων, τα οποία συνήθως αντιμετωπίζονται με τη χρήση μοσχευμάτων (αυτομοσχευμάτων, αλλομοσχευμάτων και ξενομοσχευμάτων), ανάλογα με τα χαρακτηριστικά του ελλείμματος (μέγεθος, παρουσία λοίμωξης, κατάσταση μαλακών μορίων).

Σήμερα η έρευνα οδηγείται στην αναζήτηση νέων παραγόντων που επιταχύνουν και ενισχύουν τη διαδικασία πώρωσης των καταγμάτων και αποκατάστασης των οστικών ελλειμμάτων. Ήδη πριν από 40 χρόνια, ο Marshall R. Urist ανακάλυψε ότι η εξωκυττάρια ουσία του οστίτη ιστού περιέχει παράγοντες που ευοδώνουν το σχηματισμό νέου οστού όταν τοποθετηθούν σε εξωσκελετικές θέσεις. Οι παράγοντες αυτοί έχουν σήμερα ταυτοποιηθεί ως οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (Bone Morphogenetic Proteins-BMPs).

Οι BMPs είναι γλυκοπρωτεΐνες χαμηλού μοριακού βάρους που ανήκουν στην υπερ-οικογένεια των TGF-β και έχουν σημαντικό ρόλο κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη στο σχηματισμό του εγκεφάλου και των οστών. Ιδιαίτερη όμως είναι και η σημασία τους στη διαδικασία της οστικής ανακατασκευής, όπου δρουν προσελκύοντας μεσεγχυματικά κύτταρα από τους γύρω ιστούς (περιόστεο, αίμα, σπογγώδες οστό, μυελός οστών) και οδηγούν στον πολλαπλασιασμό και στη διαφοροποίησή τους σε οστεοβλάστες και χονδροβλάστες.

Με τη βοήθεια της γενετικής μηχανικής, σήμερα είναι δυνατό να παρασκευαστούν εργαστηριακά κάποιοι τύποι BMPs. Σε κλινικό επίπεδο, έχει μελετηθεί η χρήση των BMP-2 και BMP-7 σε ανοικτά κατάγματα της κνήμης (BMP-2), στην αντιμετώπιση ψευδαρθρώσεων της κνήμης (BMP-7) και σε σπονδυλοδεσίες (BMP-7 &BMP-2), ενώ υπάρχουν λιγότερες αναφορές για τη χρήση τους στην οστεονέκρωση της μηριαίας κεφαλής και για την αντιμετώπιση σηπτικών ελλειμμάτων.

Στη συγκεκριμένη μελέτη, αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα της γενετικά ανασυνδυασμένης (rh) BMP-7 στην αντιμετώπιση ψευδαρθρώσεων και ελλειμμάτων των μακρών οστών, καθώς και στην αντιμετώπιση της οστεονέκρωσης της μηριαίας κεφαλής. Αντιμετωπίστηκαν συνολικά 98 ασθενείς με κατάγματα/οστικά ελλείμματα μακρών οστών (8 ασθενείς), ψευδαρθρώσεις μακρών οστών (84 ασθενείς) και οστεονέκρωση της μηριαίας κεφαλής (6 ασθενείς -7 μηριαίες κεφαλές). Ο ελάχιστος χρόνος παρακολούθησης των ασθενών ήταν τα δύο έτη.

Αξιολογήθηκε η επιτυχία της μεθόδου, ο χρόνος πώρωσης (στην περίπτωση των ελλειμμάτων και των ψευδαρθρώσεων) ή ενσωμάτωσης του μοσχεύματος (στην περίπτωση της αντιμετώπισης οστεονέκρωσης της μηριαίας κεφαλής) και οι πιθανές επιπλοκές από τη χρήση της πρωτεΐνης. Επιπλέον μελετήθηκε η επίδραση της θεραπείας με rhBMP-7 στην ποιότητα ζωής των ασθενών με ψευδαρθρώσεις (κλίμακα SF-12) και στη βελτίωση του πόνου και της λειτουργικότητας στους ασθενείς με οστεονέκρωση (αναλογική κλίμακα πόνου (VAS) και Harris Hip Score (HHS) αντίστοιχα. Επιπρόσθετα, μελετήθηκε η επίδραση διαφόρων παραγόντων στην επιτυχία αλλά και στον χρόνο επίτευξης της πώρωσης των ψευδαρθρώσεων των μακρών οστών. Οι παράγοντες που μελετήθηκαν ήταν το φύλο, η ηλικία, η εντόπιση, οι διαστάσεις του ελλείμματος, ο τύπος ψευδάρθρωσης, η χρονιότητα, η παρουσία λοίμωξης, η ύπαρξη ελλειμμάτων των μαλακών μορίων γύρω από την ψευδάρθρωση, ο αριθμός των προηγουμένων αποτυχημένων επεμβάσεων, η αλλαγή οστεοσύνθεσης, το είδος του μοσχεύματος και η ποσότητα rhBMP-7 που χρησιμοποιήθηκε.

Η χρήση της rhBMP-7 αποδείχθηκε αποτελεσματική για την αντιμετώπιση ψευδαρθρώσεων καθώς η πώρωση επιτεύχθηκε στο 80,9% του συνόλου των ασθενών και ο μέσος χρόνος πώρωσης ήταν 5,4 μήνες. Η παρουσία λοίμωξης ήταν ο μόνος στατιστικά σημαντικός παράγοντας που φάνηκε να επιδρά αρνητικά στην επιτυχία της πώρωσηςψευδαρθρώσεων. Ασθενείς με οστική λοίμωξη είχαν 10 περίπου φορές μεγαλύτερη πιθανότητα αποτυχίας από ότι οι ασθενείς χωρίς λοίμωξη. Για την αξιολόγηση του χρόνου πώρωσης πραγματοποιήθηκαν δύο αναλύσεις, στην πρώτη περίπτωση το δείγμα που εξετάστηκε περιελάμβανε όλους τους ασθενείς και εξετάστηκε ο χρόνος που απαιτήθηκε μέχρι την πώρωση ή μέχρι την αποτυχία πώρωσης (τη χρονική περίοδο δηλαδή που αποφασίστηκε οτι η ψευδάρθρωση δεν είναι δυνατό να πωρωθεί χωρίς περαιτέρω χειρουργική παρέμβαση). Στη δεύτερη ανάλυση εξετάστηκαν μόνο οι ασθενείς στους οποίους η πώρωση ήταν επιτυχής. Απο τις δύο αυτές αναλύσεις προέκυψε ότι για το σύνολο των ασθενών στατιστικά σημαντικοί παράγοντες ήταν οι διαστάσεις, ο τύπος της ψευδάρθρωσης και η παρουσία ή όχι λοίμωξης. Αντίθετα, στο δείγμα των ασθενών με επι-

τυχή πώρωση, η λοίμωξη δε φάνηκε να επηρεάζει το χρόνο και οι μόνοι στατιστικά σημαντικοί παράγοντες σε αυτή την κατηγορία ήταν ο αριθμός των προηγουμένων επεμβάσεων με στατιστική σημαντικότητα p=0,006 (ασθενείς με περισσότερες απο δύο προηγούμενες επεμβάσεις είχαν μεγαλύτερο χρόνο πώρωσης). Η πυκνότητα του νεοσχηματιζόμενου πώρου είχε παρόμοια τιμή με την πυκνότητα του φυσιολογικού οστού (λόγος πώρου προς φυσιολογικό =0,94). Σημαντική επίσης ήταν και η βελτίωση στην ποιότητα ζωής. Συγκεκριμένα, ο μέσος όρος του SF12 στον τομέα της σωματικής υγείας, αυξήθηκε από 28,3 προεγχειρητικά, σε 50,6 ένα χρόνο μετά την επέμβαση. Αντίστοιχη βελτίωση υπήρξε και στον τομέα της ψυχικής υγείας, όπου παρατηρήθηκε αύξηση του SF12 mental από 40,2 προεγχειρητικά σε 53,3 τον πρώτο χρόνο μετεγχειρητικά.

Εξίσου θετικά αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στη σειρά των οστικών ελλειμμάτων, με επιτυχία σε 7 από τους 8 ασθενείς, ενώ ο μέσος χρόνος πώρωσης σε αυτή την περίπτωση ήταν οι 4 μήνες. Ο λόγος οστική πυκνότητα πώρου προς οστική πυκνότητα φυσιολογικού στους ασθενείς με οστικά ελλείμματα ήταν 0,93.

Η αποτελεσματικότητα της rhBMP-7 αποδείχθηκε και στην περίπτωση των ασθενών που αντιμετωπίστηκαν για οστεονέκρωση της μηριαίας κεφαλής με ανάγγειο μόσχευμα περόνης. Η μηριαία κεφαλή διατηρήθηκε σε 5 απο τις 7 περιπτώσεις, χωρίς την ανάγκη περαιτέρω επεμβάσεων, ενώ αξίζει να σημειωθεί ότι σημεία ενσωμάτωσης του μοσχεύματος ήταν ήδη εμφανή απο τον τρίτο μήνα μετά το χειρουργείο. Η κλινική βελτίωση των ασθενών με οστεονέκρωση ήταν εξίσου σημαντική τόσο όσον αφορά την αναλογική κλίμακα του πόνου (VAS), όσο και στη λειτουργικότητα, όπως αυτή προσδιορίστηκε απο το HHS. Το επίπεδο του πόνου μειώθηκε κατά μέσο όρο απο 7,8 προεγχειρητικά στο 2,8 κατά το διετές follow-up, ενώ η λειτουργικότητα με βάση το HHS βελτιώθηκε από 37,4 προεγχειρητικά σε 86,6 δύο χρόνια μετά την επέμβαση.

Οι επιπλοκές που σχετίστηκαν με την τοποθέτηση της rhBMP-7 ήταν η έκτοπη οστεοποίηση στα μαλακά μόρια γύρω απο την περιοχή τοποθέτησης και η εκδήλωση οιδήματος ή συλλογής υγρού στην περιοχή. Καμία απο τις επιπλοκές που παρατηρήθηκαν δεν είχε επίδραση στην αποτελεσματικότητα του προϊόντος ούτε χρειάστηκαν περαιτέρω παρεμβάσεις για την αντιμετώπισή τους.

Η χρήση της rhBMP-7 αποδείχθηκε αποτελεσματική και ασφαλής και στις τρεις ομάδες ασθενών που μελετήθηκαν, συνεισφέροντας σημαντική βελτίωση στην ποιότητα ζωής των ασθενών, με πιθανή εξαίρεση τους ασθενείς με σηπτικές ψευδαρθρώσεις, στους οποίους τα αποτελέσματα δεν ήταν τόσο ενθαρρυντικά.

Λέξεις κλειδιά: Οστική Μορφογενετική Πρωτεϊνη 7, ψευδάρθρωση, οστεονέκρωση, οστικά μοσχεύματα, οστικά ελλείμματα

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Δρ. Ζωή Χ. Νταϊλιάνα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ορθοπαιδικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας *(επιβλέπουσα)*

Δρ. Κωνσταντίνος Ν. Μαλίζος, Καθηγητής Ορθοπαιδικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Δρ. Θεόφιλος Καραχάλιος, Καθηγητής Ορθοπαιδικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Marianthi Papanagiotou

Bone Morphogenetic Proteins in the treatment of bone defects and nonunions

Summary

In a great number of musculoskeletal procedures, the orthopaedic surgeon faces the problem of bridging large bone defects. These defects are usually treated using grafts (autografts, allografts and xenografts). The choice of the graft depends on the characteristics of the defect (size, presence of infection, surrounding soft tissue problems).

Nowadays, research focuses in the identification of new agents that accelerate and enhance the bone healing process and have the potential to restore skeletal defects. Forty years ago, Marshall R. Urist discovered that extracellular bone matrix contains factors that enhance new bone formation when placed in extraskeletal sites. These factors have been identified as bone morphogenetic proteins (Bone Morphogenetic Proteins-BMPs).

BMPs are low-molecular weight glycoproteins members of the TGF-β superfamily, which have a major role in the formation of brain and bones during fetal development. BMPs are also important in the process of bone remodelling, as they attract mesenchymal cells from the surrounding tissues (periosteum, peripheral blood, bone marrow) and lead them to proliferation and differentiation into osteoblasts and chondroblasts.

Through tissue engineering, the development of certain BMPs in the lab (recombinant-rh) was made possible. In clinical practice, the use of BMP-2 and BMP-7 has been studied for the treatment of open tibia fractures (BMP-2), tibia nonunions (BMP-7) and spinal fusion (BMP-7 and BMP-2), while there are few reports of their use in osteonecrosis of the femoral head as well as in septic conditions. BMPs use has been proven safe and effective, similar to autograft.

In this study, we evaluated the efficacy of rhBMP-7 for the treatment of long bone defects and nonunions as well as for the treatment of femoral head osteonecrosis. A total of 98 patients with fractures/skeletal defects (8 patients), nonunions (84 patients) of long bones and osteonecrosis of the femoral head (6 patients-7 femoral heads) were treated. The minimum follow-up period was two years.

The method was considered successful when consolidation was noted in cases of defects and nonunions and graft-host incorporation was noted in cases of femoral head osteonecrosis. The potential complications from the use of the protein were also evaluated. The effect of the treatment on the quality of life in patients with nonunions (SF-12 score) and on the improvement of pain and function in patients with osteonecrosis (visual analog scale for pain (VAS) and Harris Hip Score (HHS) respectively) were also studied. Moreover, we studied the influence of various factors to the success of the method and to the time to reach consolidation in patients with long bone nonunions. These factors were patients' sex and age, location and extent of the deficit, nonunion type, chronicity, presence of infection, presence of soft-tissue defects around the nonunion site, the number of previous failed procedures, exchange of the fixation, type of bone graft used and amount of rhBMP-7.

Use of rhBMP-7 proved beneficial for the treatment of long bone nonunions. Consolidation rate was 80.9% while the mean consolidation time was 5.4 months. Infection was the only statistically significant factor that affected the outcome (consolidation) negatively. Patients with bone infection had 10-fold possibility of failure compared to the remaining of patients. To evaluate the consolidation period two kinds of groups were evaluated. The first group included all the patients irrespective to the outcome(consolidation or failure), in the second group only patients who succeeded consolidation were evaluated.Statistical analysis in these two groups showed that in the first group the size of the defect, the type of the nonunion (hypertrophic or oligotrophic) as well as bone infection were the only statistically significant parameters that influenced negatively consolidation period. On the contrary, in the successfully consolidated group of patients infection didn't seem to have any effect at all at consolidation time and only the number of previous failed procedures seemed to affect it in a statistically significant mater $p=0.006$ (patients with 2 to 3 previous failed surgeries required more time to achieve consolidation). The bone at the callus site had almost the same density to that of the normal bone and their ratio reached 0.94. A great improvement on patients' quality of life was also noted. The mean SF physical score improved from 28.3 preoperatively to 50.6 one year postoperatively, while an important improvement was also apparent in the mean SF12 mental score (40.2 preoperatively to 53.3 one year post operatively).

RhBMP-7 was found equally effective for the treatment of long bone defects, where consolidation occurred in 7 out of 8 cases in a mean time of 4 months. The ratio of callus bone density to normal bone was 0.93.

The results of the use of rhBMP-7 in combination with non-vasularized fibula autograft for the treatment of avascular necrosis of the femoral head were also satisfactory. Preservation of the femoral head was achieved in 5 of 7 femoral heads, with no need for further intervention, while it's worth to mention that signs of consolidation of the graft were apparent already from the third postoperative month. A significant clinical improvement was also noted at the visual analogue scale (VAS) for pain as well as at the Harris Hip Score (HHS). Pain levels decreased from 7.8 preoperatively to 2.8 during the two year follow up period, while HHS improved from 37.4 to 86.6 at the same time.

Complications associated with the use of rhBMP-7 were heterotopic ossification of the soft tissues around the application site and the occurrence of edema or seroma. However, none of the complications had an effect on the efficacy of the product and no further procedures were required for their treatment.

The use of rhBMP-7 proved effective and safe method in all three groups of patients studied, contributing significantly to the improvement of the quality of life in patients with nonunions, with the exception of septic cases where the results were not so encouraging.

Key words: BMP-7, nonunion, osteonecrosis, bone grafts, bone defects

Three - Member Supervisory Committee

Dr. Zoe H. Dailiana, Associate Professor in Orthopaedics, Faculty of Medicine, University of Thessaly, Larissa, Greece

Dr. Konstantinos N. Malizos, Professor in Orthopaedics, Faculty of Medicine, University of Thessaly, Larissa, Greece

Dr. Theophilos Karachalios, Professor in Orthopaedics, Faculty of Medicine, University of Thessaly, Larissa, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Papanagiotou, M.**, Dailiana, Z., Karachalios, Th., Varitimidis, S., Vlychou, M., Hantes, M., Malizos, K.N. (2015). RhBMP-7 for the treatment of non union of fractures of long bones. *Bone Joint J.*, *97-B*(7), 997-1003.
2. **Papanagiotou, M**., Malizos, K.N., Vlychou, M., Dailiana, Z. (2014). Autologous (non-vascularised) fibular grafting with recombinant bone morphogenetic protein-7 for the treatment of femoral head osteonecrosis: preliminary report. *Bone Joint J.*, *96-B*(1), 31-35.
3. Dailiana, Z., **Papanagiotou, M**., Basdekis, G., Venouziou, A., Tsougias, G., Giannoukas, A. (2014). Bone Morphogenetic Protein 7 for the treatment of a displaced four-part proximal humerus fracture. *Acta Orthopaedica et Traumatologica Hellenica, 65-No 2*, 75-79

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια-ημερίδες Presentations in scientific conferences and meetings-workshops

1. **Papanagiotou, M.**, Dailiana, Z., Drakos, A., Raoulis, V., Antoniou, I., & Malizos, K.N. (2015, May). *Heterotopic Ossification After The Use Of RhBMP-7*. Paper presented at 16th EFFORT Congress, Prague, Czech Republic.

2. **Παπαναγιώτου, Μ.**, Νταϊλιάνα, Ζ., Βαρυτιμίδης, Σ., Καραχάλιος, Θ., Δράκος, Α., & Μαλίζος, Κ.Ν. (2013, Οκτώβριος). *Αποτελεσματικότητα και επιπλοκές από τη χρήση της BMP-7 στην αντιμετώπιση ψευδαρθρώσεων και οστικών ελλειμμάτων*. Προφορική ανακοίνωση στο 69ο Ετήσιο συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ορθοπαιδικής & Τραυματολογίας, Αθήνα.

   Papanagiotou, M., Dailiana, Z., Varitimidis, S., Karachalios, Th., Drakos, A., & Malizos, K.N. (2013, October). *Effectiveness and complications of the use of BMP-7 for the treatment of non-unions and bone defects*. Paper presented at 69th National Congress of the Hellenic Surgical Orthopaedic and Traumatology Association, Athens, Greece.

3. **Παπαναγιώτου, Μ.**, Νταϊλιάνα, Ζ., Κουτάλος, Α., Κοντογεωργάκος, Β., Μπαργιώτας, Κ., & Μαλίζος, Κ.Ν. (2013, Οκτώβριος). *Οστικές μορφογενετικες πρωτεϊνες (BMPs) στην αντιμετώπιση ψευδαρθρώσεων του βραχιονίου*. Προφορική ανακοίνωση στο 69ο Ετήσιο συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ορθοπαιδικής & Τραυματολογίας, Αθήνα.

   Papanagiotou, M., Dailiana, Z., Koutalos, A., Kontogeorgakos, V., Bargiotas, K., & Malizos, K.N. (2013, October). *Bone Morphogenetic Proteins for the treatment of humeral non-unions.* Paper presented at 69th National Congress of the Hellenic Surgical Orthopaedic and Traumatology Association, Athens, Greece.

4. **Papanagiotou, M.**, Dailiana, Z., Lagaras, A., Varitimidis, S., Antoniou, I., & Malizos,K.N. (2013, September). *BMP-7 for the treatment of septic non-unions and skeletal defects*. Paper presented at 32nd conference of the European Bone and Joint Infection Society, Prague, Czech Republic.

5. Νταϊλιάνα, Ζ., **Παπαναγιώτου, Μ**., Τσούγιας, Γ., Βαρυτιμίδης, Σ., Μπαργιώτας, Κ., & Μαλίζος, Κ.Ν. (2012, Οκτώβριος). *Νέα μέθοδος χειρουργικής αντιμετώπισης της άσηπτης νέκρωσης της μηριαίας κεφαλής με αυτομόσχευμα περόνης και BMP-7*. Προφορική ανακοίνωση στο 68ο Ετήσιο συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ορθοπαιδικής & Τραυματολογίας, Αθήνα.

   Dailiana, Z., **Papanagiotou, M.**, Tsougias, G., Varitimidis, S., Bargiotas, K., & Malizos, K.N. (2012, October). *A new method of surgical treatment of avascular necrosis of the femoral head with autologous fibula graft combined and BMP-7*. Paper presented at 68th National Congress of the Hellenic Surgical Orthopaedic and Traumatology Association, Athens, Greece.

6. **Παπαναγιώτου, Μ.**, Νταϊλιάνα, Ζ., Βαρυτιμίδης, Σ., Καραχάλιος, Θ., Χαντές, Μ., Αντωνίου, Ι., & Μαλίζος, Κ.Ν. (2012, Οκτώβριος). *Οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (BMPs) στην αντιμετώπιση σηπτικών ψευδαρθρώσεων και ελλειμμάτων*. Προφορική ανακοίνωση στο 68ο Ετήσιο συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ορθοπαιδικής & Τραυματολογίας, Αθήνα.

   Papanagiotou, M., Dailiana, Z., Varitimidis, S., Karachalios Th., Hantes, M., Antoniou, I., & Malizos, K.N. (2012, October). *BMPs for the treatment of septic non-unions and bone defects*. Paper presented at 68th National Congress of the Hellenic Surgical Orthopaedic and Traumatology Association, Athens, Greece.

7. Νταϊλιάνα, Ζ., **Παπαναγιώτου, Μ.**, Τσούγιας, Γ., Βαρυτιμίδης, Σ., Μπαργιώτας, Κ., & Μαλίζος, Κ.Ν. (2012, Οκτώβριος). *Νέα μέθοδος χειρουργικής αντιμετώπισης της άσηπτης νέκρωσης της μηριαίας κεφαλής με αυτομόσχευμα περόνης και BMP-7*. Προφορική ανακοίνωση στο 68ο Ετήσιο συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ορθοπαιδικής & Τραυματολογίας, Αθήνα.

   Dailiana, Z., **Papanagiotou, M.**, Tsougias, G., Varitimidis, S., Bargiotas, K., & Malizos, K.N. (2012, October). *A new method of surgical treatment of avascular necrosis of the femoral head with autologous fibula graft combined and BMP-7*. Paper presented at 68th National Congress of the Hellenic Surgical Orthopaedic and Traumatology Association, Athens, Greece.

8. **Παπαναγιώτου, Μ.**, Νταϊλιάνα, Ζ., Βαρυτιμίδης, Σ., Καραχάλιος, Θ., Χαντές, Μ., Αντωνίου, Ι., & Μαλίζος, Κ.Ν. (2012, Οκτώβριος). *Οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (BMPs) στην αντιμετώπιση σηπτικών ψευδαρθρώσεων και ελλειμμάτων*. Προφορική ανακοίνωση στο 68ο Ετήσιο συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ορθοπαιδικής & Τραυματολογίας, Αθήνα.

   Papanagiotou, M., Dailiana, Z., Varitimidis, S., Karachalios, Th., Hantes, M., Antoniou I., & Malizos, K.N. (2012, October). *BMPs for the treatment of septic non-unions and bone defects*. Paper presented at 68th National Congress of the Hellenic Surgical Orthopaedic and Traumatology Association, Athens, Greece.

9. **Papanagiotou, M.**, Dailiana, Z., Lagaras, A., Varitimidis, S., Bargiotas, K., & Malizos, K.N. (2012, June). T*he effect of BMPs on callus formation in tibial nonunions treated with circular frames.* Paper presented at 7th International congress of ASAMI & BR, Thessaloniki, Greece.

10. **Παπαναγιώτου, Μ.**, Αντωνίου, Ι., Μπαργιώτας, Κ., Μπασδέκης, Γ., Μαλίζος, Κ.Ν., & Νταϊλιάνα, Ζ. (2012,Απρίλιος). *Η χρήση της BMP-7 σε συνδυασμό με αυτομόσχευμα περόνης στην αντιμετώπιση της άσηπτης νέκρωσης της μηριαίας κεφαλής*. Προφορική ανακοίνωση στο 31ο Ετήσιο συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ορθοπαιδικής & Τραυματολογίας Μακεδονίας – Θράκης, Θεσσαλονίκη.

    Papanagiotou, M., Antoniou, I., Bargiotas, K., Basdekis, G., Malizos, K.N., & Dailiana, Z. (2012, April). *Use of BMP-7 in combination with fibula autograft for the treatment of AVN of the femoral head*. Paper presented at 31st annual meeting of the Macedonia and Thrace Orthopaedic and Traumatology Association, Thessaloniki, Greece.

11. **Παπαναγιώτου, Μ**., Νταϊλιάνα, Ζ., Καραχάλιος, Θ., Βαρυτιμίδης, Σ., Μπαργιώτας, Κ., & Μαλίζος, Κ.Ν. (2011,Οκτώβριος). *Η χρήση της οστικής μορφογενετικής πρωτεΐνης BMP-7 στην αντιμετώπιση των ψευδαρθρώσεων του κάτω άκρου*. Παρουσίαση της εμπειρίας μας από 28 περιστατικά. Προφορική ανακοίνωση στο 67ο Ετήσιο Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ορθοπαιδικής & Τραυματολογίας, Αθήνα.

    Papanagiotou, M., Dailiana, Z., Karachalios, Th., Varitimidis, S., Bargiotas, K. & Malizos, K.N. (2011, October). *The use of Bone Morphogenetic Protein BMP-7 in the treatment of lower limb nonunions*. Our experience out of 28 cases. Paper presented at 67th National Congress of the Hellenic Surgical Orthopaedic and Traumatology Association, Athens, Greece.

12. **Παπαναγιώτου, Μ.**, Νταϊλιάνα, Ζ., Βαρυτιμίδης, Σ., Παπασούλης, Ε., Παπαθεοδώρου, Λ., & Μαλίζος, Κ.Ν. (2011, Οκτώβριος). *Η χρήση της οστικής μορφογενετικής πρωτεΐνης BMP-7 στην αντιμετώπιση της οστεονέκρωσης της μηριαίας κεφαλής*. Προφορική ανακοίνωση στο 67ο Ετήσιο Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Χειρουργικής Ορθοπαιδικής& Τραυματολογίας, Αθήνα, Ελλάδα.

Papanagiotou, M., Dailiana, Z., Varitimidis, S., Papasoulis, E., Papatheodorou, L., & Malizos, K.N. (2011, October). *The use of Bone Morphogenetic Protein BMP-7 in the treatment of avascular necrosis of the femoral head*. Paper presented at 67th National Congress of the Hellenic Surgical Orthopaedic and Traumatology Association, Athens,Greece.

13. **Papanagiotou, M.**, Dailiana, Z., Lagaras, A., Karachalios, Th., Varitimidis, S., & Malizos, K.N. (2011, September). *Bone Morphogenetic Proteins (BMPs) for the treatment of nonunions*. Paper presented at the Mediterranean Trauma Conference, Agia Nappa, Cyprus.

14. **Παπαναγιώτου, Μ.**, Νταϊλιάνα, Ζ., Βαρυτιμίδης, Σ., Καραχάλιος, Θ., Μαλίζος, Κ.Ν. (2008, Νοέμβριος). *Οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (BMPs) για την αντιμετώπιση οστικών ελλειμμάτων*. Προφορική ανακοίνωση στο 6ο Ετήσιο Συνέδριο Ορθοπαιδικής Έρευνας, Πειραιάς.

Papanagiotou, M., Dailiana, Z., Varitimidis, S., Karachalios, Th., Malizos, K.N. (2008, November). *Bone Morphogenetic Proteins for the treatment of bone defects*. Paper presented at 6th annual Orthopaedic Research Congress, Piraeus, Greece.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Μαριάνθη Παπαναγιώτου** γεννήθηκε στη Λάρισα το 1979 και αποφοίτησε απο το Γενικό Λύκειο Πλατυκάμπου τον Ιούνιο του 1996. Το Σεπτέμβριο του 1996, εισήχθη με υποτροφία του Ιδρύματος Κρατικών Υποτροφιών, στην Ιατρική σχολή του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας απ' όπου και αποφοίτησε τον Οκτώβριο του 2002.

Στο πλαίσιο της ειδίκευσής της στην Ορθοπαιδική, εργάστηκε ως ειδικευόμενη ιατρός στη χειρουργική κλινική του Γενικού Νοσοκομείου Κοζάνης «Μαμάτσειο» και στην Ορθοπαιδική κλινική του Γενικού Νοσοκομείου Πτολεμαΐδας «Μποδοσάκειο», ενώ από το Σεπτέμβριο του 2010, εργάζεται ως ειδικευόμενη ιατρός στην Ορθοπαιδική κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας. Έχει συμμετάσχει σε αρκετά ελληνικά και διεθνή επιστημονικά συνέδρια καθώς και στη συγγραφή άρθρων σε ελληνικά και διεθνή επιστημονικά περιοδικά. Αναγορεύτηκε διδάκτορας του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας τον Ιούλιο του 2014.

Short CV

Dr Marianthi Papanagiotou was born in Larissa, in 1979 and graduated Platycampos General High School, in June 1996. She was admitted in Medical School of the University of Thessaly with a scholarship by the National Grants Foundation in September 1996 and graduated in October 2002.

During her residency period in Orthopaedics she worked as a General Surgery resident in Mamatsio General Hospital of Kozani and as a resident in Orhtopaedics in Bodosakio General Hospital in Ptolemaida. Since September 2010, she has been working as a resident in Ortopaedics, in the Orthopaedic and Traumatology Department of Larissa University Hospital.

She participated in several national and international conferences and was an author and co-author in scientific papers. She obtained her Doctorate Diploma in July 2014.

Νίκη Πιππίδου

Διερεύνηση της επίδρασης οπιοειδών φαρμάκων σε νευρώνες του ιππποκάμπου επίμυος

Περίληψη

Η χορήγηση οπιοειδών αποτελεί την πλέον αποτελεσματική θεραπεία για την αντιμετώπιση του ισχυρού πόνου. Παρ' όλα αυτά, η ανάπτυξη αντοχής στα οπιοειδή οδηγεί στην εξασθένιση της αναλγητικής τους δράσης. Πράγματι, μελέτες σε πειραματόζωα αλλά και κλινικές μελέτες έχουν δείξει στο παρελθόν ότι η οξεία ή χρόνια χορήγηση οπιοειδών οδηγεί σε ασυνήθη και παρατεταμένο πόνο. Αυτή η απόκριση στο φάρμακο έχει αποδοθεί στην εμφάνιση υπεραλγησίας η οποία διαρκεί πλέον της αναλγησίας.

Μια από τις εγκεφαλικές δομές που σχετίζονται με τον πόνο και επομένως αποτελεί υπόβαθρο μελέτης των οπιοειδών είναι ο ιππόκαμπος. Ο ιππόκαμπος εμπλέκεται στις διαδικασίες της μάθησης και της μνήμης και είναι σημαντικό σημείο δράσης των οπιοειδών, καθώς αποτελεί σημείο υψηλής έκφρασης οπιοειδών υποδοχέων. Μελέτες στο παρελθόν έχουν δείξει ότι ο ιππόκαμπος σχετίζεται με τη μνήμη του πόνου, καθώς λειτουργεί ως «ενισχυτής» των γεγονότων αποστροφής, αναπτύσσοντας τη λεγόμενη μάθηση αποφυγής. Η εμπλοκή του ιππποκάμπου στον πόνο φαίνεται και από μελέτες σε πειραματόζωα στα οποία χορήγηση λιδοκαΐνης απευθείας στον ιππόκαμπο οδηγεί σε μείωση της αντίληψης της έντασης του πόνου, ενώ, αντίθετα, περιφερειακά αλγογόνα ερεθίσματα προκαλούν διέγερση των πυραμιδικών νευρώνων της CA1 περιοχής του ιπποκάμπου. Στον άνθρωπο, η εκτομή του ιπποκάμπου μειώνει την αίσθηση του πόνου και ανακουφίζει από τον ανεξέλεγκτο πόνο.

Η οξεία έκθεση σε οπιοειδή οδηγεί σε μείωση της νευρωνικής δραστηριότητας στις περισσότερες περιοχές του εγκεφάλου, εκτός από τον ιππόκαμπο, όπου προκαλεί διέγερση των πυραμιδικών νευρώνων. Η ενεργοποίηση των μ-οπιοειδών υποδοχέων, οι οποίοι βρίσκονται σχεδόν αποκλειστικά σε GABAεργικούς νευρώνες, προκαλεί υπερπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης των ενδονευρώνων και μείωση της έκλυσης GABA από τις νευρικές τους απολήξεις. Επομένως, η διεγερτική δράση των οπιοειδών στον ιππόκαμπο οφείλεται σε μια έμμεση δράση «διπλής αναστολής». Σε προηγούμενη μελέτη μας δείξαμε ότι η *in vivo* χορήγηση του οπιοειδούς φαρμάκου φεντανύλη επιφέρει, 24 ώρες αργότερα, μείωση της GABAεργικής αναστολής και αύξηση της διεγερσιμότητας στην CA1 περιοχή του ραχιαίου ιπποκάμπου. Η επίδραση της φεντανύλης στον κοιλιακό ιππόκαμπο παραμένει άγνωστη και απετέλεσε το σκοπό της μελέτης αυτής.

Παλαιότερες μελέτες έχουν δείξει ότι ο ιππόκαμπος διαφοροποιείται κατά μήκος του επιμήκους άξονά του όσον αφορά στην ανατομία, βιοχημεία και τη λειτουργία του. Η κοιλιακή μοίρα επιδεικνύει μεγαλύτερη επιρρέπεια στις επιληπτοειδείς εκφορτίσεις και μικρότερη GABAεργική αναστολή σε σχέση με τη ραχιαία. Παραδόξως, η κοιλιακή μοίρα χαρακτηρίζεται από μεγαλύτερο πληθυσμό GABAεργικών νευρώνων σε σχέση με τη ραχιαία. Η αντίφαση αυτή μεταξύ λειτουργικών και ανατομικών ευρημάτων θα μπορούσε να διευκρινισθεί εάν ήταν δυνατή η λειτουργική και ανατομική μελέτη στο ίδιο εγκεφαλικό ιστοτεμάχιο. Η ανάπτυξη μιας τέτοιας μεθόδου απετέλεσε μια συμπληρωματική μελέτη η οποία μας επέτρεψε να μελετήσουμε όχι μόνο τις λειτουργικές, αλλά και τις ιστολογικές επιδράσεις της φεντανύλης στον ίδιο ιστό.

Η συγκεκριμένη μελέτη σχεδιάσθηκε για να εξετάσει την επίδραση της *in vivo* χορήγησης φεντανύλης στην ανασταλτική διαβίβαση και διεγερσιμότητα της CA1 περιοχής της κοιλιακής μοίρας του ιπποκάμπου ενισχύοντας τις ήδη υπάρχουσες μελέτες διαφοροποίησης του ιπποκάμπου κατά μήκος του επιμήκους άξονά του. Παράλληλα, αναπτύχθηκε μέθοδος για την αξιολόγηση των επιδράσεων του φαρμάκου στη λειτουργική και ανατομική αναστολή στο ίδιο ιστοτεμάχιο.

Εν συντομία, για τη μελέτη χρησιμοποιήθηκε η ακόλουθη μεθοδολογία:

Πειραματόζωα: Χρησιμοποιήθηκαν αρσενικοί, νεαροί, λευκοί αρουραίοι Wistar (250-300 gr). Φεντανύλη χορηγήθηκε υποδορίως στην αυχενική χώρα (4x80μg/kg, μία/15΄). Ως ομάδα ελέγχου χρησιμοποιήθηκαν πειραματόζωα στα οποία χορηγήθηκε εφάπαξ φυσιολογικός ορός υποδορίως.

Ηλεκτροφυσιολογία: Μετά το πέρας 24 ωρών από την έγχυση, τα πειραματόζωα αναισθητοποιήθηκαν με αιθέρα και θυσιάσθηκαν. Πραγματοποιήθηκε άμεσα διάνοιξη του κρανίου και αφαίρεση του εγκεφάλου με συνεχή διαβροχή του με κρύο (4°C) τεχνητό εγκεφαλονωτιαίο υγρό ΤΕΝΥ της ακόλουθης σύστασης (σε mM): 124 NaCl; 4 KCl; 2 $MgSO_4$; 2 $CaCl_2$; 1,25 NaH_2PO_4; 26 $NaHCO_3$; 10 γλυκόζη, pH 7,4, με συνεχή οξυγόνωση με μείγμα αερίου σύστασης 95% O2-5% CO2. Αφού παρασκευάσθηκε ο ιππόκαμπος από κάθε ημισφαίριο, ελήφθησαν

φέτες ιπποκάμπου, πάχους 500 μm, με μικροτόμο τύπου McIlwain. Οι τομές μεταφέρθηκαν σε λουτρό καταγραφής όπου παρέμειναν εμβαπτισμένες σε οξυγονούμενο ΤΕΝΥ στους 33°C για τουλάχιστον 1,5h πριν την καταγραφή. Ενδοκυττάριες καταγραφές πραγματοποιήθηκαν από πυραμιδικούς νευρώνες με γυάλινα μικροηλεκτρόδια. Συναπτικά δυναμικά προκλήθηκαν με διέγερση των παράπλευρων ινών του Schaffer. Η πρόσληψη και η ανάλυση των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με ενισχυτή τύπου Axoclamp HS-2A και λογισμικό pCLAMP 6.05 (Axon Instruments).

Μονιμοποίηση ιστού: Ο εγκεφαλικός ιστός μονιμοποιήθηκε για 12 ώρες σε 4% PFA/0,1M PB (pH 7,4) με δύο τρόπους: (Α) μονιμοποίηση ολόκληρου του εγκεφάλου με ενδοκαρδιακή έγχυση μονιμοποιητικού διαλύματος και (Β) με εμβάπτιση ιστοτεμαχίων πάχους 500 μm σε μονιμοποιητικό διάλυμα είτε (i) άμεσα μετά την παρασκευή τους, είτε μετά από επώαση σε οξυγονούμενο ΤΕΝΥ για (ii) 1h, ή (iii) για όλη τη διάρκεια της ηλεκτροφυσιολογικής καταγραφής. Μετά τη μονιμοποίηση, ο ιστός αφυδατώθηκε σε διαδοχικά διαλύματα αυξανόμενης συγκέντρωσης αλκοόλης, κατόπιν σε ξυλένιο και τέλος σκηνώθηκε σε παραφίνη. Από τα μπλοκ παραφίνης ελήφθησαν τομές πάχους 4μm οι οποίες παρέμειναν σε περιβάλλον δωματίου για 12 ώρες για να στεγνώσουν.

Ανοσοϊστοχημεία: Οι τομές αποπαραφινώθηκαν και ενυδατώθηκαν. Η αποκάλυψη του αντιγόνου πραγματοποιήθηκε με θέρμανση των τομών, εμβαπτισμένων σε ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού οξέος (pH 6), σε φούρνο μικροκυμάτων. Ακολούθησε επώαση σε 10% φυσιολογικό ορό αίγας και κατόπιν σε πολυκλωνικό αντίσωμα κουνελιού έναντι του GABA (1:500). Μετά από έκπλυση σε 0,1 MPBS οι τομές επωάσθηκαν σε δευτερεύον αντίσωμα IgG (H+L) (1:200) συνδεδεμένο με φλουορεσκεΐνη.

Ιστολογία: Τομές πάχους 4 μm, παρακείμενες σε εκείνες που χρησιμοποιήθηκαν για ανοσοϊστοχημεία, χρώσθηκαν με εωσίνη - αιματοξυλίνη για ιστολογική αξιολόγηση.

Μικροσκοπία και ανάλυση εικόνας: για τη μικροσκοπική εξέταση των τομών χρησιμοποιήθηκε μικροσκόπιο τύπου Zeiss AxioImager Z1. Εικόνες ελήφθησαν με κάμερα τύπου AxioCam CCD με τη χρήση του λογισμικού AxioVision, 4.7.1 release, (Carl Zeiss, Jena) και αναλύθηκαν με το λογισμικό Image J. Προκειμένου να ληφθούν εικόνες με τη μέγιστη δυνατή ανάλυση, οι τομές ανακατασκευάσθηκαν από φωτογραφίες που ελήφθησαν σε επιμέρους περιοχές τους, οι ανακατασκευασμένες φωτογραφίες εκτυπώθηκαν και οι GABAεργικοί νευρώνες σημειώθηκαν με χρήση του μικροσκοπίου. Ακολούθησε συγκριτική μελέτη του πλήθους των GABAεργικών νευρώνων μεταξύ: (i) τομών του ιπποκάμπου που προέκυψαν μετά από χορήγηση φυσιολογικού ορού ή φεντανύλης (ii) ραχιαίου και κοιλιακού ιππόκαμπου (iii) διαφορετικών περιοχών του ιπποκάμπου (CA1-CA3-Οδοντωτή έλικα-υπόθεμα) και (iv) τομών που προήλθαν από το αριστερό ή το δεξί ημισφαίριο.

Από τη μελέτη προέκυψε ότι ο ανοσοϊστοχημικός εντοπισμός του GABA με εμβάπτιση τομών του εγκεφάλου έχει παρόμοια αποτελέσματα με αυτά που προκύπτουν μετά από ενδοκαρδιακή μονιμοποίηση ολόκληρου του πειραματόζωου (φωτογραφία 1). Επομένως, η μελέτη της GABAεργικής αναστολής σε τομές του εγκεφάλου μπορεί να συσχετισθεί άμεσα με τον ανοσοϊστοχημικό εντοπισμό του GABA στην ίδια τομή (φωτογραφία 2). Έχοντας εγκαταστήσει αυτή τη μεθοδολογία στο Εργαστήριο Φαρμακολογίας μπορέσαμε να δείξουμε ότι η *in vivo* χορήγηση του οπιοειδούς φεντανύλη προκαλεί, 24 ώρες αργότερα, μείωση της GABAεργικής λειτουργικής αναστολής και της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης του GABA (δημοσίευση υπό προετοιμασία). Μολονότι οι μηχανισμοί, τόσο σε επίπεδο κυττάρου όσο και σε επίπεδο νευρωνικού δικτύου, οι οποίοι εμπλέκονται στις πλαστικές αλλαγές που επέρχονται με την χορήγηση οπιοειδών παραμένουν αδιευκρίνιστοι, η εργασία αυτή προσφέρει ένα σημαντικό εργαλείο για μελλοντική έρευνα στο πεδίο αυτό.

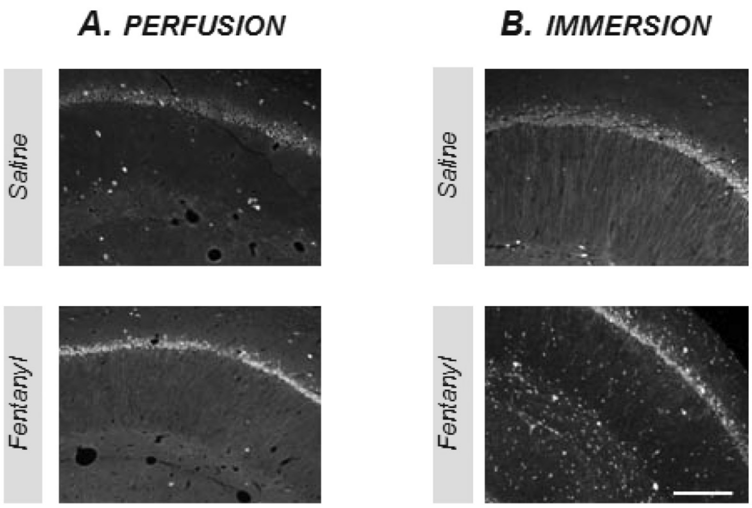
Λέξεις κλειδιά: φεντανύλη, GABA, ιππόκαμπος, κοιλιακός, ηλεκτροφυσιολογία, ανοσοϊστοχημεία

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Ιωάννης Παρναβέλας, Καθηγητής Νευροανατομίας, Τμήμα Ανατομίας και Αναπτυξιακής Βιολογίας, Πανεπιστημιακό Κολλέγιο του Λονδίνου (UCL), Ηνωμένο Βασίλειο

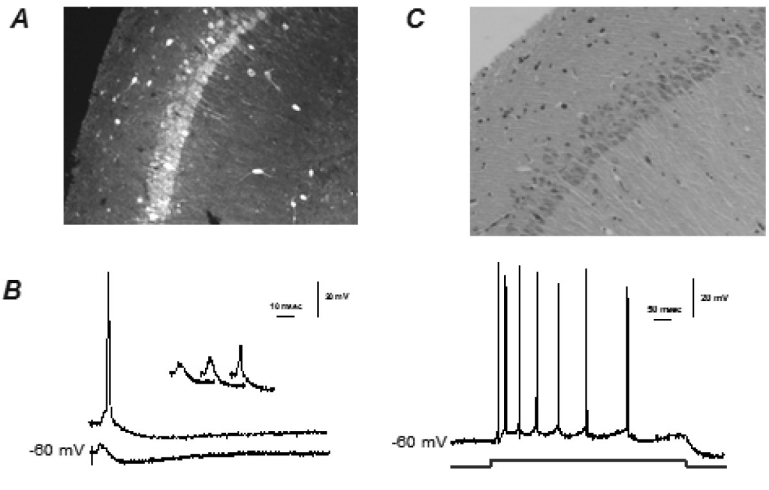
Γεώργιος Κ. Κωστόπουλος, Καθηγητής Φυσιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Πατρών

Ευτυχία Κ. Ασπροδίνη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Φαρμακολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας



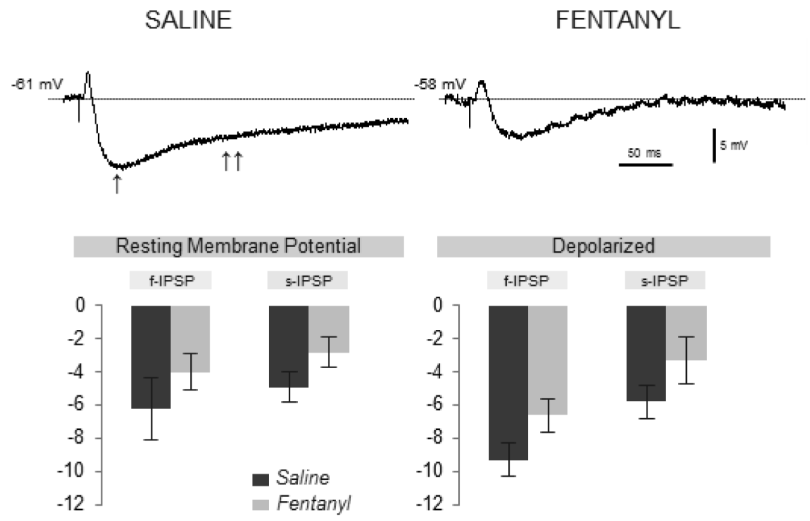
Φωτογραφία 1: *Ανοσοϊστοχημικός εντοπισμός του GABA στην περιοχή CA1 του ιπποκάμπου σε πειραματόζωα στα οποία χορηγήθηκε φυσιολογικός ορός ή φεντανύλη χρησιμοποιώντας διαφορετικές μεθόδους μονιμοποίησης (αναπαραχθείσα από το 8ο Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Επιληψίας, Θεσσαλονίκη, 2013).*

Figure 1: *GABA immunolocalization in the CA1 area of the hippocampus in saline and fentanyl treated animals using different fixation methods (reproduced from 8th Meeting of the Hellenic Society of Epilepsy, Thessaloniki, 2013)*



Φωτογραφία 2: *Μορφολογικοί και λειτουργικοί δείκτες βιωσιμότητας εγκεφαλικών τομών (αναπαραχθείσα από το 26ο Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας για τις Νευροεπιστήμες σε κοινή συνάντηση με το FP7 REGPOT NEUROSIGN, Αθήνα, 2013).*

Figure 2: *Morphological and functional indicators of brain slice viability (reproduced from 26th Meeting of the Hellenic Society for Neurosciences Jointly with FP7 REGPOT NEUROSIGN, Athens, 2013)*



Φωτογραφία 3: *Μείωση της συναπτικής αναστολής σε πυραμιδικούς νευρώνες της περιοχής CA1 24 ώρες μετά από έκθεση του ιστού στη φεντανύλη. (αναπαραχθείσα από το 8ο Συνέδριο της Εταιρείας Βασικής και Κλινικής Φαρμακολογίας με τη συμμετοχή της Βρετανικής Εταιρείας Φαρμακολογίας, Αθήνα, 2014).*

Figure 3: *Evoked inhibition of CA1 pyramidal neurons is reduced 24h after acute exposure to fentanyl (reproduced from 8th Congress of the Society for Basic and Clinical Pharmacology with the participation of the British Pharmacological Society, Athens, 2014).*

Niki Pippidou

Effects of in vivo opioid treatment in rat hippocampal neurons

Summary

Opioid treatment is the most effective therapy for alleviating moderate to severe pain. However, earlier studies have shown that the analgesic effects of opioids subside due to the development of tolerance. Indeed, both animal and clinical studies have shown that abnormal and prolonged pain states may follow acute or chronic opioid treatment; these abnormal pain states have been attributed to long-lasting opioid-mediated hyperalgesic responses that outlast opiate receptor activation.

The hippocampus, a brain structure involved in learning and memory, is an important site of opioid action as it expresses a high density of opioid receptors. It has been implicated in the formation of pain memory, serving as an aversive event amplifier and the development of avoidance learning.. In experimental animals, hippocampal exposure to lidocaine reduces pain scores, whereas, peripheral nociceptive stimulation excites pyramidal neurons of the CA1 region. In humans, hippocampalectomy impairs pain perception and relieves from intractable pain.

Acute exposure of brain tissue to opioids has been shown to inhibit neural activity except in the hippocampus where the net effect is excitation of pyramidal neurons. *In vitro* activation of m-opioid receptors (MOPrs), located exclusively on GABAergic interneurons, hyperpolarizes inhibitory interneurons and inhibits release of GABA from interneuronal terminals. Therefore, the excitatory response to opioids is considered to be an indirect effect, due to a disinhibitory process. We have previously shown that in vivo administration of fentanyl reduces GABAergic inhibition and increases excitability in the CA1 area of the dorsal hippocampus. However, the effects of opioid drugs such as fentanyl in the ventral hippocampus remain largely unknown and it has been the purpose of this study.

The differentiation between the dorsal and ventral hippocampus is long known. Indeed, the hippocampal formation is differentiated along its longitu-

dinal axis in terms of its anatomy, biochemistry and function. Electrophysiological evidence, obtained from in vitro slice preparations, shows that the ventral hippocampus, compared to the dorsal, exhibits enhanced susceptibility to epileptiform discharges and reduced GABAergic synaptic transmission. Paradoxically, the ventral hippocampus exhibits higher GABAergic neuronal densities and GABA concentration compared to the dorsal hippocampus. This controversy between functional and anatomical data regarding the dorsal and ventral parts of the hippocampus could be elucidated if one could employ a method to study both function and anatomy within the same tissue. The development of such a method comprised a complementary project that allowed us to study both the functional and the histological effects of drugs such as fentanyl, administered either *in vivo* or *in vitro*, on brain tissue.

This study was undertaken to examine the effect of *in vivo* fentanyl treatment on the inhibitory transmission and excitability of CA1 neurons of the ventral hippocampus, further elucidating the functional differentiation between the two hippocampal poles. Concurrently, a method was developed that allowed us to evaluate the effects of fentanyl on both functional GABAergic inhibition and GABA immunoreactivity within the same dorsal/ventral hippocampal slices.

Briefly, the methodology employed in this study consisted of the following steps:

Animal treatment: Male Wistar rats weighing 250-300gr were treated either with saline or fentanyl as follows: 4 injections, 80 μg/kg per injection, *s.c.*, every 15 min, resulting in total dose 320 mg/kg.

Electrophysiology: One day after saline or fentanyl treatment, animals were anesthetized and sacrificed. The brain was rapidly excised and placed into ice-cold, oxygenated (95% O2/5% CO2) artificial cerebrospinal fluid (ACSF) containing (in mM): 124 NaCl; 4 KCl; 2 $MgSO_4$; 2 $CaCl_2$; 1.25 NaH_2PO_4; 26 $NaHCO_3$; 10 glucose at pH 7.4. Transverse slices, 500 μm thick, were cut using a McIlwain tissue chopper and transferred to an interface-type recording chamber where they were maintained at a constant temperature of 33°C for at least 1.5 h before recording and were continuously superfused with oxygenated (with 95% O_2/5% CO_2) ACSF. Intracellular current clamp recordings were obtained from hippocampal neurons using borosilicate glass microelectrodes filled with potassium acetate (resistance 70–90 MΩ). Synaptic responses were elicited by Schaffer collateral stimulation. On- and off-line data acquisition and analysis were accomplished using an Axolab 1100 interface (Axon Instruments) between an Axoclamp HS-2A preamplifier and a personal computer utilizing pCLAMP 6.05 software programs (Axon Instruments).

Tissue fixation: Brain tissue was fixed using a 4% paraformaldehyde phosphate buffer (0.1 M, pH 7.4) by (A) whole animal transcardial animal perfusion and (B) hippocampal slice (500μm) immersion overnight either (i) immediately after brain excision, or after incubation of the tissue in oxygenated ACSF for (ii) 1h, or (iii) for the extent of the electrophysiological recording. After fixation, the tissue was dehydrated in an ascending ethanol concentration solution series, cleared in xylene and embedded in paraffin. Four-micrometer sections from the paraffin blocks were prepared and dried overnight.

Immunofluorescence: Following deparaffinization, sections were rehydrated. Antigen unmasking was achieved by heating sections in a 0.01 M citrate buffer (pH 6) in a microwave oven. Slides were treated with a blocking buffer saline containing 10% normal goat serum and incubated overnight with primary polyclonal rabbit antibody against GABA (1:500). Subsequently, the sections were washed in 0.1 M PBS and incubated with fluoroscein-conjugated secondary goat anti-rabbit IgG (H+L) (1:200).

Histochemistry: Four-micrometer sections, adjacent to those used for immunohistochemistry, were routinely processed for histological examination with Hematoxylin and Eosin (H&E) stain.

Microscopy & Image analysis: Sections were examined under a Zeiss AxioImager Z1 microscope. Images were recorded using a b/w AxioCam CCD camera. The complete setup was controlled by AxioVision software, 4.7.1 release, (Carl Zeiss, Jena). In order to maximize the resolution of acquired images, different areas of the hippocampus were photographed followed by reconstruction into the whole hippocampal section. GABAergic neurons were marked, under microscopy, on printouts of reconstructed images and subsequently counted. Comparisons of GABAergic neurons were made between: (i) hippocampal slices of animals treated either with saline or fentanyl (ii) dorsal and ventral hippocampus (iii) different hippocampal areas (CA1-CA3-Dentage Gyrus-Subiculum) and (iv) slices obtained from either left or right hemisphere.

Our study has shown that GABAergic immunohistochemical localization by immersion fixation of brain slices offers comparable results with those obtained from brain tissue fixed following whole animal perfusion (Figure 1). Therefore, functional GABAergic inhibition studied in brain slices can be directly correlated to GABA immunohistochemical localization within the same brain slices (Figure 2). Having established this methodology, we have been able to show reduction of GABAergic inhibition 24h following fentanyl in vivo treatment in ventral hippocampus (Figure 3), accompanied by altered GABAergic immunohistochemical localization (manuscript in preparation). Although the cellular and network mechanisms involved in plastic alterations following opioid treatment are yet to be elucidated, this work offers a valuable tool for such future research.

Key words: fentanyl, GABA, hippocampus, ventral, electrophysiology, immunocytochemistry

Three - Member Supervisory Committee

John Parnavelas, Professor of Neuroanatomy, Department of Anatomy and Developmental Biology, University College London (UCL), United Kingdom

George K. Kostopoulos, Professor of Physiology, Medical School, University of Patras, Greece

Eftihia K. Asprodini, Associate Professor of Pharmacology, Department of Medicine, University of Thessaly, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the program "Heraclitus II"

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων-βιβλία περιλήψεων Publications in conference proceedings- books of abstracts

1. **Pippidou, N.**, Kouvaras, E., Sinani, O., Papageorgiou, I.D., Kantikou, A., Koukoulis, G., & Asprodini, E. (2013). GABA immunohistochemistry in the rat hippocampus-comparison between perfusion and immersion fixation. *26th Meeting of the Hellenic Society for Neurosciences Jointly with FP7 REGPOT NEUROSIGN* (pp. 88). Athens: Eugenides Foundation.

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες Presentations in scientific conferences and meetings-workshops

1. Kouvaras, E., **Pippidou, N.**, Kantikou, A., Koukoulis, G., & Asprodini, E.K. (2014, May). *In vitro slice preparation - relating function to labelling*. Paper presented at 8th Congress of the Society for Basic and Clinical Pharmacology with the participation of the British Pharmacological Society, The Biomedical Research Foundation of the Academy of Athens (BRFAA), Athens, Greece.
2. Kouvaras, E., **Pippidou, N.**, Kantikou, A., Koukoulis, G., & Asprodini, E.K. (2014, May). *A single in vivo exposure to fentanyl induces long-lasting reduction of GABAergic inhibition in the CA1 area of the ventral hippocampus*. Paper presented at 8th Congress of the Society for Basic and Clinical Pharmacology with the participation of the British Pharmacological Society, The Biomedical Research Foundation of the Academy of Athens (BRFAA), Athens, Greece.
3. **Πιππίδου, Ν.**, Γιαννακοπούλου, Α., Δωρή, Ι., Κουβαράς, Ε., Κουκούλης, Γ., & Ασπροδίνη, Ε. (2013, Οκτώβριος). *Επίδραση της φεντανύλης στην ανοσοϊστοχημική έκφραση του GABA στον ιππόκαμπο – συγκριτική μελέτη διαφορετικών μεθόδων μονιμοποίησης*. Αναρτημένη ανακοίνωση στο 8ο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Επιληψίας, Ξενοδοχείο Electra Palace, Θεσσαλονίκη.

   Pippidou, N., Giannakopoulou, A., Dori, I., Kouvaras, E., Koukoulis, G., & Asprodini, E. (2013, October). *Effect of fentanyl on the immunocytochemical expression of GABA in the hippocampus-comparative study between different fixation methods*. Poster presented at 8th Meeting of the Hellenic Society of Epilepsy, Thessaloniki, Greece.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Νίκη Πιππίδου** (MD, MSc) γεννήθηκε στη Θεσσαλονίκη το 1979. Είναι παντρεμένη και μητέρα ενός παιδιού.

Αποφοίτησε από την Ιατρική Σχολή των Ιωαννίνων το Φεβρουάριο του 2006. Είναι κάτοχος Μεταπτυχιακού Διπλώματος Σπουδών του Τμήματος της Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (Κλινικές Εφαρμογές Μοριακής Ιατρικής, Ιούλιος του 2011). Είναι Διδάκτορας στο Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Εκτός από Ελληνικά, ομιλεί άπταιστα Αγγλικά και λίγα Γερμανικά.

Ολοκλήρωσε υπηρεσία υπαίθρου, ως ιατρός, στο Κέντρο Υγείας Αμυνταίου, από τον Αύγουστο του 2006 έως και το Μάιο του 2008. Στη συνέχεια, εργάστηκε ως ιατρός στον ιδιωτικό τομέα στη Θεσσαλονίκη. Από τον Αύγουστο του 2011, υπηρετεί ως ειδικευόμενη ψυχίατρος της Β' Πανεπιστημιακής Ψυχιατρικής Κλινικής Θεσσαλονίκης, στο Ψυχιατρικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης και στο Κέντρο Ψυχικής Υγείας Κεντρικού Τομέα Θεσσαλονίκης.

Το ερευνητικό πεδίο ενδιαφέροντός της είναι η δράση των οπιοειδών στον ιππόκαμπο, με ιστολογικές και ηλεκτροφυσιολογικές μελέτες σε πειραματόζωα (αρουραίοι). Η έρευνά της πραγματοποιείται στο Εργαστήριο Φαρμακολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, ενώ έχει συνεργαστεί με το Εργαστήριο Ανατομικής - Εμβρυολογίας του Τμήματος Κτηνιατρικής του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης.

Short CV

Dr. Niki Pippidou (MD, MSc) was born in Thessaloniki in 1979. She is married and mother of one child.

She graduated from the Medical School of the University of Ioannina, on February 2006. She received her Master's Degree from the Medical Department of the University of Thessaly (Clinical Applications of Molecular Medicine), on July 2011. She holds a Ph.D. at the Department of Medicine of the University of Thessaly since December 2010. Apart from Greek, she speaks English and also some German.

Dr. Pippidou served her rural service as a doctor, at Amyntaion Health Center, from August 2006 to May 2008 and then worked as a doctor in the private sector in Thessaloniki. Since August 2011, she is employed as a resident psychiatrist for the Second University Psychiatric Clinic of Thessaloniki, at the Psychiatric Hospital of Thessaloniki and Thessaloniki's Central Sector Community Mental Health Center.

Dr. Pippidou's field of interest focuses on the effect of opioids in the hippocampal formation of experimental animals using histological and electrophysiological techniques. Her research is carried out at the Department of Pharmacology in the Medical School of the University of Thessaly. She has collaborated with the Laboratory of Anatomy – Embryology of the Veterinary Department at the Aristotle University of Thessaloniki.

Τμήμα Κτηνιατρικής
Faculty of Veterinary Science

Ελισάβετ Νικολέτα Αγγελίδου

Μελέτη των παραγόντων που επηρεάζουν τη διασπορά της παραφυματίωσης σε ελληνικές εκτροφές μικρών μηρυκαστικών

Περίληψη

Κεφάλαιο 1- Εισαγωγή

Στο εισαγωγικό κεφάλαιο της διατριβής, αρχικά παρουσιάζουμε πτυχές της κατανομής, της ανοσολογίας και της παθογένειας της λοίμωξης των μηρυκαστικών από το *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP). Ο αναγνώστης συνειδητοποιεί ότι η παρατεταμένη λανθάνουσα κατάσταση και η μεγάλη περίοδος επώασης αποτρέπουν την έγκαιρη ορολογική διάγνωση στα αρχικά στάδια της λοίμωξης από το MAP. Στη συνέχεια, παρουσιάζονται ορισμένα από τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα των μεθόδων ανάλυσης της καμπύλης ROC, χωρίς διαγνωστική δοκιμή αναφοράς, με μεικτά μοντέλα που επιλύονται κατά Bayes. Ο αναγνώστης αντιλαμβάνεται ότι η μεθοδολογία αυτή είναι η κατάλληλη για την εκτίμηση της διαγνωστικής αξιοπιστίας των ορολογικών διαγνωστικών δοκιμών, που ανιχνεύουν την λοίμωξη από MAP στα γαλακτοπαραγωγά πρόβατα και στις αίγες.

Κεφάλαιο 2- Εκτίμηση κατά Bayes της διαγνωστικής αξιοπιστίας μιας εμπορικής έμμεσης ELISA ενάντι του Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis στους ορούς αίματος και γάλακτος εγχώριων αιγών σε διαφορετικά στάδια της γαλακτοπαραγωγικής περιόδου.

Ο σκοπός του κεφαλαίου αυτού της διατριβής είναι η παρουσίαση της μελέτης της εκτίμησης της διαγνωστικής αξιοπιστίας μιας εμπορικά διαθέσιμης έμμεσης (IDEXX Pourquier, Montpellier, France) ELISA που ανιχνεύει αντισώματα κατά του MAP, σε δείγματα ορών αίματος και γάλακτος ελληνικών αιγών για διαφορετικά στάδια της γαλακτοπαραγωγικής περιόδου.

Από ένα κοπάδι αιγών γαλακτοπαραγωγικής κατεύθυνσης συλλέχθηκαν συνολικά 1268 δείγματα ζευγών αίματος και γάλακτος ή πρωτογάλακτος. Τα ζεύγη δειγμάτων συλλέχθηκαν από κάθε αίγα του κοπαδιού τέσσερεις επαναλαμβανόμενες φορές, ξεκινώντας κατά τη γαλουχία και συνεχίζοντας, καλύπτοντας την αρχή, το μέσο και το τέλος της γαλακτοπαραγωγικής περιόδου. Η ανάλυση έγινε με τη χρήση μεικτών μοντέλων, που επιλύθηκαν κατά Bayes, τα οποία επέτρεπαν την εκτίμηση των αποτελεσμάτων σε συνεχή κλίμακα. Με τα μοντέλα προβλέφθηκαν οι κατανομές των αποτελεσμάτων της ELISA τόσο στους ορούς αίματος όσο και στους ορούς γάλακτος, από υγιείς και μολυσμένες με MAP αίγες, για τα τέσσερα στάδια της γαλακτοπαραγωγικής περιόδου.

Τόσο στους ορούς αίματος όσο και στους ορούς γάλακτος, σε κάθε στάδιο της γαλακτοπαραγωγικής περιόδου, η ELISA εκτιμήθηκε ως διαγνωστική δοκιμή μέτριας διακριτικής ικανότητας, όπως αυτό προέκυψε από το εμβαδόν της καμπύλης ROC. Για κάθε δείγμα, η μικρότερη αλληλοεπικάλυψη των κατανομών των υγιών και των μολυσμένων αιγών με MAP βρέθηκε στο τελικό στάδιο της περιόδου. Σε αυτό το στάδιο, η διάμεση τιμή του εμβαδού κάτω από την καμπύλη ROC της ELISA βρέθηκε να είναι 0,89 με 95% διάστημα αξιοπιστίας (0,70-0,98) και 0,92 (0,74-0.99) στους ορούς γάλακτος και αίματος, αντίστοιχα. Και οι δύο διαγνωστικές δοκιμές ELISA στους ορούς αίματος και γάλακτος για τα διαφορετικά στάδια της γαλακτοπαραγωγής είχαν συγκριτικά παρόμοιες ευαισθησίες και ειδικότητες. Επίσης, φάνηκε ότι μειώνοντας το κρίσιμο σημείο διάκρισης αυξήθηκε η ευαισθησία χωρίς σοβαρές απώλειες σε ειδικότητα.

Εν κατακλείδι, η ELISA στους ορούς γάλακτος είναι εξίσου αξιόπιστη με την ELISA στους ορούς αίματος, ειδικά κατά το τελευταίο στάδιο της γαλακτοπαραγωγής. Επομένως, θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως διαγνωστικό εργαλείο εκλογής, ειδικά κατά την εφαρμογή προγραμμάτων ελέγχου της λοίμωξης από MAP που απαιτούν επαναλαμβανόμενες δειγματοληψίες, καθώς το γάλα συλλέγεται ευκολότερα σε σχέση με το αίμα, με μη επεμβατικό τρόπο και γρήγορα. Τέλος, δεν υπάρχει ανάγκη για εκτίμηση ειδικού σταδίου της γαλακτοπαραγωγής κρίσιμου σημείου διάκρισης, καθώς το ποσοστό προσβολής παρέμενε σταθερό.

Κεφάλαιο 3- Εκτίμηση κατά Bayes μιας εμπορικά διαθέσιμης ELISA σε δείγματα γάλακτος και αίματος για τα διαφορετικά στάδια της γαλακτοπαραγωγικής περιόδου προβάτων

Ο σκοπός αυτής της μελέτης που παρουσιάζεται στο κεφάλαιο αυτό ήταν η εκτίμηση της διαγνωστικής αξιοπιστίας μιας εμπορικά διαθέσιμης ELISA

(IDEXX Pourquier, Montpellier, France) σε δείγματα ορών αίματος και γάλακτος. Συλλέχτηκαν συνολικά 854 ζεύγη δειγμάτων αίματος και γάλακτος από τις προβατίνες ενός εγχώριου κοπαδιού προβάτων, με σκοπό την εκτίμηση μιας εμπορικής ELISA έναντι του *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* για κάθε στάδιο της γαλακτοπαραγωγής. Εφαρμόστηκαν μεικτά μοντέλα κατά Bayes για να προβλεφθούν οι κατανομές των αποτελεσμάτων της ELISA στις υγιείς και στις μολυσμένες από MAP προβατίνες. Τόσο η ELISA στο αίμα όσο και στο γάλα είχαν χαμηλή έως μέτρια συνολική διακριτική ικανότητα, όπως αυτή μετρήθηκε με την περιοχή του εμβαδού κάτω από την καμπύλη ROC και είχαν στατιστικά σημαντικά όμοιες ευαισθησίες και ειδικότητες στα προτεινόμενα από την εταιρεία κρίσιμα σημεία διάκρισης. Μειώνοντας το κρίσιμο σημείο διάκρισης αυξήθηκαν οι ευαισθησίες χωρίς σημαντική μείωση στις ειδικότητες.

Κεφάλαιο 4- Παράγοντες επικινδυνότητας σε επίπεδο κοπαδιού που συσχετίζονται με την πιθανότητα εμφάνισης λοίμωξης από το Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis (MAP) σε ελληνικά κοπάδια αιγών γαλακτοπαραγωγής.

Ο σκοπός της έρευνας που παρουσιάζεται στο κεφάλαιο αυτό ήταν η διεξαγωγή μιας μελέτης χρονικού σημείου, με σκοπό την ανίχνευση παραγόντων επικινδυνότητας σε επίπεδο κοπαδιού, που αυξάνουν την πιθανότητα εμφάνισης λοίμωξης από το *Mycobacterium avium,* subsp. *paratuberculosis* (MAP) στα εγχώρια κοπάδια αιγών γαλακτοπαραγωγικής κατεύθυνσης.

Από το Μάιο έως το Σεπτέμβριο 2012, συνολικά συλλέχθηκαν 1599 δείγματα γάλακτος από αίγες 58 τυχαία επιλεγμένων κοπαδιών στο τελικό στάδιο της γαλακτοπαραγωγικής τους περιόδου. Τα δείγματα που συλλέχθηκαν εξετάστηκαν με μια εμπορική ELISA (Idexx Pourquier, Montpellier, France) και τα αποτελέσματα αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας το κρίσιμο σημείο διάκρισης που βελτιστοποιούσε την ακρίβεια της διαγνωστικής δοκιμής. Για την ανάλυση των δεδομένων, χρησιμοποιήθηκε ένα μοντέλο κατά Bayes, διορθώνοντας για τη μη τέλεια ευαισθησία και ειδικότητα της ELISA στο γάλα. Το επίπεδο του κοπαδιού θεωρήθηκε τυχαία επίδραση.

Οι αίγες των κοπαδιών που χρησιμοποιούν κοινούς βοσκοτόπους και ποτίστρες με άλλα κοπάδια είχαν 4,6 φορές [95% Διάστημα Αξιοπιστίας (ΔΑ):1,5-17,4] μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίσουν λοίμωξη από MAP σε σχέση με τις αίγες των κοπαδιών που δεν ήρθαν σε επαφή με άλλα κοπάδια. Οι αίγες των κοπαδιών που ποτίζονταν από επιφανειακές πηγές νερού είχαν 3,7 (1,4-10,4) φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να είναι μολυσμένες σε σχέση με τις αίγες των κοπαδιών στις οποίες η παροχή του νερού προερχόταν από μη επιφανειακές πηγές (ύδρευση, γεώτρηση). Όταν τα ερίφια των αιγών των κοπαδιών σταβλίζονταν για περισσότερες από 10 ώρες με τις μητέρες τους, αυτές είχαν 2,6 (1,1-6,4) φορές μεγαλύτερη πιθανότητα εμφάνισης λοίμωξης από MAP σε σχέση με τις αίγες που τα ερίφιά τους σταβλίζονταν λιγότερο από 10 ώρες την ημέρα με αυτές. Τέλος, διαπιστώθηκε ότι οι αίγες των κοπαδιών, στις οποίες χορηγούνταν τα ανθελμινθικά σκευάσματα χωρίς κυκλικές εναλλαγές είχαν 2,2 (1,0-4,6) φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να είναι μολυσμένες από MAP, σε σχέση με τις αίγες των κοπαδιών που έκαναν εναλλαγές των ανθελμινθικών ουσιών. Τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σε μελλοντικό πρόγραμμα ελέγχου της παραφυματίωσης των αιγών στην Ελλάδα.

Κεφάλαιο 5- Συζήτηση

Σε αυτό το κεφάλαιο της διατριβής, συνοψίζονται τα αποτελέσματα της έρευνας και αναπτύσσονται σε σχέση με την υπάρχουσα γνώση και τις μελλοντικές προοπτικές έρευνας.

Λέξεις κλειδιά: Παραφυματίωση, Μοντέλο λανθάνουσας κατάστασης με επίλυση κατά Μπέυς, παραφυματίωση, ELISA στο αίμα και στο γάλα, πρόβατα και αίγες γαλακτοπαραγωγικής κατεύθυνσης, παράγοντες επικινδυνότητας

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Λεωνίδας Λεοντίδης, Καθηγητής, Κτηνιατρική Επιδημιολογία, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιου Θεσσαλίας

Χαράλαμπος Μπιλλίνης, Καθηγητής, Κτηνιατρική Ιολογία, Τμήμα Κτηνιατρικής Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Ίαν Γκάρντερ, Καθηγητής, Κτηνιατρική Επιδημιολογία, Canada Excellence Research Chair in Aquatic Epidemiology, University of Prince Edward Island

Elisavet Nikoleta Angelidou

An epidemiologic appraisal of milk testing for diagnosis and control of paratuberculosis in Greek dairy sheep and goats

Summary

Chapter 1- Introduction

In the introductory chapter of this thesis, firstly, we present aspects of the distribution, immunology and pathogenesis of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) infection of ruminants. The reader should realize that the prolonged latent stage and incubation period hamper the early serological diagnosis of MAP infection. Then, some of the strengths and limitations of validation of tests with non gold standard methodology and Receiver Operating Characteristic curve analysis with Bayesian Mixture Models are presented. The reader should realize that the methodology is more powerful and well suited for evaluation of the serological diagnosis of MAP infection in dairy sheep and goats.

Chapter 2- Bayesian validation of a serum and milk ELISA for antibodies against Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis in Greek dairy goats across lactation.

The aim of the research presented in this chapter was to validate a commercial (IDEXX Pourquier, Montpellier, France) serum and milk indirect ELISA that detects antibodies against the MAP across lactation, in Greek dairy goats.

Each lactating goat was sampled at four consecutive times starting from kidding and covering the early, mid and late lactation stage. A total of 1268 paired milk/colostrum and blood samples were collected during the seven-month-long lactation period. Bayesian mixture models, which allow for the continuous interpretation of test results, were used to derive the distribution of the serum- and milk-ELISA response for the healthy and the MAP-infected individuals at each lactation stage. Both serum- and milk-ELISA, in all lactation stages, were of average and similar overall discriminatory ability as measured by the area under the curve. For each test, the lowest overlap between the distribution of the healthy and the MAP infected does was at late lactation. At this stage, the area under the curve (AUC) was 0.89, 95% credible interval (0.70; 0.98) and 0.92 (0.74; 0.99) for the milk- and the serum-ELISA, respectively. Both tests had comparable sensitivities and specificities at the recommended cut-offs, across lactation. Lowering the cutoffs led to an increase in the sensitivities, without serious loss in the specificities. In conclusion, the milk-ELISA can be as accurate as the serum-ELISA, especially at the late lactation stage. Thus, it could serve as the diagnostic tool of choice, especially during the implementation of MAP control programs that require frequent testing, because milk sampling is a non-invasive, rapid and easy process. Finally, there is no need for lactation-stage specific selection to detect the disease as the prevalence is constant.

Chapter 3- Bayesian validation of a commercial milk and serum ELISA across lactation in dairy sheep.

The aim of the research presented in this chapter was to evaluate a commercially available ELISA in sera and milk of a Greek dairy sheep flock. A total of 854 paired milk and blood samples were collected from ewes of a Greek flock and were used to validate a commercial (IDEXX Pourquier, Montpellier, France) serum/milk ELISA against Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis across lactation. We implemented Bayesian mixture models to derive the distribution of the responses of healthy and infected ewes. Both serum and milk ELISA had low to average overall discriminatory ability as measured by the area under the curves and comparable sensitivities and specificities at the recommended cut-offs. Lowering the cutoffs led to an increase in the sensitivities without serious loss in specificities.

Chapter 4- Flock-level factors associated with the risk of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis infection in Greek dairy goat flocks.

The aim of the research presented in this chapter was to conduct a cross-sectional study to identify flock-level risk factors for *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) infection, in Greek dairy goat flocks.

We collected 1599 milk samples from does that were at the last stage of lactation in 58 randomly selected dairy goat flocks, during May to September 2012. The collected samples were tested with a commercial milk ELISA (Idexx Pourquier, Montpellier, France) and the results were interpreted at a cut-off that optimized the accuracy of the diagnostic process. For the analysis of the data, we used Bayesian models that adjusted for the imperfect Se and Sp of the milk-ELISA. Flock was included as a random effect. Does in flocks that used common water troughs and communal grazing grounds had

4.6 [95% Credible Interval (CI):1.5; 17.4] times higher odds of being MAP-infected compared to does in flocks that had no contact with other flocks. Does of flocks supplied with surface water from either streams or shallow wells had 3.7 (1.4; 10.4) times higher odds of being infected compared to those in flocks watered by underground and piped water sources. When kids were spending equal to or more than 10 hours per day with their dams they had 2.6 (1.1; 6.4) times higher odds of being MAP infected compared to kids that were separated from their dams for less than 10 hours per day. Finally, does in flocks that continuously used the same anti-parasitic compound had 2.2 (1.0; 4.6) times higher odds of MAP infection compared to those in flocks alternating anti-parasitic compounds. These results should be considered in the development of a nationwide future control program for caprine paratuberculosis in Greece.

Chapter 5- General discussion

In this chapter of the thesis the results of the research are summarized and discussed in relevance with existing knowledge and prospective follow up research activities.

Key words: Bayesian latent class model, Paratuberculosis, Serum and milk ELISA, Dairy goat and sheep, Risk factor

Three - Member Supervisory Committee

Leonidas Leontides, Professor in Veterinary Epidemiology, Faculty of Veterinary Science, University of Thessaly, Greece

Charalambos Billinis, Professor in Virology & Viral Diseases, Faculty of Veterinary Science, University of Thessaly, Greece

Ian Gardner, Professor in Veterinary Epidemiology, Canada Excellence Research Chair in Aquatic Epidemiology, University of Prince Edward Island

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά / Articles in journals

1. **Angelidou, E.**, Kostoulas, P., Leontides, L. (2014). Flock-level factors associated with the risk of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) infection in Greek dairy goat flocks. *Preventive Veterinary Medicine*, *117*(1), 233-241.
2. **Angelidou, E.**, Kostoulas, P., Leontides, L. (2014). Bayesian validation of a serum and milk ELISA for antibodies against *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in Greek dairy goats across lactation. J*ournal of Dairy Science*, *97*(2), 819-828.
3. **Angelidou, E.**, Kostoulas P., Leontides L. (2011). Concordance between *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* ELISA results in paired sera and milk of dairy goats. *The Paratuberculosis Newsletter*, September 2014, pp. 40.

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων - βιβλία περιλήψεων Publications in conference proceedings - books of abstracts

1. **Angelidou, E.**, Kostoulas, P., Leontides, L. (2014). Validation of a serum and milk ELISA for antibodies against Mycobacterium Avium subsp. Paratuberculosis across lactation in Greek dairy goats. In S.S. Nielsen (Ed.), *12th International Colloquium on Paratuberculosis* (pp. 254). Parma, Italy: International Association for Paratuberculosis.
2. **Αγγελίδου, Ε.**, Κωστούλας, Π., Λεοντίδης, Λ. (2014). Εκτίμηση της διαγνωστικής αξιοπιστίας μιας ELISA για την ανίχνευση αντισωμάτων κατά του μυκοβακτηριδίου της παραφυματίωσης σε ζεύγη ορών αίματος και γάλακτος αιγών. Στο Γ.Σ. Αμοιρίδης (Επιμ.), *3ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κτηνιατρικής Παραγωγικών Ζώων και Υγιεινής Τροφίμων* (σελ. 60). Ιωάννινα: Ελληνική Κτηνιατρική Εταιρεία.

   Angelidou, E., Kostoulas, P., Leontides, L. (2014). Validation of a serum and milk ELISA for antibodies against *Mycobacterium Avium* subsp. *Paratuberculosis* across lactation in Greek dairy goats. In G.S. Amiridis (Ed.), *3rd National Conference of Veterinary & Animal Production Food Hygiene* (p. 60). Ioannina, Greece: Hellenic Veterinary Association.
3. **Αγγελίδου, Ε.**, Κωστούλας, Π., Λεοντίδης, Λ. (2014). Παράγοντες επικινδυνότητας για το ποσοστό προσβολής από παραφυματίωση κοπαδιών αιγών. Στο Γ.Σ. Αμοιρίδης (Επιμ.), *3ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κτηνιατρικής Παραγωγικών Ζώων και Υγιεινής Τροφίμων* (σελ. 87). Ιωάννινα: Ελληνική Κτηνιατρική Εταιρεία.

Angelidou, E., Kostoulas, P., Leontides, L. (2014). Risk factors associated with the prevalence of paratuberculosis in goat flocks. In G.S. Amiridis (Ed.), *3rd National Conference of Veterinary & Animal Production Food Hygiene* (p. 87). Ioannina, Greece: Hellenic Veterinary Association.

4 **Angelidou, E.**, Kostoulas, P., Leontides, L. (2014). Flock-level factors associated with the risk of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) infection in Greek dairy goat flocks. In S.S. Nielsen (Ed.), *12th International Colloquium on Paratuberculosis* (pp. 265). Parma, Italy: International Association of Paratuberculosis.

5. **Angelidou, E.**, Kostoulas P., Leontides L. (2012). Concordance between *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* ELISA results in paired sera and milk of dairy goats. In S.S. Nielsen (Ed.), *11th International Colloquium on Paratuberculosis* (pp. 357). Sydney, Australia: International Association of Paratuberculosis.

Σύντομο βιογραφικό

Η **Ελισάβετ – Νικολέτα Αγγελίδου** γεννήθηκε στη Θεσσαλονίκη, στις 26 Μαρτίου του 1985. Είναι κτηνίατρος, απόφοιτη του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (Σεπτέμβριος 2002 – Νοέμβριος 2008). Το Φεβρουάριο του 2009, έγινε δεκτή στο ίδιο Τμήμα ως υποψήφια Διδάκτωρ, στο Εργαστήριο Κτηνιατρικής Επιδημιολογίας, Βιοστατιστικής και Οικονομίας Ζωικής Παραγωγής, με επιβλέποντα Καθηγητή τον Λεοντίδη Λεωνίδα. Κατά το διάστημα εκπόνησης της διδακτορικής της διατριβής (Σεπτέμβριος 2010 - Δεκέμβριος 2014), με θέμα: «Μελέτη των παραγόντων που επηρεάζουν τη Διασπορά της Παραφυματίωσης σε Ελληνικές Εκτροφές Μικρών Μηρυκαστικών», ήταν υπότροφος του προγράμματος "Ηράκλειτος ΙΙ". Μετά την υποστήριξη της διατριβής της, το Δεκέμβριο του 2014, κρίθηκε άξια του Διδακτορικού Διπλώματος με βαθμό «Άριστα».

Από τον Απρίλιο του 2014 έως σήμερα, συμμετέχει στο ερευνητικό πρόγραμμα «Αριστεία ΙΙ» [Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας (Γ.Γ.Ε.Τ.), (ΕΣΠΑ 2007-2013), Επιστημονικώς Υπεύθυνος: Λεοντίδης Λεωνίδας]. Τα ερευνητικά της ενδιαφέροντα συμπεριλαμβάνουν τη μελέτη της λοίμωξης από το *Mycobacterium avium* subsp. *Paratuberculosis* (MAP) στα γαλακτοπαραγωγικά ελληνικά κοπάδια προβάτων και αιγών• συγκεκριμένα: 1) την εκτίμηση της διαγνωστικής αξιοπιστίας διαγνωστικών δοκιμών με επιδημιολογικά μοντέλα που δεν απαιτούν την ύπαρξη διαγνωστικής δοκιμής αναφοράς και επίλυση των μοντέλων αυτών με την μεθοδολογία κατά Bayes 2) τη μελέτη των παραγόντων που συσχετίζονται με τη λοίμωξη από το MAP στα γαλακτοπαραγωγικά κοπάδια αιγών 3) την επίδραση του εμβολίου ενάντια στην παραφυματίωση στην γαλακτοπαραγωγή, στη θνησιμότητα από το MAP και στην απέκκριση του MAP στα κόπρανα και 4) την εκτίμηση του πραγματικού ποσοστού προσβολής από MAP σε επίπεδο ζώου και κοπαδιού.

Short CV

Elisavet Nikoleta Angelidou was born in Thessaloniki on 26th March 1985. She is a doctor of veterinary medicine, graduate from the Faculty of Veterinary Medicine of the University of Thessaly (September 2002 - November 2008). On February 2009, she was enrolled as a Ph.D student in the Laboratory of Epidemiology, Biostatistics and Animal Health Economics of the Faculty of Veterinary Medicine at University of Thessaly, under the supervision of Professor Leontides Leonidas. The title of her thesis was “An epidemiologic appraisal of milk testing for diagnosis and control of paratuberculosis in Greek dairy sheep and goats”. Her PhD studies (September 2010 - December 2014) were financed by the PhD scholarship programme “Heraclitus II”.

After the public defense of her thesis on December 2014, she was awarded the Degree of Doctor of Philosophy with grade “Excellent”. Since April 2014 until today, she has participated in the project “ARISTEIA II” [General Secretariat for Research and Technology (G.S.R.T.), by the Education and Lifelong Learning Operational Program (NSRF 2007-2013), co-financed by the Hellenic Ministry of Education. Scientifically Responsible: Leontides, L., University of Thessaly, Karditsa, Greece]. Her research interests include the *mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) infection in greek dairy sheep and goat flocks. Specifically, she is interested in 1) the validation of diagnostic tests with the use of Bayesian mixture models without the need of a gold standard method 2) the investigation of the risk factors associated with the MAP infection 3) the evaluation of the efficacy of a commercially available killed whole cell vaccine on milk yield, MAP-associated mortality and MAP-shedding and 4) the estimation of the true animal and flock-level prevalence of MAP infection.

Ευγενία Γ. Γουρζιώτη

Μελέτη της μυξοβακτηριδίασης σε εντατικές καλλιέργειες υδρόβιων θαλασσίων ειδών στην Ελλάδα

Περίληψη

Η διατριβή εστιάζεται αφενός στη μελέτη της νόσου της μυξοβακτηριδίασης από το μυξοβακτηρίδιο *Tenacibaculum maritimum* σε εκτρεφόμενους πληθυσμούς θαλάσσιων ψαριών στην Ελλάδα και αφετέρου στην πραγματοποίηση πειραματικών μολύνσεων με το *T. maritimum* σε ιχθύδια τσιπούρας και λαβρακιού, για τον έλεγχο της παθογόνου δράσης τους, καθώς και την μελέτη της επίδρασης του υπεροξειδίου του υδρογόνου και της χλωραμίνης-Τ, στην αντιμετώπιση της νόσου της μυξοβακτηριδίασης.

Κύριοι στόχοι της διατριβής που υλοποιήθηκαν, είναι:

- Η απομόνωση και η ταυτοποίηση παθογόνων μυξοβακτηριδίων από εκτρεφόμενα στην Ελλάδα ψάρια (Μεσογειακά θαλασσινά είδη) με μικροβιολογικές, βιοχημικές και μοριακές μεθόδους.
- Ο έλεγχος της παθογόνου δράσης των απομονωμένων βακτηριδιακών στελεχών στα πιο ευαίσθητα είδη, με την πραγματοποίηση πειραματικών μολύνσεων σε ιχθύδια τσιπούρας και λαβρακιού.
- Η ιστοπαθολογική μελέτη των ασθενών ψαριών.
- Η διατήρηση των απομονωμένων βακτηριδιακών στελεχών για μελλοντικές μελέτες, δημιουργία τράπεζας μυξοβακτηριδίων από τις ελληνικές ιχθυοκαλλιέργειες.

Η διατριβή χωρίζεται σε πέντε κεφάλαια: Εισαγωγή, Υλικά & Μέθοδοι, Αποτελέσματα, Συζήτηση και Βιβλιογραφία.

Στην Εισαγωγή περιγράφεται η κατάσταση των ιχθυοκαλλιεργειών σε παγκόσμιο, ευρωπαϊκό και ελληνικό επίπεδο, καθώς και τα παθολογικά προβλήματα που παρατηρούνται στις μεσογειακές ιχθυοκαλλιέργειες. Επιπλέον, γίνεται μια βιβλιογραφική ανασκόπηση με σκοπό τη συλλογή πληροφοριών για τα είδη μυξοβακτηριδίων που προσβάλλουν εκτρεφόμενα ψάρια του θαλασσινού νερού, προκαλώντας νοσηρές καταστάσεις, καθώς και τις ιδιότητες των δύο αντισηπτικών διαλυμάτων που χρησιμοποιούνται στις πειραματικές μολύνσεις.

Το κεφάλαιο Υλικά και Μέθοδοι, υποδιαιρείται σε πέντε τμήματα. Το πρώτο τμήμα αναφέρεται στη: Μελέτη της εποχικότητας και του ποσοστού μόλυνσης από το μυξοβακτηρίδιο *T. maritimum* σε εκτρεφόμενους πληθυσμούς θαλάσσιων ψαριών στην Ελλάδα. Πραγματοποιήθηκαν τέσσερεις (4) εποχικές δειγματοληψίες, σε εκτρεφόμενα είδη που ήταν: το λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*), η τσιπούρα (*Sparus aurata*), το λυθρίνι (*Pagellus erythrinus*), το φαγκρί (*Pargus pargus*), το μυλοκόπι (*Umbrina Cirrosa*), το μυτάκι (*Diplodus puntazzo*) και ο συκιός (*Sciaena umbra*). Σε κάθε δειγματοληψία λαμβανόταν δείγμα 200 ψαριών. Τα βακτήρια απομονώθηκαν, ταυτοποιήθηκαν, κωδικοποιήθηκαν και αποθηκεύτηκαν σε υπερκατάψυξη. Ελήφθησαν επίσης δείγματα ιστών για ιστοπαθολογικές εξετάσεις.

Το δεύτερο τμήμα αναφέρεται στην ανάπτυξη ενός πειραματικού μοντέλου μόλυνσης με το μυξοβακτηρίδιο *T. maritimum* σε ιχθύδια τσιπούρας και λαβρακιού, με σκοπό τον έλεγχο της παθογόνου δράσης τους. Οι πειραματικές μολύνσεις πραγματοποιήθηκαν σε ιχθύδια τσιπούρας και λαβρακιού, σε προκαθορισμένες συγκεντρώσεις βακτηριδίων, 1.0 x10^6 έως 1.5x10^6cells/ml T. maritimum.Οι μολύνσεις πραγματοποιήθηκαν με ενδοπεριτοναϊκή έγχυση και με εμβάπτιση. Από τα πειραματικά μολυσμένα ιχθύδια που εμφάνισαν συμπτώματα και αλλοιώσεις απομονώθηκε και ταυτοποιήθηκε εκ νέου ο αντίστοιχος παθογόνος παράγοντας που χρησιμοποιήθηκε, ενώ λαμβάνονταν δείγματα ιστών για ιστοπαθολογικές εξετάσεις.

Το τρίτο τμήμα αναφέρεται στην επίδραση του υπεροξειδίου του υδρογόνου και της χλωραμίνης-Τ στην αντιμετώπιση της νόσου της μυξοβακτηριδίασης, μετά από πειραματικές μολύνσεις σε τσιπούρες και λαβράκια.

Το τέταρτο τμήμα αναφέρεται στον προσδιορισμό της θανατηφόρου συγκέντρωσης (LC50) του υπεροξειδίου του υδρογόνου και της χλωραμίνης-Τ σε ιχθύδια τσιπούρας και λαβρακιού.Το πέμπτο τμήμα, περιλαμβάνει την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων.

Στο 3ο Κεφάλαιο παρουσιάζονται τα Αποτελέσματα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, διαπιστώθηκε ότι το *T. maritimum* απομονώνεται από τα ψάρια, σε ποσοστό 39.25% (314/800), παρόλο που πολλά ψάρια δεν εμφάνιζαν κανένα από τα χαρακτηριστικά συμπτώματα και αλλοιώσεις της νόσου. Αποδείχθηκε πως η πλειοψηφία, 56% (112/200) των στελεχών του *T. maritimum* απομονώθηκε το φθινόπωρο και ο μικρότερος αριθμός, προσβολή 29% (58/200) απομονώθηκε τον χειμώνα.

Κατά τη θερινή περίοδο, διαπιστώθηκε επίσης μια μικρή αύξηση της θνησιμότητας συγκριτικά με την άνοιξη. Το γεγονός αυτό συνέπεσε με την παράλ-

ληλη ανάπτυξη αποικιών *Listonella anguillarum*, σε μερικά είδη ψαριών, όπως το μυλοκόπι και ο συκιός. Η απομόνωση του *Listonella anguillarum* από το μυλοκόπι, έγινε για πρώτη φορά από δείγμα νεφρού, ενώ για πρώτη φορά διεθνώς, το *T. maritimum*, απομονώθηκε από εκτρεφόμενο συκιό (*Sciaena umbra*).

Όσον αφορά το ποσοστό μόλυνσης, πιο ευπαθές αποδεικνύεται το λαβράκι με περισσότερες απομονώσεις (128/200) και μεγαλύτερο ποσοστό προσβολής (64%). Τα λυθρίνια εμφάνισαν το μικρότερο ποσοστό προσβολής (18.75%).

Κατά τη μακροσκοπική και νεκροτομική εξέταση, τα ασθενή ιχθύδια, ανεξάρτητα από το είδος τους, εμφάνισαν ανορεξία, αιμορραγίες στις γνάθους, ωχροκίτρινες νεκρωτικές αλλοιώσεις στο δέρμα, στα πτερύγια και στην ουρά, υπεραιμία στα πτερύγια, διάβρωση της ουράς και των πτερυγίων. Οι αλλοιώσεις και τα κλινικά συμπτώματα ήταν εντονότερα στα ιχθύδια με σωματικό βάρος από 0.5-3gr.

Όσον αφορά τα αποτελέσματα των μικροβιολογικών εξετάσεων, καταλληλότερο θρεπτικό υπόστρωμα για τα δείγματα δέρματος ήταν το *Flexibacter maritimus medium* (FMM) (n=108) και για δείγματα βραγχίων το τροποποιημένο Anacker και Ordalagar (AOA), (n=76). Η πραγματική βέλτιστη θερμοκρασία επώασης καθορίστηκε στους 19 με 21°C.

Σχετικά με τη βιοχημική ταυτοποίηση και τα αποτελέσματα του API 20E, το κυρίως βιοχημικό προφίλ για τα 252 από τα 314 στελέχη *T. maritimum* ήταν το: 000200410. Το βιοχημικό προφίλ ήταν παρόμοιο για όλα τα στελέχη, ανεξαρτήτως του γεωγραφικού σημείου όπου εντοπίστηκαν και του είδους του ψαριού όπου απομονώθηκαν, εντός των ελληνικών συνόρων.

Τα αποτελέσματα της μοριακής ταυτοποίησης και της PCR επιβεβαίωσαν ότι το υπεύθυνο αίτιο ήταν το βακτήριο *T. maritimum*.

Οι ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις εντοπίστηκαν κυρίως στο βραγχιακό επιθήλιο και στο δέρμα.

Τα αποτελέσματα του αντιβιογράμματος απέδειξαν πως όλα τα στελέχη του *T. maritimum* εμφάνισαν παρόμοιο προφίλ ευαισθησίας στα αντιβιοτικά.

Σε αυτή την έρευνα, συνολικά 314 στελέχη *T. maritimum* απομονώθηκαν και ταυτοποιήθηκαν από όλα τα δείγματα ψαριών (n=800) και διατηρήθηκαν στην κατάψυξη, στους -80°C.

Από τις πειραματικές μολύνσεις που πραγματοποιήθηκαν στα ιχθύδια τσιπούρας και λαβρακιού, αποδείχθηκε πως η παρατεταμένη εμβάπτιση των ψαριών για 18 ώρες σε διάλυμα βακτηρίων του T. *maritimum* αποτελεί αποτελεσματική μέθοδο πρόκλησης της μυξοβακτηριδίασης. Τα πειραματικά μολυσμένα ιχθύδια εμφάνισαν παρόμοιες αλλοιώσεις με τα φυσικά μολυσμένα ψάρια και υψηλή θνησιμότητα (λαβράκι 65%, τσιπούρα 35%).Συμπερασματικά, το μοντέλο πειραματικής μόλυνσης των ψαριών, με εμβάπτιση, σε συγκέντρωση βακτηρίων από $1.0x10^6$cells/ml έως $1.5x10^6$cells/ml, που περιγράφηκε σε αυτή την έρευνα, αποδείχθηκε αποτελεσματικό και μπορεί να αποτελέσει τη βάση για μελλοντικές επιδημιολογικές μελέτες, με σκοπό την πρόληψη και έλεγχο της μυξοβακτηριδίασης.

Μετά την ολοκλήρωση των πειραματικών μολύνσεων και εμβαπτίσεων με το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2) και τη χλωραμίνη-Τ, τα ιχθύδια ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία, εμφανίζοντας μείωση της θνησιμότητας. Οι εμβαπτίσεις πραγματοποιήθηκαν με: υπεροξείδιο του υδρογόνου (διάλυμα 35%), στη δόση 200ppm/30min και χλωραμίνη-Τ στη δόση 12-15ppm/60min.

Όσον αφορά τα ιχθύδια τσιπούρας, αποδείχθηκε πως η μεσαία θανατηφόρα συγκέντρωση (LC50) για το υπεροξείδιο του υδρογόνου, στις 48 h, είναι τα 640ppm/30min και για τη χλωραμίνη-Τ, στις 48 h, είναι η συγκέντρωση 80ppm/60min.

Όσον αφορά τα ιχθύδια λαβρακιού, αποδείχθηκε πως η μεσαία θανατηφόρα συγκέντρωση (LC50) για το υπεροξείδιο του υδρογόνου, στις 24 h, είναι τα 640ppm/30min και για την χλωραμίνη-Τα, στις 96 h, είναι η συγκέντρωση 80ppm/60min.

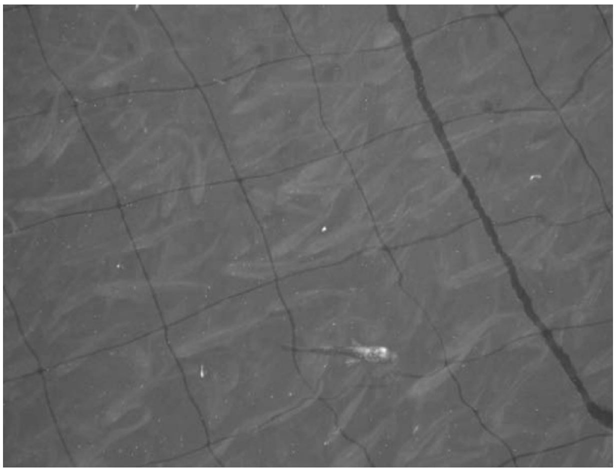
Λέξεις κλειδιά: ιχθυοκαλλιέργειες, θαλάσσια εκτρεφόμενα ψάρια, μυξοβακτηριδίαση, *Tenacibaculum maritinum*, απομόνωση, ταυτοποίηση, πειραματικές μολύνσεις, τσιπούρα, λαβράκι, υπεροξείδιο του υδρογόνου, χλωραμίνη-Τ

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Φ. Αθανασοπούλου, Καθηγήτρια, Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας, Ιχθυολογίας & Υδατοκαλλιεργειών, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας *(επιβλέπουσα)*

Ι. Πάσχος, Καθηγητής, Τμήμα Ιχθυοκομίας & Αλιείας, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Ηπείρου

Κ. Ναθαναηλίδης, Καθηγητής, Τμήμα τεχνολογίας Αλιείας & Υδατοκαλλιεργειών, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Δυτικής Ελλάδας

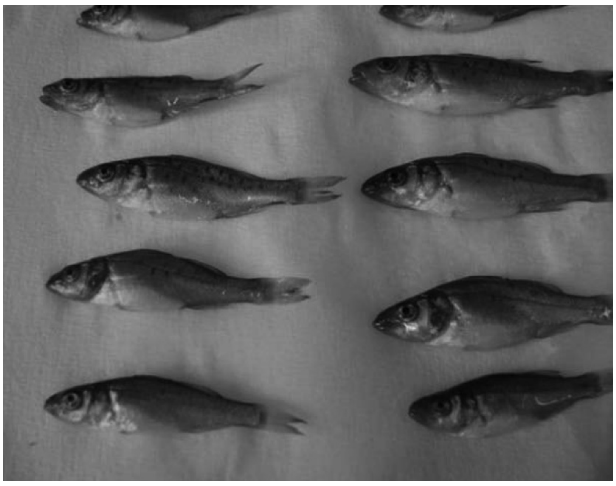


Εικόνα 1. *Ωχροκίτρινη νεκρωτική αλλοίωση στην περιοχή της κεφαλής σε λαβράκι, προσβεβλημένο με μυξοβακτηριδίαση.*

Fig. 1. *Pale yellow necrotic lesion of the head in a sea bass affected by tenacibaculosis.*

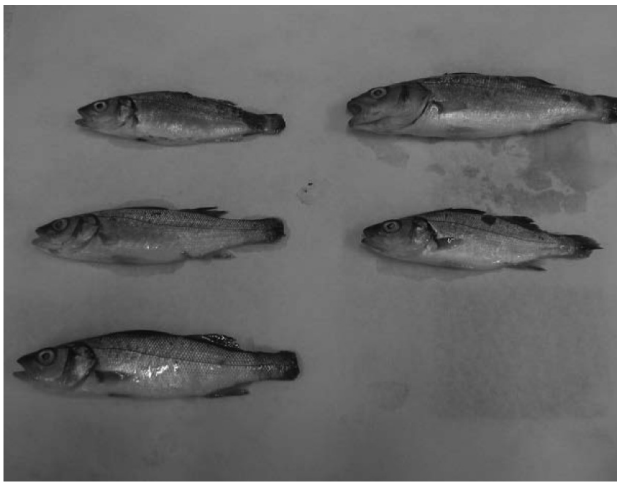
Εικόνα 2. *Λαβράκι, προσβεβλημένο με μυξοβακτηριδίαση. Ωχροκίτρινη νεκρωτική αλλοίωση και νέκρωση του ουραίου πτερυγίου.*

Fig. 2. *Sea bass affected by tenacibaculosis. Pale yellow lesion and necrosis of the caudal fin.*



Εικόνα 3. *Λαβράκια, προσβεβλημένα με μυξοβακτηριδίαση. Αιμοραγίες στις γνάθους, αιμορραγική στοματίτιδα.*

Fig. 3. *Sea bass affected by tenacibaculosis. Haemorrhage mouth, haemorrhage stomatitis.*



Εικόνα 4. *Λαβράκια, προσβεβλημένα με μυξοβακτηριδίαση. Νέκρωση του ουραίου πτερυγίου, σε όλα τα ψάρια.*

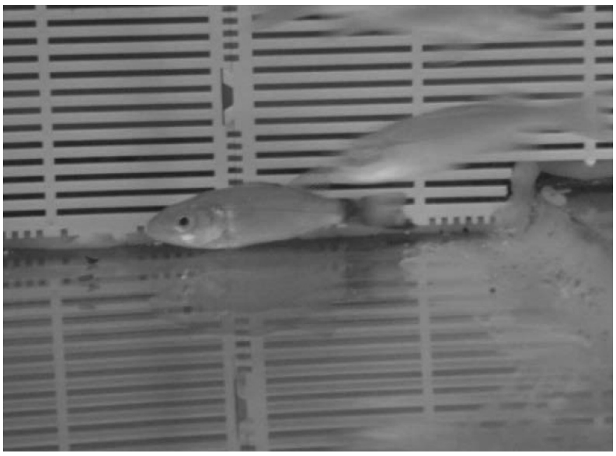
Fig. 4. *Sea bass affected by tenacibaculosis. Necrosis of the caudal fin, in all fish.*

Εικόνα 5*. Λαβράκια, προσβεβλημένα με μυξοβακτηριδίαση. Νέκρωση του ουραίου πτερυγίου, έκθεση της μυϊκής στοιβάδας.*

Fig. 5. *Sea bass affected by tenacibaculosis. Necrosis of the caudal peduncle, exposing muscle layer*

Εικόνα 6. *Ιχθύδια τσιπούρας, προσβεβλημένα με μυξοβακτηριδίαση. Νέκρωση του ουραίου πτερυγίου.*

Fig. 6. *Sea bream juveniles affected by tenacibaculosis. Necrosis of the caudal fin.*

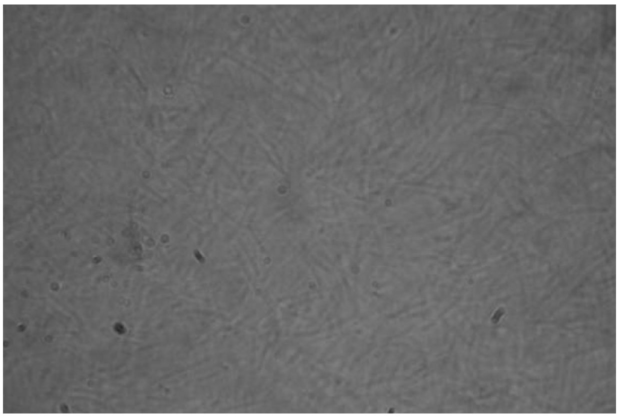


Εικόνα 7. *Λαβράκι. Πειραματικές μολύνσεις, ελκωτική αλλοίωση και νέκρωση του ουραίου πτερυγίου.*

Fig. 7. *Sea bass. Experimental infections, ulcer and necrosis of the caudal fin.*

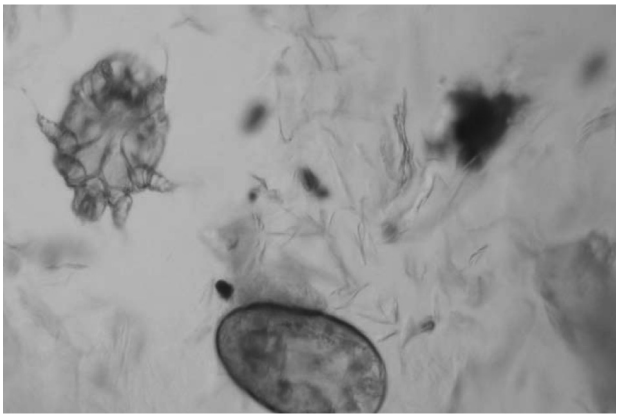
Εικόνα 8. *Λαβράκι. Πειραματικές μολύνσεις, ελκωτική αλλοίωση και νέκρωση του ουραίου πτερυγίου.*

Fig. 8. *Sea bass. Experimental infections, ulcer and necrosis of the caudal fin.*



Εικόνα 9. *Λεπτοί, επιμήκεις βάκιλοι Tenacibaculum maritimum σε νωπό επίχρισμα (μεγένθυνση x 1000).*

Fig. 9. *Long and slender rods Tenacibaculum maritimum in smears (x 1000 objective).*



Εικόνα 10. *Κίτρινες αποικίες με άνισες προεκτάσεις του T. maritimum, από δείγμα δέρματος σε FMM θρεπτικό υπόστρωμα.*

Fig.10. *Yellow colonies, with uneven edges of T. maritimum, from the skin on FMM agar.*

Evgenia G. Gourzioti

Study of myxobacteriosis in intensive farms of aquaculture species in Greece

Abstract

The thesis concerns the study of myxobacteria infections from the bacterium *Tenacibaculum maritimum* in farmed marine fish in Greece and the accomplishment of experimental infections with *T. maritimum* in sea bream and sea bass for the control of their pathogenic action and also the study of the hydrogen peroxide's and chloramine-T's effect, in the control of the disease.

The main objectives of this thesis are:

- The isolation and identification of the pathogens myxobacteria in farmed marine fish in Greece (Mediterranean marine fish) with microbiological, biochemical and molecular methods.
- The control of the pathogenic action isolated bacteria species in the most sensitive fish species, with experimental infections in sea bream and sea bass.
- The histopathological study of the infected fish.
- The preservation of the isolated bacteria species for future research, creation of aquaculture myxobacteria bank, from Greek aquaculture farms.

The thesis is divided in five Chapters: Introduction, Material & Methods, Results, Discussion and Bibliography.

In the Introduction, the World, European and Greek aquaculture situation and also the pathological problems observed in Mediterranean aquaculture are described. Moreover, a literature review is made, in order to collect information for the myxobacteria species that infect farmed marine fish, causing disease. Also, the properties of the two antiseptic solutions that are used in the experimental infections are mentioned.

The chapter Material & Methods is subdivided into five parts. The first part refers to: The study of the seasonality and the infection rate from the bacterium *T. maritinum*, in farmed marine fish in Greece. Four (4) seasonal samplings were performed in farmed fish species, *Dicentrarchus labrax, Sparus aurata*, *Pagellus erythrinus, Pargus pargus, Umbrina Cirrosa, Diplodus puntazzo and Sciaena umbra*. In every sampling, 200 fish were collected. The bacteria were isolated, identified, coded and stored: in deep-freezing. Samples from tissues were also collected for histopathological examinations.

The second part refers to the development of an experimental infection model with the bacterium *T. maritimum* in sea bream and sea bass, in order to control their pathogenic action. The experimental infections were performed in sea bream and sea bass, with strains of myxobacteria, in certain concentrations, $1.0x10^6$ to $1.5x10^6$ cells/ml T. maritimum. The infections were performed with intraperitoneal injection and immersion. From the experimental infected fish, which showed symptoms and lesions, the causative pathogenic agent that was used was isolated, while samples from tissues were also collected for histopathological examinations.

The third part refers to the effect of the hydrogen peroxide and chloramine-T, in the control of the

disease of myxobacteriosis, after experimental infections in sea bream and sea bass.

The fourth part refers to the identification of hydrogen peroxide's and chloramine-T's Lethal Concentration (LC50), in sea bream and sea bass. The fifth part contains the statistical analysis of the results.

In the 3rd chapter, the Results are presented. According to the results, *T. maritimum* is isolated from the fish, in a percentage of 39.25% (314/800), although many fish didn't show any of the characteristic symptoms and lesions of the disease. The results showed that the majority, 56% (112/200) of the strains of *T. maritimum* were isolated in autumn and the lowest number, 29% (58/200) was isolated in winter.

During the summer period, there was also a slight increase in mortality comparing to spring. This fact coincided with the parallel development of *Listonella anguillarum* colonies, in few fish species, like Shi drum and Brown meagre. The isolation of *Listonella anguillarum* from Shi drum was made for the first time from kidney sample. Also, for the first time internationally, T. *maritimum* was isolated from the cultured fish, Brown meagre (*Sciaena umbra)*.

Regarding the infection rate, the sea bass appears to be more sensitive, with more isolations (128/200) and higher infection rate (64%).The red snapper appears to have the lowest infection rate (18.75%).

During macroscopic and postmortem examination, the infected fish, regardless of the fish species, showed anorexia, hemorrhages to the mouth, pale yellow necrotic lesions on the skin, fins and tail, hyperemia in the flaps, corrosion of the tail and fins. The lesions and symptoms were more severe in the group of fish with body weight 0.5-3gr.

Regarding the results of the microbiological examinations, the *Flexibacter maritimus medium* (FMM) (n=108) proved to be more effective nutrient substrate for skin samples, whereas for gills samples, the modified Anacker and Ordalagar (AOA) (n=76). The true optimum temperature of growth was set at 19 to 21°C.

Regarding the biochemical identification and the results of API 20E, the main biochemical profile for 252 of the 314 strains of *T. maritimum* was: 000200410. The biochemical profile was similar for all the strains, regardless of the geographical location where they were found and the species which were isolated, inside Greek borders.

The results of the molecular identification and PCR, confirmed that the causative agent was the bacterium T. maritimum.

The histopathological lesions were found mainly in the gill epithelium and skin.

The results of the antibiogram showed that all the strains of T. maritimum had a similar profile of sensitivity in the antibiotics.

In this thesis, 314 strains of T. maritimum were isolated and identified from all the fish samples (n=800) and were kept in deep-freezing, -80°C.

From the experimental infections that were made in sea bream and sea bass, it was found that the prolonged immersion of the fish for 18 hours with a solution of bacteria of *T. maritimum* is an effective method of causing the disease of myxobacteriosis. The experimental infected fish showed similar lesions with the natural infected fish and high mortality (sea bass 65%, sea bream 35%). In conclusion, the experimental model of infecting the fish with immersion, in a concentration of bacteria from $1.0x10^6$cells/ml to $1.5x10^6$cells/ml that was described in this thesis, proved to be effective and can constitute the base for future epidemiological studies, in order to prevent and control the disease of myxobacteriosis.

After the completion of the experimental infections and immersions with hydrogen peroxide and chloramine-T, the fish responded to the therapy, reducing mortality rate. The immersions were made with: hydrogen peroxide (solution 35%), in the dose 200ppm/30min and chloramine-T, in the dose 12-15ppm/60min.

Regarding the sea bream, it was proved that the Lethal Concentration 50 (LC50), for hydrogen peroxide, in 48 h, was 640ppm/30min and for chloramine-T, in 48 h, was the concentration 80ppm/60min.

Regarding the sea bass, it was proved that the Lethal Concentration 50 (LC50), for hydrogen peroxide, in 24 h, was 640ppm/30min and for chloramine-T, in 96 h, was the concentration 80ppm/60min.

Key words: aquaculture, farmed marine fish, tenacibaculosis, *Tenacibaculum maritinum***, isolation, identification, experimental infection, sea bream, sea bass, hydrogen peroxide, chloramine-T**

Three - Member Supervisory Committee

F. Athanassopoulou, Professor, Laboratory of Fish Diseases and Aquaculture, Faculty of Veterinary Medicine, University of Thessaly, Greece *(supervisor)*

I. Paschos, Professor, Department of Aquaculture and Fisheries, Technological Educational Institute of Epirus, Greece

K. Nathanailidis, Professor, Department of Fisheries and Aquaculture technology, Technological Educational Institute of Western Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος « Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά / Articles in journals

1. **Γουρζιώτη, Ε.,** Κολύγας, Μ.Ν., Αθανασοπούλου, Φ. (2014). Μελέτη της εποχικότητας και του ποσοστού μόλυνσης από το μυξοβακτηρίδιο *Tenacibaculum maritimum σε εκτρεφόμενους πληθυσμούς θαλάσσιων ψαριών στην Ελλάδα*. Περιοδικό της Ελληνικής Κτηνιατρικής Εταιρείας (Αναμονή αποδοχής).

   Gourzioti, E., Kolygas, M.N., Athanassopoulou, F. (2014). Study of the seasonality and the infection rate from the bacterium Tenacibaculum maritinum, in farmed marine fish in Greece. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society.* (Pending acceptance)

3. **Γουρζιώτη, Ε.**, Κολύγας, Μ.Ν., Αθανασοπούλου, Φ., Μπαμπίλη, Β. (2014). *Η Μυξοβακτηριδίαση στις ιχθυοκαλλιέργειες θαλάσσιων ψαριών*. Περιοδικό της Ελληνικής Κτηνιατρικής Εταιρείας (Αναμονή δημοσίευσης).

   Gourzioti, E., Kolygas, M.N., Athanassopoulou, F., Babili, V. (2014). Tenacibaculosis in aquaculture farmed marine fish. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society* (Pending publication).

3. **Kolygas, M.N.,** Gourzioti, E., Vatsos, I.N., Athanassopoulou, F. (2012). Identification of Tenacibaculum maritimum strains from marine farmed fish in Greece. *Journal of Veterinary Record*, *170*(24), 623-625.

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων – βιβλία περιλήψεων Publications in conference proceedings- books of abstracts

1. **Γουρζιώτη, Ε.**, Κολύγας, Μ.Ν., Αθανασοπούλου, Φ. (2015). Σύγκριση της αποτελεσματικότητας διαφόρων θρεπτικών υποστρωμάτων για την διάγνωση της μυξοβακτηριδίασης στα θαλάσσια ψάρια.*13ο Πανελλήνιο Κτηνιατρικό Συνέδριο* (σελ. 51). Αθήνα: Ελληνική Κτηνιατρική Εταιρεία.

   Gourzioti, E., Kolygas, M.N.,Athanassopoulou, F. (2015). Comparison of the efficiency of different nutrient substrates for the diagnosis of myxobacteriosis in marine fish. *13th Pan-hellenic Veterinary Congress* (pp. 51). Athens, Greece: Hellenic Veterinary Medical Society.

2. **Γουρζιώτη, Ε.**, Κολύγας, Μ.Ν., Αθανασοπούλου, Φ. (2015). Διερεύνηση ιστολογικών αλλοιώσεων σε φυσικά ή πειραματικά μολυσμένα με το βακτήριο Tenacibaculum maritimum εκτρεφόμενα στην Ελλάδα θαλάσσια είδη ψαριών.*13ο Πανελλήνιο Κτηνιατρικό Συνέδριο* (σελ. 51). Αθήνα: Ελληνική Κτηνιατρική Εταιρεία.

   Gourzioti, E., Kolygas, M.N., Athanassopoulou, F. (2015). Investigation of histological lesions in naturally or experimentally infected with the bacterium Tenacibaculum maritimum in farmed marine fish in Greece.*13th Pan-hellenic Veterinary Congress* (pp. 51). Athens, Greece: Hellenic Veterinary Medical Society.

3. **Γουρζιώτη, Ε.**, Κολύγας, Μ.Ν., Αθανασοπούλου Φ., Παππάς Ι., Μπαμπίλη Β. (2015). Μελέτη της εποχικότητας και της συχνότητας προσβολής από το μυξοβακτήριο Tenacibaculum maritimum σε εκτρεφόμενους πληθυσμούς θαλάσσιων ψαριών στην Ελλάδα. *13ο Πανελλήνιο Κτηνιατρικό Συνέδριο* (σελ. 51). Αθήνα: Ελληνική Κτηνιατρική Εταιρεία.

   Gourzioti, E., Kolygas, M.N., Athanassopoulou, F., Pappas I., Babili V. (2015). Study of the seasonality and the infection rate from the bacterium Tenacibaculum maritinum, in farmed marine fish in Greece. *13th Pan-hellenic Veterinary Congress* (pp. 51).Athens, Greece: Hellenic Veterinary Medical Society.

4. Κολύγας, Μ.Ν., **Γουρζιώτη, Ε.**, Χατζόπουλος, Α., Αθανασοπούλου, Φ., Παππάς, Ι. (2015). Τοξική δράση της νικλοζαμίδης στα ψάρια. *13ο Πανελλήνιο Κτηνιατρικό Συνέδριο* (σελ. 52). Αθήνα: Ελληνική Κτηνιατρική Εταιρεία.

   Kolygas, M.N., **Gourzioti, E.**, Chatzopoulos, A., Athanassopoulou, F., Pappas, I. (2015). Toxic effects of niclosamide in fish. *13th Pan-hellenic Veterinary Congress* (pp. 52). Athens, Greece: Hellenic Veterinary Medical Society.

5. Κολύγας, Μ.Ν., Χατζόπουλος, Α., **Γουρζιώτη, Ε.,** Παππάς, Ι., Αθανασοπούλου, Φ. (2015). Εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της νικλοζαμίδης ως αντιπαρασιτικής ουσίας έναντι των μονογενών εκτοπαρασίτων σε θαλάσσια εκτρεφόμενα ψάρια. 1*3ο Πανελλήνιο Κτηνιατρικό Συνέδριο* (σελ. 52). Αθήνα: Ελληνική Κτηνιατρική Εταιρεία.

   Kolygas, M.N., Chatzopoulos, A., **Gourzioti, E.**, Pappas, I., Athanassopoulou, F. (2015). Assessment of the effectiveness of niclosamide as antiparasitic agent against monogenic ectoparasites in farmed marine fish. *13th Pan-hellenic Veterinary Congress* (pp. 52). Athens, Greece: Hellenic Veterinary Medical Society.

6. Κολύγας, Μ.Ν., Χατζόπουλος, Α., **Γουρζιώτη, Ε.**, Παππάς, Ι., Αθανασοπούλου, Φ. (2015). Φαρμακοκινητικές παράμετροι της νικλοζαμίδης σε ιστούς σε εκτρεφόμενες τσιπούρες μετά από εφάπαξ per os χορήγηση για καταπολέμηση μονογενών εκτοπαρασίτων.*13ο Πανελλήνιο Κτηνιατρικό Συνέδριο* (σελ. 52). Αθήνα: Ελληνική Κτηνιατρική Εταιρεία.

   Kolygas, M.N., Chatzopoulos A., **Gourzioti, E.**, Pappas I., Athanassopoulou, F. (2015). Pharmacokinetic parameters of niclosamide in tissues of farmed sea bream after single administration per os for the treatment of monogenic ectoparasites. *13th Pan-hellenic Veterinary Congress* (pp. 52). Athens, Greece: Hellenic Veterinary Medical Society.

7. **Γουρζιώτη, Ε.**, Κολύγας, Μ.Ν., Αθανασοπούλου, Φ., Παππάς, Ι.Σ. (2014). Επίδραση του υπεροξειδίου του υδρογόνου και της χλωραμίνης Τ στην αντιμετώπιση της νόσου της μυξοβακτηριδίασης, μετά από πειραματικές μολύνσεις σε τσιπούρες και λαβράκια. *3ο Πανελλήνιο Συνέδρίο Κτηνιατρικής Παραγωγικών Ζώων και υγιεινής τροφίμων* (σελ. 58). Ιωάννινα: Ελληνική Κτηνιατρική Εταιρεία.

   Gourzioti, E., Kolygas, M.N., Athanassopoulou, F., Pappas, I.S. (2014). Efficacy of hydrogen peroxide and chloramine T in the treatment of myxobacteriosis disease, after experimental infections in sea bream and sea bass. *3rd Pan-hellenic Veterinary Congress of Productive Animals and food hygiene* (pp. 58). Ioannina, Greece: Hellenic Veterinary Medical Society.

8. **Γουρζιώτη, Ε.**, Κολύγας, Μ.Ν., Αθανασοπούλου, Φ. (2014). Τράπεζα Αναφοράς Μυξοβακτηριδίων από τις ελληνικές, θαλάσσιες ιχθυοκαλλιέργειες. Αποτελέσματα. *3ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κτηνιατρικής Παραγωγικών Ζώων και υγιεινής τροφίμων* (σελ. 72-73). Ιωάννινα.:Ελληνική Κτηνιατρική Εταιρεία.

   Gourzioti, E., Kolygas, M.N., Athanassopoulou, F. (2014). Bank reference for Myxobacteria from Greek aquaculture farms. Results. *3rd Pan-hellenic Veterinary Congress of Productive Animals and food hygiene* (pp. 72-73). Ioannina, Greece: Hellenic Veterinary Medical Society.

9. **Γουρζιώτη, Ε.,** Κολύγας, Μ.Ν., Αθανασοπούλου, Φ. (2014). Ανάπτυξη πειραματικού μοντέλου μόλυνσης με το βακτήριο Tenacibaculum maritimum σε ιχθύδια τσιπούρας και λαβρακιού. *3ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κτηνιατρικής Παραγωγικών Ζώων και υγιεινής τροφίμων* (σελ. 115). Ιωάννινα: Ελληνική Κτηνιατρική Εταιρεία.

   Gourzioti, E., Kolygas, M.N., Athanassopoulou, F. (2014). Development of an experimental infection model with the bacterium Tenacibaculum maritimum in sea bream and sea bass. 3*rd Pan-hellenic Veterinary Congress of Productive Animals and food hygiene* (pp. 115). Ioannina, Greece: Hellenic Veterinary Medical Society.

10. **Γουρζιώτη, Ε.,** Κολύγας, Μ.Ν., Αθανασοπούλου, Φ., Παππάς, Ι.Σ. (2014). Απομόνωση και ταυτοποίηση του Tenacibaculum maritimum σε περιστατικά της νόσου μυξοβακτηριδίασης σε θαλασσινά εκτρεφόμενα ψάρια, στην Ελλάδα. *3ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κτηνιατρικής Παραγωγικών Ζώων και υγιεινής τροφίμων* (σελ. 72). Ιωάννινα: Ελληνική Κτηνιατρική Εταιρεία.

    Gourzioti, E., Kolygas, M.N., Athanassopoulou, F., Pappas, I.S. (2014). Isolation and identification of Tenacibaculum maritimum in outbreaks of the disease in farmed marine fish, in Greece. *3rd Pan-hellenic Veterinary Congress of Productive Animals and food hygiene* (pp. 72). Ioannina, Greece: Hellenic Veterinary Medical Society.

11. Κολύγας, Μ.Ν., **Γουρζιώτη, Ε.**, Αθανασοπούλου, Φ. (2013). Πρώτη εμφάνιση μυκητίασης σε εκτρεφόμενα θαλασσινά ψάρια του είδους Pagrus pagrus (Linnaeus, 1758) (Φαγκρί) από Exophiala sp.στην Ελλάδα. *15ο Πανελλήνιο Συ-*

νέδριο Ιχθυολόγων (σελ. 379-382). Θεσσαλονίκη: Πανελλήνιος Σύλλογος Ιχθυολόγων Δημοσίου.

Kolygas, M.N., Gourzioti, E., Athanasopoulou, F. (2013). First incident of mycosis in marine cultured red porgy (Pagrus pagrus Linnaeus, 1758) caused by Exophiala sp. in Greece. *15th Pan-Hellenic Conference of Ichthyologists* (pp. 379-382). University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece: Pan-hellenic Association of State Ichthyologists.

12. **Γουρζιώτη, Ε.**, Κολύγας, Μ.Ν., Μαντέ, Μ., Αθανασοπούλου, Φ. (2013). Μελέτη παθολογικών προβλημάτων του μεσογειακού είδους μυλοκόπι Umbrina cirrosa (Linnaeus, 1758) σε μονάδα εντατικής εκτροφής στην περιοχή του Διαύλου Ωρεών: προκαταρκτικά αποτελέσματα. *15ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιχθυολόγων* (σελ. 355-358). Θεσσαλονίκη: Πανελλήνιος Σύλλογος Ιχθυολόγων Δημοσίου.

    Gourzioti, E., Kolygas, M.N., Mante, M., Athanassopoulou, F. (2013). Study of pathological problems of Mediterranean species of shi drum Umbrina cirrosa (Linnaeus, 1758) in an aquaculture farm placed in Channel Oreos.*15th Pan-Hellenic Conference of Ichthyologists* (pp. 355-358). University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece: Pan-hellenic Association of State Ichthyologists.

13. **Κολύγας, Μ.Ν.,** Γουρζιώτη, Ε., Αθανασοπούλου, Φ., Καταραχιάς, Π. (2012). Η παρουσία του βακτηρίου Tenacibaculum maritimum σε εκτρεφόμενα θαλασσινά είδη ψαριών στην Ελλάδα. *12ο Πανελλήνιο Κτηνιατρικό Συνέδριο* (σελ. 101). Αθήνα: Ελληνική Κτηνιατρική Εταιρεία.

    Kolygas, M.N., Gourzioti, E., Athanassopoulou, F., Katarahias, P. (2012). The presence of Tenacibaculum maritimum in farmed marine fish in Greece. *12th Pan-hellenic Veterinary Congress* (pp. 101). Athens, Greece: Hellenic Veterinary Medical Society.

14. **Γουρζιώτη, Ε.**, Κολύγας, Μ. Ν., Αθανασοπούλου, Φ., Παππάς, Ι. Σ., Ευαγγελοπούλου, Γ.Δ. (2012). Βιοχημική και μοριακή ταυτοποίηση μυξοβακτηρίων από εκτρεφόμενες τσιπούρες και λαβράκια στην Ελλάδα. *12ο Πανελλήνιο Κτηνιατρικό Συνέδριο* (σελ. 101-102). Αθήνα : Ελληνική Κτηνιατρική Εταιρεία.

    Gourzioti, E., Kolygas, M.N., Athanassopoulou, F., Pappas, I.S., Evangelopoulou, G.D. (2012). Biochemical and Molecular identification of Myxobacteria from cultured sea bass and sea bream in Greece. *12th Pan-hellenic Veterinary Congress* (pp. 101-102). ss1Athens, Greece:Hellenic Veterinary Medical Society.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Ευγενία Γουρζιώτη** γεννήθηκε στις 26-8-1983 στα Τρίκαλα. Είναι πτυχιούχος του Τμήματος Κτηνιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (2007). Καθ' όλη τη διάρκεια των προπτυχιακών σπουδών της (2001-2005), λάμβανε την Ετήσια Υποτροφία του ΙΚΥ για άριστη επίδοση, ενώ το 2008 έλαβε το βραβείο « ΗΡΑΚΛΗΣ ΠΑΝΑΓΟΠΟΥΛΟΣ» για το βαθμό πτυχίου της, μεταξύ των αποφοίτων του Τμήματος Κτηνιατρικής του Π.Θ.

Συνέχισε με Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης (Master's Degree), με τίτλο « Παθολογικά Προβλήματα εκτρεφόμενων υδρόβιων οργανισμών», του ίδιου Τμήματος του ΠΘ, σε σύμπραξη με το ΤΕΙ Ηπείρου (2010).

Το 2014, με υποτροφία « Ηράκλειτος ΙΙ», έλαβε το Διδακτορικό της Δίπλωμα Ειδίκευσης με θέμα: «Μελέτη της Μυξοβακτηριδίασης σε εντατικές καλλιέργειες υδρόβιων θαλάσσιων ειδών στην Ελλάδα», με βαθμό «Άριστα» (10).

Από το 2010, συμμετέχει στη διδασκαλία των θεωρητικών παραδόσεων και εργαστηρίων των μαθημάτων «Ιχθυολογία & Ιχθυοπαθολογία» στο Τμήμα Κτηνιατρικής του Πανεπιστήμιου Θεσσαλίας κι από το 2012, στη διδασκαλία του Μεταπτυχιακού

Προγράμματος Σπουδών «Υδατοκαλλιέργειες-Παθολογικά προβλήματα εκτρεφόμενων υδρόβιων οργανισμών» του ίδιου Τμήματος, σε σύμπραξη με το Τμήμα Ιχθυοκομίας-Αλιείας Τ.Ε.Ι. Ηπείρου.

Ασχολήθηκε με τη διερεύνηση των νοσημάτων των εκτρεφόμενων υδρόβιων οργανισμών, κυρίως των ευρύαλων ψαριών, με ιδιαίτερη έμφαση στη μελέτη των ιστοπαθολογικών αλλοιώσεων που εμφανίζονται στα βακτηριακά νοσήματα και στην καλλιέργεια και απομόνωση βακτηριακών στελεχών.

Έχει εργαστεί ως Κτηνίατρος για τον ΟΠΕΚΕΠΕ ΤΡΙΚΑΛΩΝ-ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ (2007-2008), ως συνεργάτιδα – βοηθός κτηνιατρείου στον « Κτηνιατρικό Οίκο» (Τρίκαλα, 2008-2010, 2012 έως σήμερα), ως εξωτερική επιστημονική συνεργάτιδα- ιχθυοπαθολόγος της « ΑΦΟΙ ΔΗΜ. ΜΑΝΤΕ & ΣΙΑ Ο.Ε. – ΘΑΛΑΣΣΙΕΣ ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ» (Πελασγία, Φθιώτιδα, 2012 έως σήμερα) και ως επιστημονική συνεργάτιδα του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (2012 έως σήμερα).

E-mail: jennygour@hotmail.co.uk

Short CV

Evgenia Gourzioti was born in 26-8-1983, in Trikala, Greece. She holds a Degree by the Faculty of Veterinary Science, School of Health Sciences, University of Thessaly (2007). During her undergraduate studies (2001-2005), she was being awarded the Annual Scholarship by IKY (State Scholarships Foundation) for her excellent performance. Also, in 2008, she received the prize “IRAKLIS PANAGOPOULOS” for the best Degree Grade between the graduates of the Faculty of Veterinary Science, University of Thessaly.

She continued with a Master’s Degree in Aquatic Veterinary Studies, titled “Aquaculture-Aquatic Animal Health” by the same Department of the University of Thessaly in a co-operation with TEI (Technological Educational Institute) of Epirus (2010).

In 2014, funded by a “Heraclitus II” scholarship, she was awarded a Doctoral Diploma of Specialization, on the subject: “Study of myxobacteriosis in intensive farms of aquaculture species in Greece”, with grade “Excellent” (10).

Since 2010, she has been participating in the tuition of theoretical and laboratory lessons of “Ichthyology and Ichthyopathology” in the Faculty of Veterinary Science, School of Health Sciences, University of Thessaly and since 2012, in the tuition of the Postgraduate Programme “Aquaculture-Aquatic Animal Health” by the same Department of the University of Thessaly in a co-operation with the Department of Fisheries, TEI (Technological Educational Institute) of Epirus (2010).

She has experience with the investigation of diseases regarding farmed aquatic species, especially euryhaline fish species, with special emphasis in the study of histopathological lesions, which appear in bacterial diseases and also in the cultivation and isolation of bacterial pieces.

She has worked as a vet for Greek Payment Agency (O.P.E.K.E.P.E.) in Trikala–Thessaly (2007-2008), as a co-operator assistant in the Clinic “Ktiniatrikos Oikos” (Trikala, 2008-2010, 2012 up to today), as an external scientific co-operator ichthyopathologist for the company “MANTE BROS & CO-Marine Aquacultures” (Pelasgia, Fthiotida, 2012 up to today) and as a scientific co-operator in the Faculty of Veterinary Science at University of Thessaly,

E-mail: jennygour@hotmail.co.uk

Μάρκος Κολύγας

Εφαρμογή πρωτότυπων θεραπευτικών αγωγών για την αποτελεσματική καταπολέμηση των εξωπαρασιτώσεων όπως αυτές εμφανίζονται στις εντατικές καλλιέργειες ειδών ψαριών μεσογειακής καλλιέργειας

Περίληψη

Η διατριβή είναι χωρισμένη σε τέσσερις θεματικές ενότητες.

Στην πρώτη ενότητα, μελετήθηκε ο βαθμός παρασίτωσης, η εποχικότητα και η παθολογία των εξωπαρασιτώσεων στα εκτρεφόμενα είδη. Παράλληλα, διερευνήθηκε το ποιοτικό και ποσοτικό παρασιτικό προφίλ των άγριων πληθυσμών, με σκοπό να τεκμηριωθεί εάν αυτοί ευθύνονται για τις παρασιτώσεις των εκτρεφόμενων και ποια η ειδοειδική σχέση μεταξύ παρασίτων και ψαριών.

Από τα αποτελέσματα προέκυψαν σημαντικά συμπεράσματα ειδοειδικής ηθολογίας, μεταξύ των παρασίτων και των ξενιστών τους. Δηλαδή, συγκεκριμένα είδη παρασίτων εμφανίζονται σε συγκεκριμένα είδη ψαριών, με παρουσία επίμονη τόσο στους εκτρεφόμενους όσο και στους άγριους πληθυσμούς, αυτό φαίνεται να ισχύει περισσότερο στα μονογενή, διγενή και κωπήποδα παράσιτα και όχι στα κεστώδη που εμφανίζουν μικρή ειδικότητα ξενιστών.

Στη δεύτερη θεματική ενότητα, διερευνήθηκε η τοξική δράση δύο αντιπαρασιτικών ουσιών, της νικλοσαμίδης, που είναι ένα ταινιοκτόνο- μαλακιοκτόνο και της εμαμεκτίνης, που έχει κωπηποδοκτόνες ιδιότητες. Μέσα από διάφορα δοσολογικά σχήματα per os χορήγησης, διαπιστώθηκε πως η νικλοσαμίδη είναι ασφαλής σε υψηλή-βραχυχρόνια χορήγηση (60ppm/kgx 3d) όπως επίσης και σε χαμηλή-μακροχρόνια (20ppm/kgx10d). Παρ' όλα αυτά, σε ημερήσια χορήγηση πάνω από 100ppm/kg βιομάζας, η νικλοσαμίδη φάνηκε να είναι ελαφρά τοξική για τα ψάρια, καθώς παρουσίασαν αλλαγή στο χρωματισμό, απάθεια, ληθαργικότητα, ανωμαλία πλεύσης και ασκίτη. Ιστοπαθολογικά ευρήματα υπέδειξαν νεφροτοξικότητα και ατροφία του εντερικού βλεννογόνου. Δοσολογικά σχήματα που ξεπερνούν τα 100ppm/ ημέρα είναι θανατηφόρα για τα ψάρια, με τον επερχόμενο χρόνο θανάτου να είναι αντιστρόφως ανάλογος της δόσης εφαρμογής. Σε μεγάλες δόσεις, ο θάνατος είναι βίαιος, πιθανότατα εξαιτίας καρδιακής ανακοπής και για το λόγο αυτό, τα ιστοπαθολογικά ευρήματα είναι ασαφή. Για να μειωθεί ο κίνδυνος τοξίκωσης από υπερδοσία εξαιτίας υπερβολικής κατανάλωσης φαρμακούχας τροφής από τα ψάρια, θα πρέπει σε επίπεδο εκτροφής η ουσία να εφαρμόζεται σε όλη την ποσότητα του πρωινού γεύματος και όχι σε μέρος αυτού. Η εμαμεκτίνη, ως καλά μελετημένο και αδειοδοτημένο φάρμακο στη Νορβηγία ενάντια στα θαλάσσια κωπήποδα παράσιτα του σολομού δεν υπέδειξε τοξική δράση στα ψάρια, ακόμα και σε δόσεις 100πλάσιες της προτεινόμενης.

Στην τρίτη θεματική ενότητα, έγινε έλεγχος της αντιπαρασιτικής δράσης της εμαμεκτίνης και της νικλοσαμίδης, μετά από χορήγηση σε ιχθύες φυσικά μολυσμένους με παράσιτα. Η αντιπαρασιτική δράση ελέγχθηκε τόσο εργαστηριακά όσο και στο πεδίο. Εργαστηριακά διαπιστώθηκε πως η νικλοσαμίδη δρα ενάντια στα μονογενή παράσιτα και δη σε γένη όπως *Lamellodiscus echeneis (Furnestinia), Diplectanum* και *Sparicotyle* που είναι γνωστοί παρασιτικοί αιτιολογικοί παράγοντες στις ιχθυοεκτροφές της Μεσογείου, ενώ η εμαμεκτίνη δρα ενάντια στα κωπήποδα και δη στα γένη *Caligus* και *Lernanthropus*. Η δράση και των δύο φαρμάκων ελέγχθηκε σε πραγματικές συνθήκες εκτροφής, με την εμαμεκτίνη να είναι δραστική στο σύνηθες δοσολογικό σχήμα (0,1μg/kg/dx 10d), μειώνοντας το συνολικό παρασιτικό φορτίο ανά ψάρι έως και 68% την 30η ημέρα. Η νικλοσαμίδη, αν και εργαστηριακά κατάφερε πρακτικά να μηδενίσει το παρασιτικό φορτίο των ψαριών, εντούτοις τα αποτελέσματα στο πεδίο ήταν λιγότερο εντυπωσιακά αλλά εξίσου σημαντικά, καθώς το συνολικό παρασιτικό φορτίο ανά βράγχιο μειώθηκε σε ποσοστό 88,5% τη 17η ημέρα στο δοσολογικό σχήμα των 60ppm/kg/dx 5 d. Το πραγματικό πλεονέκτημα των δύο αυτών αντιπαρασιτικών ουσιών δεν είναι η αντιπαρασιτική τους δράση αυτή καθαυτή, αλλά το γεγονός πως παραμένουν δραστικά ακόμη και με *per* os χορήγηση, η οποία πλεονεκτεί των λοιπών τρόπων εφαρμογής (λουτρά).

Στην τέταρτη θεματική ενότητα, έγινε έλεγχος των φαρμακοκινητικών παραμέτρων της νικλοσαμίδης. Ο χρόνος ημίσειας ζωής ($t_{1/2}$) στο δέρμα υπολογίστηκε στις 150h, οπότε πρακτικά ο χρόνος αναμονής ανέρχεται στις 787 βαθμοημέρες (χρειάζεται να παρέλθει 6 φορές ο χρόνος αναμονής της ουσίας για να είναι μη ανιχνεύσιμη στους ιστούς). Εκτός των παραπάνω, υπολογίστηκαν και λοιπές φαρμακοκινητικές παράμετροι, όπως κάθαρση πλάσματος (CL_{pl})(0,84 L/h/Kg), μέγιστες συγκεντρώσεις ιστών (C_{max}, σταθερά ρυθμού αποβολής (K_{el}=0,0138) καθώς επίσης και ο μέσος χρόνος αναμονής (MRT_{pl}= 44 h). Έλεγχος των φαρμακοκινητικών παραμέτρων

της εμαμεκτίνης δεν έγινε σ' αυτή τη θεματική ενότητα, καθώς έχει εκτενώς διερευνηθεί από πρόσφατες εργασίες.

Λέξεις κλειδιά: Εκτοπαράσιτα, μονογενή, Νικλοσαμίδη, Εμαμεκτίνη

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Φ. Αθανασοπούλου, Καθηγήτρια, Εργαστήριο Ιχθυοπαθολογίας, Ιχθυολογίας & Υδατοκαλλιεργειών, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας *(επιβλέπουσα)*

Ι. Πάσχος, Ομότιμος Καθηγητής, Τμήμα Ιχθυοκομίας & Αλιείας, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Ηπείρου

Ι. Παππάς, Αναπληρωτής Καθηγητής, Εργαστήριο Φαρμακολογίας και Τοξικολογίας, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Markos Kolygas

Implementation of innovatory and efficacious treatments against ectoparasites of intensive cultured Mediterranean fish

Abstract

Current thesis is divided into 4 thematic Chapters.

The 1st Chapter is dealing with the parasitic relatedness between cultured and wild fish populations and the role of the former as passive parasitic transmitters to the latter. In order to investigate the above hypotheses, a thorough research upon the quantitative- qualitative parasitic profile was conducted, taking into account several parameters, such as season, clinical manifestations and histopathological findings.

The results indicated strong behavioural patterns between parasites and fish species. That is, most of the monogenean and trematoda parasites infect specific fish species, showing high host specificity, but cestodes presented low host specificity infecting a wide range of marine teleosts.

In the 2nd Chapter, two antiparasitic substances –niclosamide and emamectin- were concluded in fish toxicity tests, through several *per os* administrational regimens. As far as niclosamide is concerned, 60ppm/kg/d for 3days and 20ppm/kg/d for 10 days regimens were sublethal and safe, demonstrating normal kidney and liver histological findings. Daily doses of 100 ppm indicated slightly toxic manifestations such as pigmentation abnormalities, lethargy, apathy and askitis. Histopathological findings focused mainly on the atrophy of the intestinal mucosa and glomeruli disorganization. Regimes that exceed daily intake of 100 ppm niclosamide are highly toxic. Toxicity immediates rapidly due to cardiac arrest and in most of the cases no histopathological signs were visible. In order to reduce overdose minifestations, niclosamide should be applied in the whole quantity of the first meal in cultured fish and not on a part of it. Emamectin, as a well studied and registered antiparasitic drug in Norway, did not indicate any kind of toxicity, whatsoever.

In The 3rd Chapter, optimum sublethal and subtoxic regimens of the previous (2nd) Chapter were challenged against naturally infected fish with ectoparasites, on laboratory conditions. The final curative doses were tested in field trials. Niclosamide regimen of 60ppm/kg biomass/d for 5 days is effective against *Sparicotyle*, *Diplectanum* and *Lamellodiscus*, capable of decreasing the total parasitic load up to 88,5% (17th day). Emamectin regimen of 0,1μg/kg/d for 10 days is effective against *Caligus* and *Lernanthropus* genera, by reducing the total parasitic load per fish up to 68% (30th day). As a conclusion, both compounds have an advantage over current antiparasitic applications through immersion, for they can be effective via per os administration.

In the 4th Chapter, pharmacokinetics and bioavailability of niclosamide were studied after single administration of niclosamide, via injection and per os, respectively. The distribution of the substance in target- tissues was also calculated through time. Half-time period in skin **($t1/2_{(skin)}$)** was approximately 150 h in 21 ^{0}C, which can be generally expressed as 787 degree-days (6 period half-time periods need to reduce niclosamide concentrations below minimum tracing levels. Other pharmacokinetic parameters in plasma were: **AUC_{plasma}** (2863 h*ng/L), **Vd_{plasma}** (60,8 L/kg), **CL_{plasma}**(0,84 L/h/kg), $K_{el(plasma)}$(0.013 L/h) and **MRT_{plasma}**(44 h). Pharmacokinetic parameters of emamectin were not calculated for they have been extensively studied in previous studies.

Key words: ectoparasites, monogenea, niclosamide, emamectine

Three - Member Supervising Committee

F. Athanasopoulou, Professor, Laboratory of Ichthyology, Fish Diseases and Aquaculture, Faculty of Veterinary Sciences, University of Thessaly, Greece *(supervisor)*

I. Paschos, Emeritus Professor, Department of Fisheries, Technological Educational Institute of Epirus, Greece

I. Pappas, Associate Professor, Laboratory of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Veterinary Sciences, University of Thessaly, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme “Heraclitus II”

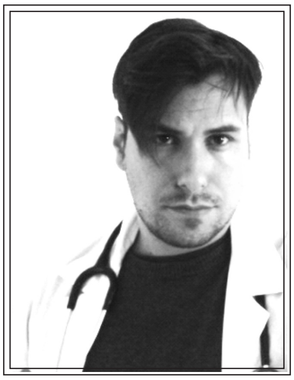
Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Kolygas, M.N.**, Gourzioti, E., Vatsos, I.N., Athanasopoulou, F. (2012). Identification of Tenacibaculum maritimum strains from marine farmed fish in Greece. *Journal of Veterinary Record 170*(24), 623-625.

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων - βιβλία περιλήψεων Presentations in conference proceedings - books of abstracts

1. **Κολύγας, Μ.Ν.**, Γουρζιώτη, Ε., Αθανασοπούλου, Φ. (2013). Πρώτη εμφάνιση μυκητίασης σε εκτρεφόμενα θαλασσινά ψάρια του είδους Pagrus pagrus (Linnaeus, 1758) (Φαγκρί) από Exophiala sp. στην Ελλάδα. *15ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιχθυολόγων* (σελ. 379-382). Θεσσαλονίκη: Πανελλήνιος Σύλλογος Ιχθυολόγων Δημοσίου.

   Kolygas, M.N., Gourzioti, E., Athanasopoulou, F. (2013). First incident of mycosis in marine cultured red porgy (Pagrus pagrus Linnaeus, 1758) caused by Exophiala sp. in Greece. *15th National Conference of Icthyologists* (pp. 379-382).Thessaloniki, Greece: Pan-Hellenic association of Ichthyologists.



Σύντομο Βιογραφικό

Ο **Μάρκος Κολύγας** γεννήθηκε στις 9 Απρίλη 1981 στην Αθήνα. Είναι πτυχιούχος του Τμήματος Ιχθυοκομίας-Αλιείας του Τ.Ε.Ι. Ηπείρου. Κατά τη διάρκεια των προπτυχιακών του σπουδών, έλαβε για τα έτη 2001-02 και 2002-03 την Ετήσια Υποτροφία του ΙΚΥ για άριστη επίδοση, ενώ το 2005 έλαβε την υποτροφία «Leonardo Da Vinci», μέσα από την οποία εργάστηκε ως βοηθός κλινικής έρευνας (CRA) στον Κτηνιατρικό τομέα Έρευνας και Τεχνολογίας της φαρμακοβιομηχανίας Pfizer®στη Μεγάλη Βρετανία. Τελείωσε τις σπουδές του με βαθμό «Άριστα» (8,53).

Το 2010, ολοκλήρωσε το Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης (Master’s Degree), με τίτλο «Παθολογικά Προβλήματα εκτρεφόμενων υδρόβιων οργανισμών», του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (Π.Θ.) σε σύμπραξη με το ΤΕΙ Ηπείρου, ενώ το 2011, απέκτησε το Πιστοποιητικό Παιδαγωγικής και Διδακτικής Επάρκειας του προγράμματος παιδαγωγικής κατάρτισης (ΕΠΠΑΙΚ) της Ανώτατης Σχολής Παιδαγωγικής και Τεχνολογικής Εκπαίδευσης (ΑΣΠΑΙΤΕ), με βαθμό «Άριστα» (8.5).

Το 2014, με υποτροφία « Ηράκλειτος ΙΙ», έλαβε Διδακτορικό Δίπλωμα Ειδίκευσης με θέμα: «Εφαρμογή πρωτότυπων θεραπευτικών αγωγών για την αποτελεσματική καταπολέμηση των εξωπαρασιτώσεων όπως αυτές εμφανίζονται στις εντατικές καλλιέργειες ειδών ψαριών μεσογειακής καλλιέργειας», με βαθμό «Άριστα» (10).

Από το 2007 έως και το 2011, εργάστηκε ως ιχθυολόγος στους ομίλους εταιρειών Nireus SA και Selonda SA, ειδικευόμενος πάνω στην παραγωγή και εκτροφή ευρύαλων μεσογειακών ψαριών, ενώ από το 2012, συμμετέχει στη διδασκαλία του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών «Υδατοκαλλιέργειες-Παθολογικά προβλήματα εκτρεφόμενων υδρόβιων οργανισμών» του Π.Θ.

Το 2011, εισήχθη μέσω κατατακτήριων εξετάσεων στο τμήμα Κτηνιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Έως τώρα (2014), έχει 4 ερευνητικές δημοσιεύσεις και 15 ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια.

E-mail: kolygasmarkos@yahoo.gr

Short CV

Markos Kolygas was born in 1981, in Athens. In 2006, he obtained his B.Sc. in Ichthyology (Aquaculture & Fisheries Management) from the Technological Educational Institute of Epirus. During his studies (2001-02 and 2002-03), he received the highest grade point average (GPA) award from the Governmental Institution of Scholars, Greece, while in 2005, he received the “Leonardo Da Vinci” scholarship, funded by the European commission.

In 2010, he was granted a M.Sc. in “Aquatic Animal Health” from the Faculty of Veterinary Science of the University of Thessaly (Karditsa, Greece) and in 2011, he obtained the Certificate of Pedagogical and Teaching Competence from the School of Pedagogical and Technological Education of Ioannina, Greece.

In 2011, he received the “Heraclitus II” scholarship, which gave him the opportunity for a PhD in pathology of aquatic animals. In 2014, he submitted his Thesis under the title: “Implementation of Innovatory and Efficacious Treatments Against Ectoparasites of Intensive Cultured Mediterranean Fish”.

In 2005, he worked as a Clinical Research Associate in the companion animal R & D at Pfizer ® Ltd, UK., Pharmaceutical company. From 2007 to 2011, he worked as an ichthyologist in the Companies Group Nireus SA and Selonda SA, specialized in Mediterranean fish production and culture. From 2012, he teaches in the Master Study Courses “Aquaculture” and “Pathology of Aquatic Animals” at University of Thessaly, Greece.

In 2011, he was admitted with exams to the Faculty of Veterinary Science at the School of Health Sciences of the University of Thessaly, Greece. So far (2014), Markos Kolygas has 4 publications in scientific journals and 15 studies published as abstracts in conference proceedings.

E-mail: kolygasmarkos@yahoo.gr

Φωτεινή Κρανιά

Επίδραση ειδικών πρωτεολυτικών ενζύμων στην εξωσωματική παραγωγή και στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των εμβρύων αγελάδων

Περίληψη

Στη διατριβή αυτή, μελετάται η επίδραση της τροποποίησης των in vitro υποστρωμάτων της γονιμοποίησης και της καλλιέργειας των εμβρύων με t-PA και u-PA, αντίστοιχα, στα ποσοστά παραγωγής των βλαστοκύστεων, αλλά και στην ποιότητά τους, αναλύοντας την έκφραση μιας σειράς γονιδίων που συνδέονται με την ικανότητα ενός εμβρύου να επιβιώσει ή να διακόψει την ανάπτυξή του. Προσδιορίσθηκε, επίσης, η δραστηριότητα των ενεργοποιών του πλασμινογόνου (plasminogen activator activity, PAA) και των αδρανοποιών τους (plasminogen activator inhibition, PAI) στα υποστρώματα της in vitro γονιμοποίησης (*in vitro* fertilization, IVF) και της *in vitro* καλλιέργειας (*in vitro* culture, IVC), όλων των πειραματικών ομάδων.

Στο 1ο πείραμα χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 2016 συμπλέγματα ωαρίων-κυττάρων του ωοφόρου δίσκου (COCs), τα οποία χωρίστηκαν, ανάλογα με την τροποποίηση του υποστρώματος της IVF: στην ομάδα μαρτύρων [control], στην ομάδα της οποίας τα υποστρώματα τροποποιήθηκαν με προσθήκη t-PA [t-PA], στην ομάδα που εκτός από t-PA ίδιας δραστηριότητας με την προηγούμενη, περιείχε και τον αναστολέα της πλασμίνης και των ενεργοποιών του πλασμινογόνου, ε-αμινοκαπροϊκό οξύ (ε-ACA) [t-PA+ε-ACA] και στην ομάδα στην οποία η τροποποίηση αφορούσε μόνο στην προσθήκη ε-ACA [ε-ACA]. Το 2ο πείραμα περιλαμβάνει δύο υποκατηγορίες πειραμάτων, όπου η επίδραση της προσθήκης του u-PA μελετήθηκε σε απογυμνωμένα έμβρυα, τα οποία καλλιεργήθηκαν σε ημι-καθορισμένες συνθήκες (πείραμα 2.α, συνολικά 1631 πιθανά ζυγωτά) και σε έμβρυα, τα οποία καλλιεργήθηκαν σε μη-καθορισμένες συνθήκες και με την παρουσία μιας μονοστιβάδας κυττάρων του ωοφόρου δίσκου (πείραμα 2.β, συνολικά 629 πιθανά ζυγωτά).

Η διαδικασία της IVP περιλαμβάνει τη συλλογή των ωοθηκών αγελάδων αμέσως μετά τη σφαγή τους, την αναρρόφηση των ωοθυλακίων τους, την επιλογή των COCs και την 24ωρη ωρίμανσή τους σε κατάλληλο υπόστρωμα ωρίμανσης, κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες επώασης (39 ^{o}C, 5% CO_2, 20% O_2 και μέγιστη υγρασία). Η γονιμοποίησή τους πραγματοποιήθηκε σε κατάλληλο υπόστρωμα IVF, με καταψυγμένο/αποψυγμένο σπέρμα ταύρου, στο οποίο οι γαμέτες συνεπωάστηκαν στις ίδιες συνθήκες, για 22 ώρες. Οι πιθανοί ζυγώτες καλλιεργούνταν σε ομάδες των 25, σε συνθετικό υγρό του ωαγωγού (SOF) εμπλουτισμένο με FCS (εκτός του 2.α πειράματος). Η καλλιέργεια των εμβρύων γινόταν σε συνθήκες 39 ^{o}C, 5% CO_2, 5% O_2, 90% N2 και μέγιστη υγρασία για 7 ή/και 8 ημέρες. Για την ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης και την εκτίμηση της ποιότητας των παραγόμενων εμβρύων, καταψύχονταν βλαστοκύστεις ημέρας 7 (D7), αλλά και πρώιμα έμβρυα, τα οποία βρίσκονταν στο στάδιο του μοριδίου [μορίδια 3ης και 4ης ημέρας (D3 και D4), μόνο για το 1ο πείραμα]. Η σχετική ποσοτικοποίηση της έκφρασης συγκεκριμένων γονιδίων έγινε με τη βοήθεια της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (real-time PCR). Για την αξιολόγηση της ποιότητας των παραγόμενων D7 βλαστοκύστεων χρησιμοποιήθηκαν τα γονίδια *PLAC8*, *AKR1B1*, *BIRC5* ή survivin, *BBC3* ή *PUMA*, *PGHS-2* ή *COX-2*, *BCL2L1*, *SLC2A5* ή *GLUT-5*, *MnSOD*, *PLG* και *PLAUR*, των οποίων η έκφραση μεταβάλλεται ανάλογα με την ποιότητα των εμβρύων. Για τη γονιδιακή ανάλυση των μοριδίων ημέρας 3 και 4 ελέγχθηκαν τα γονίδια *BAX*, *BCL2L1*, *PIPOX*, *G6PD*, *SLC2A5*, *MnSOD* και *KAT2B* ή *PCAF*.

Η προσθήκη, μόνο του t-PA (τελική δραστηριότητα 500 IU/ml) στο υπόστρωμα της IVF προκάλεσε σημαντική μείωση των ποσοστών αυλάκωσης (control: 84,8% ; t-PA: 65,8%) και σχηματισμού βλαστοκύστεων 7 (control: 30,1% ; t-PA: 13,3%) και 8 ημερών (control: 35% ; t-PA: 15,8%), ενώ η παράλληλη προσθήκη των t-PA και ε-ACA επανέφερε τα ποσοστά στα ίδια επίπεδα με εκείνα της ομάδας των μαρτύρων (αυλάκωση: 84,7% ; D7: 31,3% ; D8: 32,7%). Στην ομάδα του ε-ACA δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές στα ποσοστά ανάπτυξης των εμβρύων σε σχέση με την ομάδα μαρτύρων (αυλάκωση: 84,3% ; D7: 27,4% ; D8: 29,5%). Κατά τη γονιδιακή ανάλυση των μοριδίων, παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές στην έκφραση των γονιδίων *BAX* και *KAT2B*, στα D3 μορίδια της ομάδας των εμβρύων που γονιμοποιήθηκαν παρουσία t-PA, σε σχέση με αυτών της ομάδας μαρτύρων. Τα γονίδια αυτά σχετίζονται με την επαγωγή της απόπτωσης και τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου και ενδεχομένως οι παραπάνω μεταβολές της έκφρασής τους να εξηγούν τη μειωμένη ικανότητα ανάπτυξης των εμβρύων της ομάδας του t-PA. Κατά την ανάλυση

των D7 βλαστοκύστεων, παρατηρήθηκε υπερέκφραση του γονιδίου του πλασμινογόνου, το οποίο δεν εκφράζεται στα στάδια αυτά και υποέκφραση του αντι-αποπτωτικού γονιδίου *BCL2L1* στην ομάδα των εμβρύων t-PA, σε σχέση με εκείνων της ομάδας των μαρτύρων. Η αυξημένη PAA στην ομάδα του t-PA μειώθηκε σημαντικά, με την παράλληλη προσθήκη του ε-ACA στο υπόστρωμα της IVF, χωρίς όμως τα επίπεδά της να επανέρχονται στα αντίστοιχα της ομάδας των μαρτύρων. Ωστόσο, η προσθήκη μόνο του αναστολέα δεν μετέβαλε τα επίπεδα της PAA σε σχέση με την ομάδα των μαρτύρων. Τέλος, δεν παρατηρήθηκαν μεταβολές της PAI στα υποστρώματα και των 4 υπό μελέτη ομάδων.

Η τροποποίηση του υποστρώματος της IVC με u-PA, στη δεδομένη τελική δραστηριότητα (5 IU/ml) που χρησιμοποιήθηκε στη διατριβή αυτή, δεν επηρέασε τα ποσοστά της IVP ή την ποιότητα των παραγόμενων τροποποιημένων εμβρύων, όπως αποκαλύφθηκε από την ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης δέκα σημαντικών mRNA μεταγράφων. Σύμφωνα με τη μέθοδο της διαφορικής χρώσης των κυττάρων που εφαρμόστηκε στις παραγόμενες βλαστοκύστεις και των δύο ομάδων του 2.α πειράματος, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στο συνολικό αριθμό των κυττάρων των παραγόμενων εμβρύων, στην αναλογία των κυττάρων που προέρχονται από την εμβρυοβλάστη και την τροφοβλάστη και στο ποσοστό των αποπτωτικών κυττάρων. Για το πείραμα 2.α, εκτός από τα αυξημένα επίπεδα της PAA στην ομάδα u-PA, παρατηρήθηκαν επίσης σημαντικά αυξημένα επίπεδα της PAI έναντι του t-PA, ενδεχομένως λόγω της απελευθέρωσης PAI στο καλλιεργητικό περιβάλλον του εμβρύου. Στο πείραμα 2.β δεν παρατηρήθηκαν μεταβολές στην PAA και PAI μεταξύ των ομάδων μαρτύρων και u-PA, αν και η τροποποίηση του υποστρώματος της IVC ήταν αποτελεσματική, όπως αποδείχθηκε από τον ενζυμικό προσδιορισμό των υποστρωμάτων πριν την έναρξη της καλλιέργειας των εμβρύων (ημέρα 0). Τα παραπάνω αποτελέσματα υποστηρίζουν την ανάγκη του εμβρύου να αναπτύσσεται μέσα σε κατάλληλο περιβάλλον καλλιέργειας, όπου ενεργοποιοί του πλασμινογόνου και οι αδρανοποιοί τους βρίσκονται σε ισορροπία.

Συμπερασματικά λοιπόν, τα αποτελέσματα της διατριβής δείχνουν ότι η προσθήκη εξωγενούς t-PA στο υπόστρωμα της IVF προκαλεί μείωση των ποσοστών αυλάκωσης και παραγωγής εμβρύων βοοειδών. Όταν η εξωγενής αυτή PAA μειώνεται με την προσθήκη του αναστολέα του συστήματος, τα αποτελέσματα της IVP επανέρχονται στα φυσιολογικά επίπεδα. Από την ανάλυση της έκφρασης των επιλεγμένων γονιδιακών μαρτύρων αποκαλύφθηκε ότι η τροποποίηση με την προσθήκη εξωγενούς t-PA ενδεχομένως επηρεάζει αρνητικά και την ποιότητα των παραγόμενων πρώιμων εμβρύων, καθώς σε αυτά βρέθηκαν να επάγονται φαινόμενα, όπως η απόπτωση και η διακοπή του κυτταρικού κύκλου. Από την άλλη πλευρά, στο 2ο πείραμα, η τροποποίηση του υποστρώματος καλλιέργειας των εμβρύων με προσθήκη u-PA δεν επηρέασε την εξωσωματική παραγωγή και την ποιότητα των εμβρύων βοοειδών, είτε αυτά καλλιεργήθηκαν απογυμνωμένα από τη στιβάδα των κυττάρων του ωοφόρου δίσκου και σε υπόστρωμα ημι-καθορισμένων συνθηκών, είτε σε συγκαλλιέργεια σε μονοστιβάδα κυττάρων του ωοφόρου δίσκου και παρουσία ορού. Μολονότι η προσθήκη των δύο ενεργοποιών του πλασμινογόνου στα υποστρώματα της IVP δεν ευνόησε τα ποσοστά παραγωγής των εμβρύων βοοειδών, καθώς και την ποιότητα αυτών, αλλά αντιθέτως τα δυσχέραινε στην πρώτη πειραματική διαδικασία, περισσότερα πειράματα απαιτούνται για τη διαλεύκανση του επακριβούς ρόλου του συστήματος στην IVP. Σε κάθε περίπτωση, προκύπτει ότι οι δυο ενεργοποιοί αποτελούν παράγοντες που συμμετέχουν στη γονιμοποίηση και στην ανάπτυξη των εμβρύων, καθιστώντας ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα την αναζήτηση των πιθανών μηχανισμών δράσης και των αλληλεπιδράσεών τους κατά τη διάρκεια των παραπάνω διαδικασιών.

Λέξεις κλειδιά: εξωσωματική (*in vitro*) παραγωγή εμβρύων, έμβρυα βοοειδών, ενεργοποιός του πλασμινογόνου του ιστικού τύπου, ενεργοποιός του πλασμινογόνου του τύπου της ουροκινάσης, αδρανοποιοί των ενεργοποιών του πλασμινογόνου, γονιδιακή έκφραση, διαφορική χρώση κυττάρων, τροποποίηση υποστρωμάτων εξωσωματικής, γονιμοποίηση, καλλιέργεια εμβρύων, αυλάκωση, βλαστοκύστη, απόπτωση

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Γεώργιος Σ. Αμοιρίδης, Καθηγητής, Κλινική Μαιευτικής και Αναπαραγωγής, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας (*επιβλέπων*)

Ιωάννης Σ. Παππάς, Αναπληρωτής Καθηγητής, Εργαστήριο Φαρμακολογίας και Τοξικολογίας, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Κωνσταντίνος Α. Ρέκκας, Αναπληρωτής Ερευνητής, Ινστιτούτο Κτηνιατρικών Ερευνών ΕΛΓΟ – ΔΗΜΗΤΡΑ Θεσσαλονίκης

Fotini Krania

Effects of plasminogen activators / plasmin system on the in vitro bovine embryo production and quality

Abstract

Here, we examined the effects of *in vitro* fertilization (IVF) and *in vitro* culture (IVC) media modification with the addition of t-PA and u-PA, respectively, on bovine embryo development and quality, assessed by quantification of various genes' expression used as markers of embryo viability. Those genes characterize several important physiological processes such as metabolism, oxidation, implantation and apoptosis. Plasminogen activator activity (PAA) and plasminogen activator inhibition (PAI) were measured in all IVF and IVC spent media by a spectrophotometric method, using a chromogenic substrate.

In experiment 1, after conventional IVM, 2016 cumulus-oocyte complexes (COCs) were divided into 4 groups with modified composition of the IVF medium containing t-PA and/or its inhibitor epsilon-aminocaproic acid (control, t-PA, t-PA+ε-ACA, ε-ACA). t-PA was used at a final activity of 500 IU/ml, while inhibitor's final concentration was 10 mM. The 2nd experiment is divided into two subgroups, where the effect of IVC medium modification with 5 IU/ml of u-PA is examined on denuded embryos cultured in semi-defined synthetic oviductal fluid (SOF) for seven days (experiment 2.a, 1631 putative zygotes) and on embryos co-cultured on cumulus cells monolayer in serum-containing SOF medium (experiment 2.b, 629 putative zygotes). Bovine embryos were produced using a common IVP protocol; bovine ovaries were collected from abattoir material and COCs were obtained by 2-8 mm follicle aspiration. COCs were matured for 24 hours into TCM199 maturation media enriched with epidermal growth factor (EGF) and/or fetal calf serum (FCS), at 39 ^{o}C under 5% CO_2 in air and max humidity. Matured oocytes were inseminated with frozen / thawed bull sperm and gametes were co-incubated for 22 hours in standard IVF medium, at the same incubational conditions. Presumptive zygotes (groups of 25) were cultured in SOF medium containing FCS (except for 2.a experiment) and incubated for 7 and/or 8 days at 39 ^{o}C, under an atmosphere of 5% CO_2, 5% O_2 and 90% N_2. Gene expression studies were carried out on Day 7 blastocysts and Day 3 / Day 4 morulae (only for experiment 1). Relative quantification of all mRNA trancripts was performed using real-time polymerase chain reaction (real-time PCR). To evaluate the quality of produced embryos (Day 7 blastocysts), a set of genes has been selected to be analyzed (*PLAC8*, *AKR1B1*, *BIRC5* or survivin, *BBC3* or *PUMA*, *PGHS-2* or *COX-2*, *BCL2L1*, *SLC2A5* or *GLUT-5*, *MnSOD*, *PLG* and *PLAUR*); their expression is indicative of embryo quality. For Day 3 and Day 4 embryo gene analysis, another group of genes was selected to be studied (*BAX*, *BCL2L1*, *PIPOX*, *G6PD*, *SLC2A5*, *MnSOD* and *KAT2B* or *PCAF*).

In experiment 1, exogenous t-PA alone significantly suppressed cleavage (control: 84.8%; t-PA: 65.8%) and blastocyst formation rates (D7 control: 30.1%; t-PA: 13.3% and D8 control: 35%; t-PA: 15.8%), but this effect was neutralized by the addition of ε-ACA (t-PA+ε-ACA, cleavage: 84.7%; D7: 31.3%; D8: 32.7%). No significant differences were found between control and ε-ACA groups (cleavage: 84.3%; D7: 27.4%; D8: 29.5%). Significant differences were detected in the expression of genes related to apoptosis and/or cell cycle arrest (*BAX* and *KAT2B*) between D3 morulae produced in t-PA modified media and controls, giving an overall notion that the inferior developmental competence of treated embryos might be attributed to apoptotic phenomena induced by t-PA. In t-PA group, gene expression analysis of D7 blastocysts showed that *PLG* and the anti-apoptotic gene, *BCL2L1* were significantly up-regulated and down-regulated, respectively, compared to controls. PAA in the treated group was significantly reduced by ε-ACA, but without total elimination. However, there was no significant difference in PAA results between ε-ACA and control groups. Based on the PAI results, no significant difference was found among all groups.

In experiment 2, IVC media modification with u-PA had no effect either on in vitro embryo production rates or on embryo quality as revealed by gene expression analysis of ten important mRNA transcripts. According to differential cell staining of the produced blastocysts from both studied groups,

no differences were found on embryo total cell number, inner cell mass/trophoblast cells ratio and apoptotic cell ratio. PAA and PAI results for the 2.a and 2.b showed the following: In 2.a, except for the higher PAA levels in the u-PA treated IVC media, a significant increase in PAI against t-PA was also recorded indicating that excessive u-PA or plasmin activity might be physiologically restrained by a plasminogen activator inhibitor release. On the other hand, in experiment 2.b, no significant differences were recorded either in PAA or PAI results between untreated and u-PA treated spent media; although IVC media was successfully modified with u-PA as revealed by PAA measurements in u-PA treated media before embryos were added in culture (day 0). All aforementioned results signified the need of a well-balanced plasminogen activators and inhibitors culture environment for embryo development.

In conclusion, under our experimental conditions, it appears that exogenously added t-PA to IVF media suppresses cleavage and bovine blastocyst formation rates. The low IVP rates were reversed, when t-PA activity was reduced by ε-ACA addition. Apoptosis or cell cycle arrest at early stage embryos (morulae) may be favoured by this modification reflecting a possible negative effect of t-PA addition on embryo quality. In the 2nd experiment, despite u-PA's significant role in early and late embryo development, the inclusion of exogenous u-PA in the in vitro bovine embryo culture medium did not have any effect on embryo yield and/or quality under our experimental culture conditions. However, much research is needed to unveil the mechanism by which t-PA and u-PA are involved in *in vitro* embryo production systems. Even though the above experiments did not favor IVP results and embryo quality, those two activators are definitely involved into fertilization and embryo culture necessitating further investigation of their possible mechanisms and interactions into these processes.

Key words: *in vitro* **embryo production, bovine embryos, tissue-type plasminogen activator, urokinase-type plasminogen activator, plasminogen activators inhibitors, gene expression, differential cell staining, IVP media modification, fertilization, embryo culture, blastocyst, cleavage, apoptosis**

Three - Member Supevisory Commitee

Georgios S. Amiridis, Professor, Clinic of Obstetrics and Reproduction, Veterinary Faculty, University of Thessaly, Greece *(supervisor)*

Ioannis S. Pappas, Associate Professor, Department of Pharmacology and Toxicology, Veterinary Faculty, University of Thessaly, Greece

Constantinos A. Rekkas, Associate Researcher, Veterinary Research Institute, HAO-"DEMETER" – Thessaloniki, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Krania, F.**, Dovolou, E., Rekkas, C.A., Heras, S., Pappas, I., VanSoom, A., Amiridis, G.S. (2015). Urokinase-type plasminogen activator does not affect in vitro bovine embryo development and quality. ActaVet. *Hung*, 63(2), 243-254.
2. **Krania, F.,** Dovolou, E., Rekkas, C.A., Theodosiadou, E.K., Pappas, I., Amiridis, G.S. (2015). Effects of Addition of Tissue-Type Plasminogen Activator in In Vitro Fertilization Medium on Bovine Embryo Development and Quality. Reprod. *Domest. Anim.*, *50*(1), 112-120.

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων - βιβλία περιλήψεων Publications in conference proceedings - books of abstracts

1. **Κρανιά, Φ.**, Ντόβολου, Ε., Ρέκκας, Κ.Α., Heras, S., Παππάς, Ι., VanSoom, A., Αμοιρίδης, Γ.Σ. (2015). Ο ενεργοποιός του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης (u-PA) δεν επηρεάζει την απόδοση και την ποιότητα των in vitro παραγόμενων εμβρύων βοοειδών. Στο Ζ. Πολυζοπούλου, Β. Τσιώλη, Γ.Χ. Φθενάκης (Επιμ.), *13ο Πανελλήνιο Κτηνιατρικό Συνέδριο* (σελ. 22). Αθήνα: Ελληνική Κτηνιατρική Εταιρεία.

   Krania, F., Dovolou, E., Rekkas, C.A., Heras, S., Pappas, I., VanSoom, A., Amiridis, G., S. (2015). Urokinase-type plasminogen activator does not affect in vitro bovine embryo development and quality. In Z. Polizopouloy, V. Tsioli, G.C. Fthenakis (Eds.), *13th Greek Veterinary Congress* (p. 22). Athens, Greece: Hellenic Veterinary Medical Society.

2. **Κρανιά, Φ.**, Ντόβολου, Ε., Θεοδοσιάδου, Α., Παππάς, Ι.Σ., Ρέκκας, Κ.Α., & Αμοιρίδης, Γ.Σ. (2014). Η προσθήκη του ενεργοποιού του πλασμινογόνου-ιστικού τύπου (t-PA) στο υπόστρωμα της in vitro γονιμοποίησης (IVF): επίδραση στα ποσοστά και στην ποιότητα των παραγόμενων εμβρύων βοοειδών. Στο Σ. Ραμαντάνης (Επιμ.), *3ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κτηνιατρικής Παραγωγικών Ζώων και Υγιεινής Τροφίμων* (σελ.: 25-26). Ιωάννινα, Ελλάδα : Ελληνική Κτηνιατρική Εταιρεία.
   Krania, F., Dovolou, E., Theodosiadou, A., Pappas, I.S., Rekkas, C.A., & Amiridis, G.S. (2014). Inclusion of tissue type plasminogen activator (t-PA) in *in vitro* fertilization medium (IVF): Effects on bovine embryo development and quality. In S. Ramantanis (Ed.), *3rd Greek Veterinary Congress for Farm Animal Medicine, Food Safety and Hygiene* (pp.25-26). Ioannina, Greece: Hellenic Veterinary Medical Society.
3. **Krania, F.,** Dovolou, E., Rekkas, C.A., Pappas, I.S., & Amiridis, G.S. (2013). Inclusion of tissue type plasminogen activator (t-PA) in IVF medium induces alterations in gene expression and affects blastocyst formation rate in bovine IVP. *29th Annual Meeting of A.E.T.E* (p.162). Istanbul-Turkey: European Embryo Transfer Association. *This presentation was also selected for the student's competition*.

Σύντομο βιογραφικό

Η **Φωτεινή Κρανιά του Αναστασίου** γεννήθηκε στην Καρδίτσα, στις 24 Μαΐου 1986 και σπούδασε στο τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής του Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης στην Αλεξανδρούπολη, από το οποίο αποφοίτησε το Μάρτιο του 2009. Το Σεπτέμβριο του 2010, απέκτησε Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης (MSc) στη «Βιολογία της Αναπαραγωγής» από την Ιατρική του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στη Λάρισα. Το Μάρτιο του 2015, ολοκλήρωσε τη διδακτορική διατριβή της με τίτλο «Επίδραση ειδικών πρωτεολυτικών ενζύμων στην εξωσωματική παραγωγή και στα ποιοτικά χαρακτηριστικά των εμβρύων αγελάδων», υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Γεώργιου Σ. Αμοιρίδη στην Κλινική Μαιευτικής και Αναπαραγωγής του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στην Καρδίτσα. Η διδακτορική της έρευνα χρηματοδοτήθηκε από το πρόγραμμα διδακτορικών υποτροφιών «Ηράκλειτος ΙΙ». Μέρος των πειραματισμών της διατριβής της εκπονήθηκαν στο Εργαστήριο Εξωσωματικής του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου της Γάνδης στο Βέλγιο, στα εργαστήρια του Τομέα Αναπαραγωγής του Ινστιτούτου Κτηνιατρικών Ερευνών Θεσσαλονίκης του ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ και στο Εργαστήριο Φαρμακολογίας και Τοξικολογίας της Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Κατά τη διάρκεια του MSc, εκπαιδεύτηκε σε μεθόδους ανθρώπινης Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής στη Μονάδα Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής της Μαιευτικής και Γυναικολογικής Κλινικής της Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Ως προπτυχιακή φοιτήτρια, εκπαιδεύτηκε στο Εργαστήριο Γενετικής του Τμήματος Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής του Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης (Αλεξανδρούπολη) σε τεχνικές έκφρασης και λειτουργίας γονιδίων και στο Εργαστήριο Μοριακής Ιατρικής και Δομικής Βιολογίας του Harvard Medical School (Βοστόνη-Η.Π.Α.) σε τεχνικές έκφρασης και κρυστάλλωσης πρωτεϊνών. Τέλος, συμμετείχε ως βιολόγος στα ερευνητικά προγράμματα «Διερεύνηση παραγόντων βιοασφάλειας ορθής κτηνοτροφικής πρακτικής και βελτίωση της ποιότητας του γάλακτος σε εκτροφές αγελάδων γαλακτοπαραγωγής» και «Ο ρόλος τριών γλυκοσιδασών στην ωρίμανση και στη γονιμοποίηση των ωαρίων».

Email:fkrania@vet.uth.gr

Short CV

Fotini A. Krania was born on 24th May 1986, in Karditsa, Greece. She received her Diploma in Molecular Biology and Genetics from the Democritus University of Thrace (Alexandroupolis, Greece) in 2009 and a Master of Science in Reproductive Biology from the Medical School of the University of Thessaly (Larissa, Greece) in 2010. Then, she joined the Clinic of Obstetrics and Reproduction at the Veterinary Faculty of the University of Thessaly (Karditsa-Greece) as a PhD student, under the direct supervision of Professor Georgios S. Amiridis. Her doctoral study was financially supported by the PhD scholarship programme “Heraclitus II”. Part of her PhD experiments was also carried out in IVF Laboratory at the Faculty of Veterinary Medicine of Ghent University (Belgium), in Veterinary Research Institute HAO -“DEMETER” and in the Department of Pharmacology and Toxicology at the Veterinary Faculty of the University of Thessaly. Her thesis was submitted for the Degree of PhD in March 2015.

During her MSc course, she was trained in human Assisted Reproductive Technologies, in the IVF Clinic at the Medical School of the University of Thessaly. She was also trained in gene expression techniques in the Laboratory of Human Genetics at the Department of Molecular Biology and Genetics of Democritus University of Thrace and in protein expression, purification and crystallization in Molecular Medicine Laboratory and Structural Biology Unit B.I.D.M.C at Harvard Medical School (Boston, U.S.A.), as a postgraduate student. She also participated at the scientific programs “Study of biosecurity measures in Greek dairy farms” and “Role of three glycosidases on in vitro maturation and fertilization”.

Email:fkrania@vet.uth.gr

Ζωή Λιάκου

Παθολογοανατομική μελέτη της σαρκοπτικής ψώρας στις αίγες

Περίληψη

Εισαγωγή

Η σαρκοπτική ψώρα στις αίγες προκαλείται από το παράσιτο *Sarcoptes scabiei var Caprae* και αποτελεί μια από τις πιο σημαντικές εξωπαρασιτώσεις των αιγών στην Ελλάδα. Αν και οι κλινικές και παθολογικές πτυχές του νοσήματος έχουν περιγραφεί λεπτομερώς στον άνθρωπο και σε διάφορα θηλαστικά, το ίδιο δεν ισχύει και για τις αίγες. Ο σκοπός της μελέτης ήταν η αξιολόγηση της κυτταρικής ανοσολογικής απόκρισης και της έκφρασης ποικίλων κυτοκερατινών τόσο σε φυσικά περιστατικά σαρκοπτικής ψώρας σε εκτροφές όσο και μετά από πειραματική μόλυνση, με τη χρήση ιστοπαθολογικών και ανοσοϊστοχημικών μεθόδων.

Υλικά και Μέθοδοι

Συνολικά ταυτοποιήθηκαν 40 περιπτώσεις φυσικών περιστατικών αιγών με σαρκοπτική ψώρα (23 ερίφια και 17 αίγες) από 4 εκτροφές. Έγινε λήψη πολλαπλών ξεσμάτων δέρματος για την επιβεβαίωση της διάγνωσης. Ελήφθησαν 6 mm punch βιοψίες από τις δερματικές αλλοιώσεις, υπό τοπική αναισθησία. Επιπρόσθετα, μελετήθηκαν βιοψίες δέρματος 5 διαφορετικών ανατομικών περιοχών από 10 υγιείς αίγες. Βιοψίες δέρματος ανθρώπου χρησιμοποιήθηκαν επίσης ως μάρτυρες. Για την πειραματική μόλυνση, 6 μη ευαισθητοποιημένα απογαλακτισθέντα ερίφια (<6 μηνών) και 6 μη ευαισθητοποιημένες ενήλικες αίγες (>1 έτους) μολύνθηκαν στο επιρρίνιο και τη ράχη με το στέλεχος *Sarcoptes scabiei var caprae* (150-200 ακάρεα/ μολύνουσα δόση). 4 υγιή ζώα (2 ερίφια και 2 αίγες) χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Η λήψη των βιοψιών δέρματος από τις αναπτυσσόμενες αλλοιώσεις πραγματοποιήθηκε υπό τοπική αναισθησία στις ημέρες d2, d4, d8, d12, d18, d25, d33, d40, d50, d60, d75 και d90 μετά τη μόλυνση. Κάθε βιοψία κόπηκε σε δύο ιστοτεμάχια με αποστειρωμένο νυστέρι, από τα οποία το πρώτο εμβαπτίστηκε σε ουδέτερο ρυθμιστικό φορμόλης 10% (Merck, Germany), ενώ το δεύτερο ιστοτεμάχιο εμβαπτίστηκε σε μονιμοποιητικό διάλυμα με βάση τα άλατα ψευδαργύρου (ZSF, 0.1 M Tris buffer, Caacetate 0.05% [pH 7–7.4], με Znacetate 0.5% και Znchloride 0.5%). Τα δείγματα στη συνέχεια εγκλείστηκαν σε παραφίνη και εξετάστηκαν ιστολογικά (χρώσης ηωσίνης/ αιματοξυλίνης και Giemsa). Διαδοχικές τομές από κάθε μπλοκ επωάστηκαν με μονοκλωνικά αντισώματα έναντι των Τ λεμφοκυτταρικών πληθυσμών (CD3, CD4, CD8, γδ), Β κυττάρων (CD21), δενδριτικών κύτταρων (CD1b), μακροφάγων (CD68) και διάφορων κυτοκερατινών. Ειδικότερα, αξιολογήθηκε η ανοσοϊστοχημική έκφραση τριών δεικτών κυτοκερατινών ευρέος φάσματος, AE1-AE3 (αναγνωρίζει τις κυτοκερατίνες 1-8, 10, 13-16 και 19), MNF-116 (αναγνωρίζει τις κυτοκερατίνες 5, 6, 8, 17, 19) και 34BE12 (αναγνωρίζει τις κυτοκερατίνες 1, 5, 10, και 14) και τις κυτοκερατίνες CK5/6, CK7, CK14 και CK19.

Αποτελέσματα

Η ανοσοϊστοχημική μελέτη στο φυσιολογικό δέρμα των εριφίων και αιγών δεν αποκάλυψε την παρουσία κανενός υποπληθυσμού λεμφοκυττάρων στην επιδερμίδα, ενώ στο χόριο του υγιούς δέρματος παρατηρήθηκαν Τ-λεμφοκύτταρα (CD3+) και οι υποπληθυσμοί τους (CD4+, CD8+, WC1+ γδ), δενδριτικά κύτταρα (CD1+) και μακροφάγα (CD68+) κυρίως περιαγγειακά. Όσον αφορά τα Β-λεμφοκύτταρα (CD21+) η ανοσοϊστοχημική μελέτη δεν αποκάλυψε την παρουσία τους στο χόριο του υγιούς δέρματος. Στο υγιές δέρμα των αιγών, οι κυτοκερατίνες AE1/AE3 και 34BE12 εκφράζονται σε όλες τις στιβάδες της επιδερμίδας. Η κυτοκερατίνη MNF116 εκφράζεται στη βασική και στην ακανθωτή στιβάδα ενώ οι κερατίνες 5/6, 14 και 19 εκφράζονται στη βασική στιβάδα της επιδερμίδας. Το επιθήλιο των ιδρωτοποιών είναι θετικό για τις κυτοκερατίνες AE1/AE3, MNF116, 34BE12 και CK7. Τα μυοεπιθηλιακά των ιδρωτοποιών αδένων εκφράζουν την κυτοκερατίνη 5/6. Οι κυτοκερατίνες AE1/AE3 και 5/6 εντοπίζονται στον εσωτερικό και εξωτερικό κολεό του τριχικού θυλάκου, ενώ ο εξωτερικός κολεός εκφράζει επίσης τις κυτοκερατίνες MNF116, 34BE12, CK14 και CK19. Οι ιδρωτοποιοί αδένες παρουσιάζουν θετική ανοσοχρώση για τις κερατίνες AE1/AE3, MNF116, 34BE12, CK5/6, CK14 και CK19.

Οι μακροσκοπικές αλλοιώσεις των φυσικών και των πειραματικών περιστατικών σαρκοπτικής ψώρας, περιελάμβαναν αλωπεκία, φλύκταινες, υπερκεράτωση, λειχηνοποίηση, ενώ ορισμένα εμφάνιζαν ρωγμές. Οι ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις περιελάμβαναν ορθοκερατωτική και παρακερατωτική υπερκεράτωση, σπογγίωση, εφελκίδες, υποκεράτινες και ενδοεπιδερμιδικές μικροφλύκταινες, παρουσία παρασίτων σε διάφορα στάδια του βιολογικού κύκλου (λίγα έως πολυάριθμα), υπερκόκκωση. Η επιδερμιδική υπερπλασία με ακάνθωση ή το σχηματισμό επιδερμιδικών καταδύσεων ήταν παρούσα σε πολλές βιοψίες.

Τα ευρήματα της μελέτης του λεμφοκυτταρικού διηθήματος στα φυσικά περιστατικά αιγών αφορούσαν κυρίαρχη έκφραση των CD3+ Τ-λεμφοκυττάρων ενώ τα CD21+ ανιχνεύτηκαν σπάνια. Το

φλεγμονώδες πρότυπο κατανομής ήταν κυρίως περιαγγειακό και λιγότερα συχνά δερμοεπιδερμιδικό ή διάχυτο. Στο φλεγμονώδες διήθημα του χορίου, παρατηρήθηκε κυριαρχία των CD4+ (425,47±117,596 cells±SD/ grid) σε σχέση με τα CD8+ T κύτταρα (112,32±47,283 cells±SD/ grid). Η αναλογία CD4/CD8 ήταν 4.03±1.54/1. Τα γδ+ λεμφοκύτταρα εκφράζονταν σε μεγάλο βαθμό (166,15±45,349 cells±SD/ grid). Πολλά κύτταρα που εξέφραζαν CD1b+ και CD68+ εντοπίστηκαν στο επιπολής και εν τω βάθει χόριο, κυρίως περιαγγειακά. Στην επιδερμίδα, παρατηρήθηκε σημαντική εξωκύττωση των CD3+, γδ+ λεμφοκυττάρων και σε μικρότερο βαθμό των CD8+, ειδικά σε περιοχές όπου εντοπίζονταν παράσιτα. Στις αίγες που μολύνθηκαν πειραματικά, η έντονη ανοσολογική απόκριση που χαρακτηρίζονταν από σημαντική λεμφοκυτταρική διήθηση συνοδευόμενη από εωσινόφιλα παρατηρήθηκε από τη δεύτερη ημέρα της μόλυνσης μέχρι την ολοκλήρωση του πειράματος. Η ανοσοϊστοχημεία έδειξε ότι από τη δεύτερη ημέρα της μόλυνσης, οι αριθμοί των CD3+, CD8+ και γδ+ κυττάρων στην επιδερμίδα αυξήθηκαν σημαντικά σε σχέση με τους μάρτυρες ($p<0.05$). Επιπρόσθετα, αυξημένη εξωκύττωση των CD3+, CD8+ και γδ T κυττάρων εντοπίστηκε σε περιοχές με Sarcoptes scabiei, σε σχέση με εκείνες χωρίς τα παράσιτα. Στο χόριο, μια προοδευτική αύξηση των CD3+, CD4+, γδ+ T λεμφοκυττάρων παρατηρήθηκε έως και την 90η ημέρα μετά την πειραματική μόλυνση, σε σχέση με τους μάρτυρες ($p<0.05$). Τα κύτταρα που κυριαρχούσαν στο φλεγμονώδες διήθημα ήταν σε όλες τις περιπτώσεις CD4+ T κύτταρα. Ειδικά, τις πρώτες ημέρες της πειραματικής μόλυνσης, τα CD8+ T λεμφοκύτταρα αυξήθηκαν σημαντικά. Η κατανομή όλων των λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών ήταν αρχικά περιαγγειακή και κατά τη διάρκεια της μόλυνσης έγινε διάχυτη. Στο χόριο, η αναλογία των CD4+/CD8+ σταδιακά μεταβλήθηκε από 1.92±0.53 τη δεύτερη ημέρα της μόλυνσης σε 4.09 ± 1.88 την 90η ημέρα. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι στο χόριο των εριφίων, τα γδ+ κύτταρα αυξήθηκαν σημαντικά ($p <0.005$) σε σχέση με τις ενήλικες αίγες, από την 12η ημέρα έως και την 90η ημέρα μετά τη μόλυνση. Η ανοσολογική απόκριση του δέρματος, τόσο στα ερίφια όσο και στις ενήλικες αίγες, ήταν παρόμοια στις δύο περιοχές μόλυνσης (επίρρινιο, ράχη), μιας και δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στον αριθμό των λεμφοκυττάρων κατά τη διάρκεια της μόλυνσης στις περιοχές αυτές ($p >0,005$). Επιπρόσθετα, δεν ανιχνεύτηκαν CD21+ κύτταρα. Στο δέρμα με σαρκοπτική ψώρα τόσο των φυσικών περιστατικών όσο και εκείνων που προέκυψαν με την πειραματική μόλυνση, καθώς ο βαθμός της επιδερμιδικής υπερπλασίας αυξανόταν, παρατηρήθηκε έκφραση των κερατινών CKMNF116, CK5/6, CK19, CK14 σε πολλές κυτταρικές σειρές της ακανθωτής στοιβάδας. Δεν παρατηρήθηκαν αλλαγές στην έκφραση των κερατινών CKAE1/AE3, CK34BE12 και CK7.

Συζήτηση: Συμπερασματικά, τα ευρήματα της μελέτης δείχνουν ότι η σαρκοπτική ψώρα διεγείρει την αύξηση της έκφρασης T λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών και αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων στις βιοψίες δέρματος με αλλοιώσεις. Τα παράσιτα και τα παραγόμενα προϊόντα τους προκαλούν την ταχεία στρατολόγηση και την ενεργοποίηση των διαφορετικών T λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών (CD4+, CD8+ και γδ+ κύτταρα) στο δέρμα. Ειδικότερα, τα γδ+ T κύτταρα πολλαπλασιάζονται τόσο κατά τη διάρκεια των αρχικών όσο και των χρόνιων σταδίων της νόσου, με τρόπο που εξαρτάται από την ηλικία των αιγών. Οι υψηλοί αριθμοί των γδ+ T λεμφοκυττάρων στα ερίφια, συγκρινόμενοι με των ενήλικων αιγών, υποδεικνύουν ότι το ανοσοποιητικό σύστημα των νεαρότερων ζώων βασίζεται επιπρόσθετα στα γδ+ λεμφοκύτταρα καθώς εξελίσσεται η παρασιτική μόλυνση. Η τροποποιημένη έκφραση ορισμένων κυτοκερατινών στις δερματικές αλλοιώσεις της σαρκοπτικής ψώρας αντανακλά την ύπαρξη αλλαγών στη διαφοροποίηση των κερατινοκυττάρων, γεγονός που σχετίζεται με την παρατηρούμενη επιδερμιδική υπερπλασία. Επιπρόσθετα, η μελέτη αυτή καθιερώνει τη χρήση μιας σειρά μονοκλωνικών αντισωμάτων ανθρώπινης ειδικότητας, τα οποία παρουσιάζουν διασταυρούμενη αντίδραση στο δέρμα αιγών κι έτσι μπορούν να εφαρμοστούν στη δερματοιστοπαθολογία των αιγών. Η έκφραση των κερατινών μπορεί να συντελέσει στη μελέτη της επιθηλιακής διαφοροποίησης και στο χαρακτηρισμό αλλοιώσεων του δέρματος της αίγας σε διαφορετικές δερματοπάθειες.

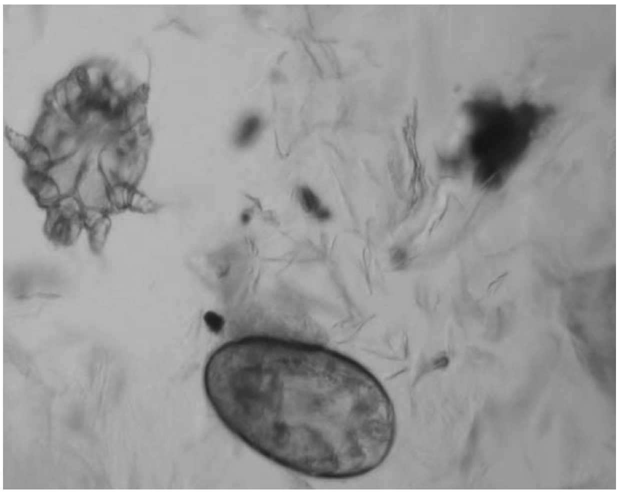
Λέξεις κλειδιά: Sarcoptes scabies var caprae, αίγες, ανοσοϊστοχημεία, λεμφοκύτταρα, κυτοκερατίνες, δέρμα

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Δημήτριος Τόντης, Αναπληρωτής Καθηγητής, Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής, Τμήμα Κτηνιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας *(επιβλέπων)*

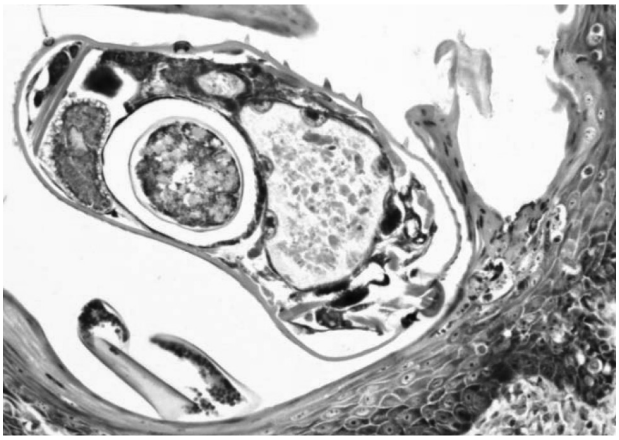
Γεώργιος Κουκούλης, Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής, Τομέας Μορφολογίας Τμήματος Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Ηλίας Παπαδόπουλος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Παρασιτολογία και Παρασιτικά Νοσήματα, Τμήμα Κτηνιατρικής, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης



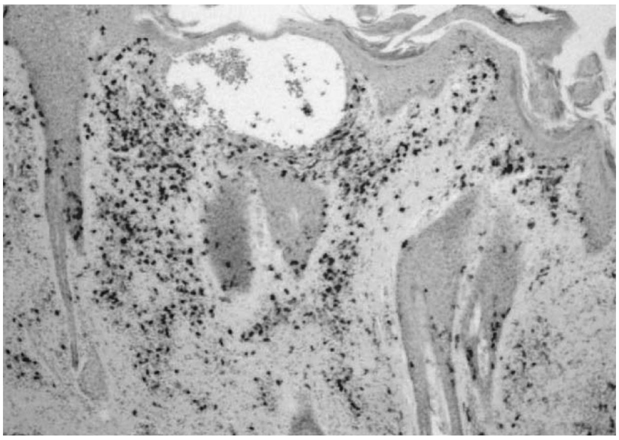
Υλικό ξεσμάτων με άκαρι και αυγό S.scabiei
Skin scrapings with a S. scabiei mite and egg

Αίγα με σαρκοπτική ψώρα μετά από πειραματική μόλυνση (90 dpi)
Goat experimentally infested with S. scabiei (90 dpi)

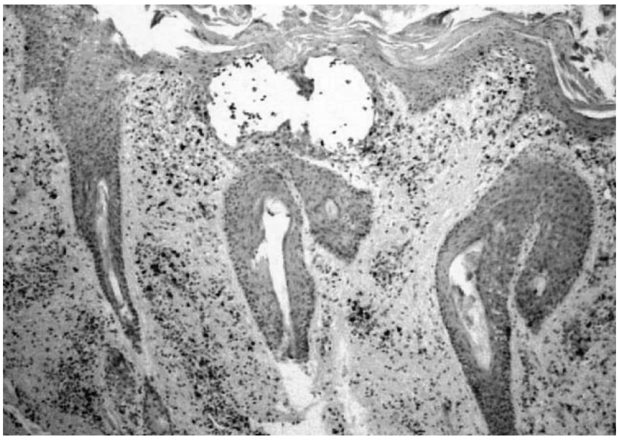


Θηλυκό παράσιτο S.scabiei σε διατομή στην κεράτινη στοιβάδα (χρώση Giemsa).
Female S.scabiei in a cross section of the stratum corneum (Giemsa staining).

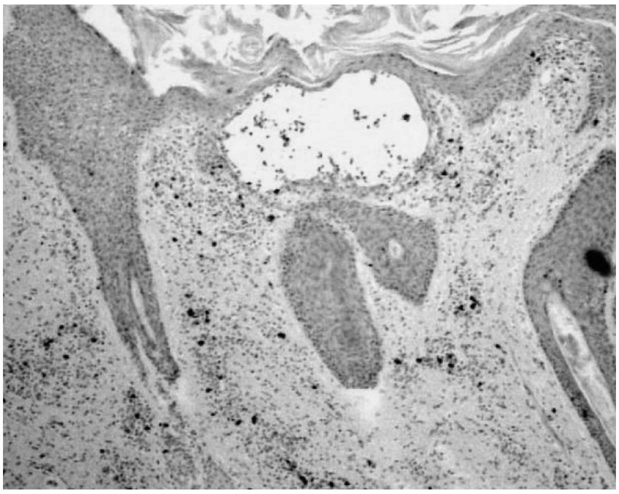
Ανοσοϊστοχημική χρώση της κυτοκερατίνης AE1/AE3 σε βιοψία δέρματος αίγας με σαρκοπτική ψώρα.
Immunohistochemical staining of cytokeratin AE1/AE3. Skin biopsy from a goat with sarcoptic mange.



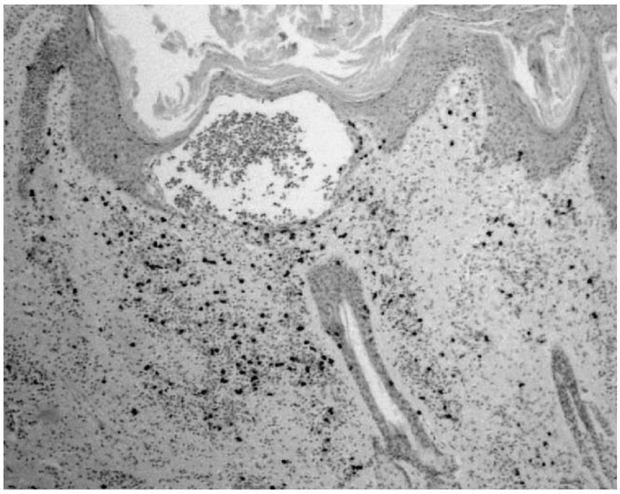
Ανοσοϊστοχημική χρώση CD3+ λεμφοκυττάρων σε βιοψία δέρματος αίγας με σαρκοπτική ψώρα.
Immunohistochemical staining of CD3+ lymphocytes in a skin biopsy of a goat with sarcoptic mange.



Ανοσοϊστοχημική χρώση CD4+ λεμφοκυττάρων σε βιοψία δέρματος αίγας με σαρκοπτική ψώρα.
Immunohistochemical staining of CD4+ lymphocytes in a skin biopsy of a goat with sarcoptic mange.



Ανοσοϊστοχημική χρώση CD8+ λεμφοκυττάρων σε βιοψία δέρματος αίγας με σαρκοπτική ψώρα. Immunohistochemical staining of CD8+ lymphocytes in a skin biopsy of a goat with sarcoptic mange.



Ανοσοϊστοχημική χρώση γδ+ λεμφοκυττάρων σε βιοψία δέρματος αίγας με σαρκοπτική ψώρα. Immunohistochemical staining of γδ+ lymphocytes in a skin biopsy of a goat with sarcoptic mange

Zoi Liakou

Pathology of sarcoptic mange in goats

Abstract

Introduction

Sarcoptic mange of goats is caused by the mite *Sarcoptes scabiei var caprae* and is one of the most important ectoparasitic diseases of goats in Greece. In general, although the clinical and pathological aspects of scabies have been well described in humans and various animal species, cutaneous pathology of this disease in goats has not been studied in detail. The aim of our study was to assess the cellular immune response and the expression of various cytokeratins in skin lesions of naturally and experimentally infested goats with sarcoptic mange.

Materials and Methods:

Selected cases of 40 goats (23 kids/ 17 goats), from 4 herds, naturally infested by sarcoptic mange were studied. Multiple superficial skin scrapings confirmed the diagnosis. 6 mm punch biopsies were taken under local anesthesia, from lesional areas of the skin. In addition, skin biopsies of 10 healthy goats of 5 different body regions were studied. Human skin biopsies were also used as controls. For the experimental infestation, six naive kids (<6 months old) and 6 naive adult goats (>1 year old) were experimentally infested at the face and the back with 50–100 mites of *Sarcoptes scabiei var caprae*. Four animals (2 kids and 2 goats) were used as controls. Skin biopsies were taken under local anesthesia from developing lesions on d2, d4, d8, d12, d18, d25, d33, d40, d50, d60, d75 and d90 respectively. Each tissue sample was cut into two pieces with a sterile scalpel. One half was fixed in 10% formalin (Merck, Germany) whereas the second half was fixed in a non-aldehyde zinc salts fixative (ZSF, 0.1 M Tris buffer with Ca acetate 0.05% [pH 7–7.4], containing Zn acetate 0.5% and Zn chloride 0.5%). Samples were then embedded in paraffin and processed routinely (HE and Giemsa). Serial sections from each block were incubated with monoclonal antibodies against T-cell subpopulations (CD3, CD4, CD8, γδ), B cells (CD21), dendritic cells (CD1b), macrophages (CD68) and various cytokeratins. In particular, the immunohistochemical expression of three broad-spectrum cytokeratin markers, AE1-AE3 (recognizing cytokeratins 1-8, 10, 13-16 and 19), MNF-116 (recognizing cytokeratins 5, 6, 8, 17, 19) and 34BE12 (recognizing cytokeratins 1, 5, 10, and 14) and of cytokeratins CK5/6, CK7, CK14 and CK19 was evaluated.

Results

The immunohistochemical study of normal skin (kids and goats) did not reveal the presence of any lymphocyte subpopulations in the epidermis, whereas in the dermis T-lymphocytes (CD3+) and their subsets (CD4+, CD8+, WC-1+ γδ), dendritic cells (CD1+) and macrophages (CD68+) were observed, especially perivascularly. In addition, no (CD21+) B-lymphocytes were detected. In normal caprine skin, cytokeratins AE1/AE3 and 34BE12 are expressed in all layers of the epidermis. Cytokeratin MNF116 is expressed in the basal and the spinous layer whereas cytokeratins 5/6, 14 and 19 are confined to the basal layer of the epidermis. The epithelium of the sweat glands is stained by cytokeratins AE1/AE3, MNF116, 34BE12 and CK7. Myoepithelial cells of sweat glands express cytokeratin 5/6. Cytokeratins AE1/AE3 and 5/6 are located in the outer and inner sheath of hair follicles, whereas the outer sheath of hair follicles also expresses MNF116, 34BE12, CK14 and CK19. Sebaceous gland cells are stained by cytokeratins AE1/AE3, MNF116, 34BE12, CK5/6, CK14 and CK19.

In naturally and experimentally infested goats, macroscopic lesions included alopecia, pustules thick crusting and fissures. Histopathological lesions of the skin included orthokeratotic and parakeratotic hyperkeratosis, spongiosis, crusting, subcorneal and intraepidermal pustules, presence of various stages of the parasite (from few to numerous) and hypergranulosis. Epidermal hyperplasia, with acanthosis or pronounced rete ridge formation was present in many biopsies.

The study of lymphocytic infiltrate in the dermis of naturally infested goats showed a predominance of the CD3+ lymphocytic population while CD21+ were sparse. The inflammatory patterns were mainly perivascular and less frequently dermoepidermal or diffuse. In dermal infiltrate, a predominance of CD4+ (425,47±117,596 cells±SD/ grid) over CD8+ T cells (112,32±47,283 cells±SD/ grid) was observed. The CD4/CD8 ratio of lesional skin was 4.03±1.54/1. γδ+ lymphocytes were expressed significantly (166,15±45,349 cells±SD/ grid). Numerous cells expressing CD1b+ and CD68+ cells were found both in superficial and deep dermis, especially perivascular. In epidermis, exocytosis of numerous CD3+, γδ+ T lymphocytes and fewer CD8+ was observed, especially in areas around mites.

In experimentally infested goats, an intense immunoinflammatory response dominated by a substantial infiltrate of lymphocytes, accompanied by eosinophils, was recorded from 2nd day post infestation to the completion of the experiment. Immunohistochemistry indicated that by 2nd day, numbers of CD3+, CD8+ and γδ+ in epidermis had increased significantly compared to controls ($p<0.05$). Moreover, there was an increased exocytosis of CD3+, CD8+, and γδ T cells located in areas with Sarcoptes scabiei than in areas without mites. In dermis, a progressive increase of CD3+, CD4+, γδ+ T-lymphocytes was gradually observed until d90, compared to controls ($p<0.05$). The predominant cells in the inflammatory infiltrate were at all cases CD4+ T cells. Especially in early days of experimental infestation, the CD8+ T-lymphocytes increased significantly. The distribution of all lymphocyte subpopulations in dermis was initially perivascular and throughout the time course became more diffuse. In the dermis CD4+/CD8+ ratio gradually changed from 1.92±0.53 at 2nd day post infestation to 4.09 ± 1.88 at the 90th day of the experiment. It should be noted that in the dermis of kids, γδ+ cells increased significantly ($p <0.005$) in comparison with goats from the 12th to the 90th day post infestation. The skin immune response, in both kids and adult goats, was similar in the two areas of infection (face, back), since a statistically significant difference in the number of lymphocytes during infection was not reported in those areas ($p>0,005$). Furthermore, CD21+ cells were absent. In scabietic skin of naturally and experimentally infested goats, as the degree of epidermal hyperplasia increased, there was an altered expression of CKMNF116, CK5/6, CK19, CK14 in most layers of the suprabasal epithelium. No difference was observed in immunostaining of CKAE1/AE3, CK34BE12 and CK7.

Discussion: In conclusion, the findings of this study emphasize that mange infestation stimulates the upregulation of T-lymphocyte subpopulations and antigen-presenting cells at lesional skin. Mites and their derived products cause early recruitment and substantial activation of different T-lymphocyte subpopulations (CD4+, CD8+ and γδ+ cells) in the skin. Especially, the γδ+ T cells respond, by proliferation during early and chronic phases of

infestation, in an age dependent manner. The high counts of γδ+ T lymphocytes in kids compared to adult goats, suggests that the skin immune system of young animals relies additionally on γδ+ lymphocytes as the parasitic infestation progresses. The altered expression of some cytokeratins in scabietic lesions reflects the occurrence of modifications in the differentiation of keratinocytes correlated with the observed epidermal hyperplasia. Moreover, this study establishes the value of a panel of anti-human keratin monoclonal antibodies cross-reacting with the caprine skin, which can be applied in routine dermatohistopathology of goats. The expression of cytokeratins can be valuable for the study of epithelial differentiation and the characterization of lesions in goat skin diseases.

Key words: *Sarcoptes scabies var caprae*, goats, immunohistochemistry, lymphocytes, cytokeratins, caprine skin

Three - Member Supervisory Committee

Dimitrios Tontis, Associate Professor, Department of Pathology, Faculty of Veterinary Science, University of Thessaly, Karditsa, Greece (*supervisor*)

George Koukoulis, Professor of Pathology, Morphology Department, Faculty of Medicine University of Thessaly, Larissa, Greece

Elias Papadopoulos, Associate Professor, Parasitology and parasitic diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Aristotle University of Thessaloniki, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Ανακοινώσεις σε συνέδρια και σε ημερίδες Presentations in conferences and in meetings - workshops

1. **Liakou, Z.**, Doukas, D., Tontis., D. (2015, September). *Immunohistochemical study of experimental infestation of goats with Sarcoptes scabiei*. Poster presented at 32nd World Veterinary Congress, Istanbul, Turkey.
2. **Liakou, Z.**, Doukas, D., Koukoulis, G., Tontis, D. (2015, September). *Immunohistochemical study of cytokeratin expression in normal caprine skin*. Poster presented at 32nd World Veterinary Congress, Istanbul, Turkey.
3. **Λιάκου, Ζ.**, Δούκας, Δ., Τόντης, Δ. (2015, Μάιος). *Ανοσοϊστοχημική μελέτη των λεμφοκυτταρικών υποπληθυσμών στο δέρμα υγιών αιγών*. Προφορική ανακοίνωση στο 13ο Πανελλήνιο Κτηνιατρικό Συνέδριο, Αθήνα.

   Liakou, Z., Doukas, D., Tontis, D. (2015, May). *Immunohistochemical study of lymphocyte subpopulations in healthy caprine skin*. Paper presented at 13th Hellenic Veterinary Congress, Athens, Greece.
4. **Liakou, Z.**, Doukas, D., Koukoulis, G., Tontis, D. (2014, August). *Immunohistochemical study of cutaneous immune response and keratin expression in goats with sarcoptic mange*. Poster presented at 2nd joint European Congress of the ESVP, ECVP and ESTP, Berlin, Germany.
5. **Λιάκου, Ζ.**, Δούκας, Δ., Τόντης, Δ. (2014, Μάιος). *Ανοσοϊστοχημικη μελέτη του φλεγμονώδους διηθήματος σε φυσικά περιστατικά αιγών με σαρκοπτική ψώρα*. Προφορική ανακοίνωση στο 3ο Πανελλήνιο συνέδριο Κτηνιατρικής Παραγωγικών ζώων και υγιεινής τροφίμων, Ελληνική Κτηνιατρική Εταιρεία, Ιωάννινα.

   Liakou, Z., Doukas, D., Tontis, D. (2014, May). *Immunohistochemical study of the inflammatory infiltrate in natural cases of goats with sarcoptic mange*. Paper presented at 3rd National Congress of Veterinary livestock and Food hygiene, Greek Veterinary Society, Ioannina, Greece.
6. **Λιάκου, Ζ.**, Δούκας, Δ., Κουκούλης, Γ., Τόντης, Δ. (2014, Μάιος). *Πρόδρομη μελέτη της έκφρασης κερατινών στο δέρμα φυσικών περιστατικών αιγών με σαρκοπτική ψώρα*. Προφορική ανακοίνωση στο 3ο Πανελλήνιο συνέδριο Κτηνιατρικής Παραγωγικών ζώων και υγιεινής τροφίμων, Ελληνική Κτηνιατρική Εταιρεία, Ιωάννινα.

   Liakou, Z., Doukas, D., Koukoulis, G., Tontis, D. (2014, May). *Study of keratin expression in the skin of natural cases of goats with sarcoptic mange*. Paper presented at 3rd National Congress of Veterinary livestock and Food hygiene, Greek Veterinary Society, Ioannina, Greece.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Ζωή Λιάκου** είναι απόφοιτος του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας με έδρα τη Λάρισα. Έχει ολοκληρώσει το διετές πρόγραμμα μεταπτυχιακών σπουδών με θέμα την Εφαρμοσμένη Δημόσια Υγεία και Περιβαλλοντική Υγιεινή και κατεύθυνση την ποιότητα και ασφάλεια τροφίμων και υδάτων του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας με έδρα τη Λάρισα. Είναι Διδάκτορας στο τμήμα Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας με έδρα την Καρδίτσα. Ο τίτλος της διδακτορικής της διατριβής, πάνω στην οποία εργάστηκε, με υποτροφία του προγράμματος « Ηράκλειτος ΙΙ», είναι η «Παθολογοανατομική μελέτη της σαρκοπτικής ψώρας στις αίγες».

Έχει απασχοληθεί ως επιστημονική συνεργάτιδα, στο Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, με επιστημονικό υπεύθυνο τον Καθηγητή κ. Κουκούλη, στην εφαρμογή ανοσοϊστοχημικών μεθόδων και τεχνικών ανοσοφθορισμού.

Γνωρίζει Αγγλικά (Certificate of Proficiency in English του Πανεπιστημίου Cambridge), Ιταλικά (Diploma di Lingua Italiana του Ιταλικού Μορφωτικού Ινστιτούτου Αθήνας) και Ισπανικά (Diploma De Espanol como lengua extranjera του Ινστιτούτου Θερβάντες) και είναι κάτοχος του ECDL Core Certificate.

Email: zoiliakou@yahoo.gr

Short CV

Zoi Liakou has graduated from the Department of Biochemistry and Biotechnology of the University of Thessaly (Larissa). She has completed a two-year postgraduate programme on Applied Public Health and Environmental Hygiene with a focus on Food and Water Quality and Safety at the Faculty of Medicine of the University of Thessaly (Larissa). She is a PhD candidate at the Veterinary Department of the University of Thessaly (Karditsa). The title of the PhD thesis on which she worked, with a scholarship by the programme " Heraclitus II", is "Pathology study of sarcoptic mange in goats".

She has worked as a research associate in the Laboratory of Pathology in the Medical School of the University of Thessaly, under the supervision of Professor G. Koukoulis, on the implementation of immunohistochemical methods and immunofluorescence techniques.

She speaks English (Certificate of Proficiency in English, University of Cambridge), Italian (Diploma di Lingua Italiana of the Italian Cultural Institute of Athens) and Spanish (Diploma De Espanol como lengua extranjera the Instituto Cervantes) and has an ECDL Core Certificate.

Email: zoiliakou@yahoo.gr

Μαγδαλινή Δημ. Ροβολή

Μελέτη σύνδεσης και βιοδραστικότητας βιταμινών μετά από τη σύνδεσή τους με πρωτεϊνικά και λιπιδικά μόρια

Περίληψη

Αντικείμενο της συγκεκριμένης διατριβής είναι η μελέτη της σύνδεσης των τεσσάρων λιποδιαλυτών βιταμινών με πρωτεϊνικά και λιπιδικά μόρια.

Οι βιταμίνες αποτελούν μία τάξη οργανικών χημικών ενώσεων, οι οποίες είναι απαραίτητες για την κανονική αύξηση και ομοιόσταση ενός ζωντανού οργανισμού, ο οποίος δεν είναι σε θέση να τις συνθέσει. Διακρίνονται σε δύο κατηγορίες, τις υδατοδιαλυτές (σύμπλεγμα βιταμινών B και C) και τις λιποδιαλυτές (σύμπλεγμα βιταμινών A, D, E και K). Οι λιποδιαλυτές βιταμίνες εξαρτώνται από τα διατροφικά λιπαρά για την απορρόφηση και μεταφορά τους.

Ένα πρόβλημα των λιποδιαλυτών βιταμινών αποτελεί η μειωμένη απορρόφησή τους σε τρόφιμα με χαμηλά λιπαρά (όπως το αποβουτυρωμένο γάλα), ακόμα και όταν έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε λιποδιαλυτές βιταμίνες και λόγω της απουσίας των κατάλληλων φορέων τους, των λιποπρωτεϊνών, οι οποίες αφαιρούνται από τα τρόφιμα, στο πλαίσιο μείωσης του ποσοστού λίπους που φέρουν. Για το λόγο αυτό, η πρόσληψη και απορρόφηση των λιπόφιλων βιταμινών από τα τρόφιμα που έχουν υποστεί επεξεργασία απομάκρυνσης ποσοστού λίπους είναι αισθητά μειωμένη, μιας και η διαλυτότητα σε υδατικά διαλύματα των λιποδιαλυτών βιταμινών είναι εξαιρετικά χαμηλή και αποτελεί σημαντικό πρόβλημα για την επαρκή διαθεσιμότητά τους σε υδατικά διαλύματα.

Η ανάγκη δημιουργίας ενός φορέα μέσω του οποίου θα επιτευχθεί αύξηση της πρόσληψης αλλά και της απορρόφησης των λιπόφιλων βιταμινών στα τρόφιμα χαμηλών λιπαρών αποτελεί επιτακτική ανάγκη. Η χρήση πρωτεϊνικών μορίων και αμφίφυλων λιπιδικών υπερδομών (λιποσωμάτων) μπορεί να αποβεί χρήσιμη αφού αυξάνει τη διαλυτότητά των βιταμινών, χωρίς να αλλάζει τον υδρόφιλο χαρακτήρα του μέσου. Παρόλο που λιπιδικοί φορείς έχουν εκτενώς χρησιμοποιηθεί στη βιομηχανία τροφίμων για την ικανότητά τους να σταθεροποιούν γαλακτώματα, η ανάγκη για έναν περισσότερο σταθερό και αποδοτικό φορέα ευαίσθητων μορίων αποτελεί ακόμη πρόκληση. Η μελέτη δυο διαφορετικών φορέων δίνει την δυνατότητα επιλογών σχετικά με: το μέγεθος του φορέα, τη φύση (λιπόσωμα ή πρωτεϊνικό μόριο), το είδος (φυσικό προϊόν ή κατασκευασμένο) και φυσικά το κόστος.

Η κατανόηση των μοριακών μηχανισμών με τους οποίους αυτό επιτυγχάνεται με την εφαρμογή βιοφυσικών και βιοχημικών τεχνικών, θα χρησιμεύσει ώστε να επιτευχθεί: οξειδωτική προστασία των βιταμινών από το χημικό τους περιβάλλον, έλεγχος του ρυθμού αποδέσμευσης από το φορέα ή προσδέτη (ligand), με αποτέλεσμα αποδοτικότερη μεταφοράαπομάκρυνση και βιοδιαθεσιμότητα λιποδιαλυτών ουσιών και βιταμινών ειδικότερα.

Στο πλαίσιο λοιπόν της μελέτης της σύνδεσης των λιπόφιλων βιταμινών με λιπιδικές υπερδομές, έγινε η ανάπτυξη και η εκτίμηση ενός νέου λιπιδικού φορέα (λιπόσωμα/β-Lg) που προσομοιάζει με τη δομή της κυτταρικής μεμβράνης, αφού περιέχει εκτός των λιπιδίων και την πρωτεΐνη β-γαλακτοσφαιρίνη (β-Lg).

Τα λιποσώματα έχουν ήδη αξιολογηθεί ως αποδοτικοί φορείς για την προστασία, την ελεγχόμενη διάθεση και τη μεταφορά ευαίσθητων μορίων. Η β-Lg (η κύρια πρωτεΐνη του ορού του γάλακτος των μηρυκαστικών) έχει επιλεχθεί ως πρωτεΐνη μοντέλο, εξαιτίας της φυσικής της προέλευσης αλλά και της ικανότητάς της να προσδένει λιπόφιλα μόρια. Διάφορες τεχνικές χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση τόσο της απόδοσης όσο και της σταθερότητας του νέου αυτού φορέα [Φασματοσκοπία Φθορισμού (Fluorescence Spectroscopy), Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Πίεσης (High-performance liquid chromatography- HPLC), Φασματοσκοπία Υπερύθρου με μετασχηματισμό Fourier (Fourier transform infrared spectroscopy-FT-IR), Θερμιδομετρία Διαφορικής Σάρωσης (Differential Scanning Calorimetry- DSC), Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης (Scanning Electron Microscopy, SEM), Δυναμική σκέδαση φωτός (Dynamic Light Scattering-DLS)]

Τα αποτελέσματα αυτής της διατριβής έδειξαν ότι το νεοδημιουργηθέν σύστημα εγκλωβισμού στο οποίο συνδυάζονται ο λιποσωμικός φορέας και η πρωτεΐνη β-Lg (και τα οποία είναι φυσικής προελεύσεως) παρουσίασε υψηλό ποσοστό εγκλωβισμού για τις βιταμίνες A, E και D και μία βελτιωμένη σταθερότητα. Κατ' επέκταση μπορεί να παρέχει αυξημένη προστασία για το εγκλωβιζόμενο μόριο, σε σχέση με την προστασία μετά από τον εγκλωβισμό των βιταμινών αυτών σε λιποσωμικά σωματίδια απουσία της πρωτεΐνης. Τα χαρακτηριστικά αυτά υποδηλώνουν ότι ο νέος φορέας αποτελεί ένα πολλά υποσχόμενο σύστημα εγκλωβισμού και μεταφοράς.

Για να αξιολογηθεί περαιτέρω η αποτελεσματικότητα του νέου φορέα, πειράματα βιοδραστικότητας της βιταμίνης A τόσο σε ελεύθερη μορφή (διαλυτοποιημένη σε έλαιο) όσο και εγκλωβισμένη στο νέο

φορέα (διαλυτοποιημένη σε υδατικό μέσο) έγιναν σε πειραματόζωα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η βιοδιαθεσιμότητα της ρετινόλης μπορεί να είναι χαμηλότερη όταν αυτή χορηγείται μέσω του νέου φορέα σε σχέση με τη χορήγηση σε έλαιο, παρ' όλα αυτά είναι αρκετά ικανοποιητική αν αναλογιστούμε ότι αποφεύγουμε τη χρήση λιπώδους μέσου για τη χορήγησή της, ενός μέσου με πολλαπλά μειονεκτήματα για τον οργανισμό. Η τροποποιημένη βιοδραστικότητα- βιοδιαθεσιμότητα της εγκλωβισμένης βιταμίνης σχετίζεται με τις τροποποιημένες φυσικοχημικές της ιδιότητες και κατ' επέκταση με τη διαφοροποιημένη ικανότητα διαπέρασης των κυτταρικών μεμβρανών.

Για τη μελέτη και την αξιολόγηση της σύνδεσης των λιπόφιλων βιταμινών με πρωτεϊνικά μόρια, επιλέχθηκε ως πρωτεΐνη φορέας- στόχος η β-Lg. Όπως αναφέρθηκε ήδη παραπάνω, η β-Lg αποτελεί την κύρια πρωτεΐνη του ορού γάλακτος των μηρυκαστικών και οι ιδιότητές της έχουν εκτενώς μελετηθεί. In vitro μελέτες πρόσδεσης που έχουν λάβει χώρα στην βόεια β-Lg έχουν δείξει ότι είναι ικανή να προσδένει μία ποικιλία προσδετών, οι περισσότεροι από τους οποίους είναι μικρά, υδρόφοβα μόρια, όπως λιπαρά οξέα ή βιταμίνες.

Τόσο λόγω της φυσικής της προέλευσης όσο και της ήδη τεκμηριωμένης θέσης πρόσδεσης που φέρει, η β-Lg μπορεί να αποτελέσει έναν αποτελεσματικό φορέα για τις ευαίσθητες λιπόφιλες βιταμίνες και για όλους αυτούς τους λόγους, χρησιμοποιήθηκε ως ο «υπό μελέτη πρωτεϊνικός φορέας» των τεσσάρων λιπόφιλων βιταμινών. Ο βαθμός σύνδεσής της με τα ευαίσθητα αυτά λιπόφιλα μόρια μελετήθηκε και αξιολογήθηκε με μία εξαιρετικά ευαίσθητη τεχνική προσδιορισμού (Θερμιδομετρία Ισόθερμης Τιτλοδότησης- IsothermalTitrationCalorimetry, ITC). Υπολογίστηκε μία σταθερά σύνδεσης αρκετά ικανοποιητική και για τις τέσσερεις βιταμίνες που μελετήθηκαν, κάνοντας έτσι την β-Lg έναν ισχυρό και αποτελεσματικό πρωτεϊνικό φορέα.

Εν κατακλείδι, τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μοντέλο για την εκτίμηση της πραγματικής συμπεριφοράς λιπιδικών και πρωτεϊνικών φορέων σε τρόφιμα και βιολογικά συστήματα, διευρύνοντας το φάσμα της κατανόησης και αποσκοπώντας σε άμεσες εφαρμογές. Η τροποποιημένη συγκέντρωση, αντιοξειδωτική προστασία και βιοδιαθεσιμότητα των βιταμινών μετά από τον εγκλωβισμό ή σύνδεση με τους συγκεκριμένους λιπιδικούς και πρωτεϊνικούς φορείς που μελετήθηκαν σε αυτή την εργασία, αναμένεται να έχει εφαρμογές σε τρόφιμα και φαρμακευτικά σκευάσματα.

Λέξεις κλειδιά: Λιπόφιλες βιταμίνες, λιποσώματα, β-γαλακτοσφαιρίνη, νέος φορέας, εγκλωβισμός, σταθερότητα

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Γεώργιος Κοντοπίδης, Αναπληρωτής Καθηγητής Βιοχημείας, Τμήμα Κτηνιατρικής Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας *(επιβλέπων)*

Όλγα Γκορτζή, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Χημείας Τροφίμων με έμφαση στην τεχνολογία και στην εφαρμογή των λιποσωμάτων, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλίας

Ιωάννης Παππάς, Αναπληρωτής Καθηγητής Κτηνιατρικής Φαρμακολογίας, Τμήμα Κτηνιατρικής , Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Magdalini Rovoli

Association and bioactivity studies of lipophilic vitamins' binding to proteins and lipids

Abstract

The aim of this thesis is the association and bioactivity studies of lipophilic vitamins' binding to proteins and lipid molecules.

Vitamins are organic compounds, vital for normal growth and homeostasis of a living organism which is unable to synthesize them. Vitamins are classified as either water-soluble or hydrophilic (complex B vitamins and vitamin C) and fat-soluble or lipophilic (A, D, E and K vitamins).

Adequate absorption of fat soluble vitamins is fat dependent. As a consequence, fat soluble vitamins have limited intake and absorption in low fat food due to absence of their natural carriers (lipoproteins), which are removed from these foods and due to low fat percentage.

Low solubility of lipophilic vitamins in aqueous solutions is the major issue for their sufficient availability in these media. Lipophilic vitamins have significant role in nutrient and pharmaceutical products but are very sensitive molecules and thus, important to have an effective protection and delivery.

Encapsulation systems [use of specific proteins and lipidic vehicles (liposomes)] are a promising approach to preserve encapsulated lipophilic vitamins' native properties over time and

increase their concentration in aqueous media but also enhance absorption and bioavailability. Encapsulation reduces reactivity of lipophilic vitamins with environment (water, oxygen, light), toxicity, degradation and protects them from chemical changes. Although lipid vesicles have been widely used in the food industry for their emulsifying and emulsion stabilizing properties, the need of a more stable and efficient carrier for sensitive molecules is still a challenge. The ability of liposomes to encapsulate lipids and vitamins can be further improved by the presence of a second carrier added to the system.

The study and evaluation of two different types of carriers provides the advantage of choice, regarding size, type (liposome and protein), origin (synthetic or natural molecule) and of course cost. Protein molecules which possess carrier properties and lipid structures such as liposomes can efficiently entrap and deliver-release the encapsulated sensitive molecules.

One objective of this study was the comprehension of the molecular mechanisms through which the examined protein and lipid carriers would efficiently achieve: oxidative protection from the chemical environment, controlled release rate, efficient storage, transport and bioavailability of fat-soluble substances and vitamins in particular. This was examined by different biophysical and biochemical techniques.

In order to evaluate the encapsulation of lipophilic vitamins within a new lipid carrier, a liposome-protein complex was developed. This new formulation contained both lipidic and protein molecules [beta-lactoglobulin (β-Lg)] and also simulates the structure of cell membrane.

Liposomes have been assessed as efficient carriers for protection, controlled delivery and performance of sensitive molecules. Various types of liposome formulations have been made available, each differs in dimension, composition, surface charge and structure. The β-Lg (the major whey protein of ruminant species) has been selected as a model protein because of its own ability to bind lipophilic molecules. Various different techniques were used to evaluate this new formulation [Fluorescence Spectroscopy, High-performance liquid chromatography (HPLC), Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), Differential Scanning Calorimetry (DSC), Scanning Electron Microscopy (SEM), Dynamic Light Scattering (DLS)].

The results of this study showed that the newly synthesized delivery system (liposome/ β-Lg) presents higher encapsulation efficiency of vitamins A, E and D, compared to liposomes without the presence of the protein. Furthermore, a promising stability behavior of the new complex containing vitamins was observed. This could be an important factor, regarding its use as a carrier for sensitive molecules.

To further evaluate the effectiveness of this new carrier, vitamin A's bioavailability was evaluated with in vivo experiments in laboratory animals (mice). Vitamin A was administered in two different means. One group received vitamin A in free form, dissolved in oil and the second group received the same dose of vitamin encapsulated into the new carrier, dissolved in an aqueous solution. The different bioactivity- bioavailability of vitamin A for these two different means of administration was evaluated in the serum of laboratory animals, in predefined time intervals. According to the results, serum retinol levels regarding its administration into the new carrier were lower than those when it was administered in oil. Nevertheless these levels are quite satisfactory, considering the fact that we avoid the use of lipidic medium for the administration, a mean with multiple disadvantages for the organization. Vitamin A proved to have an efficient pharmacokinetic profile in serum when it was administered into the new carrier. A result which could be attributed to new carrier's modified physicochemical properties.

To study and evaluate the binding of lipophilic vitamins to protein molecules, β-Lg was selected as model protein because it possesses carrier properties of its own and due to its natural origin (milk). As it was already mentioned above, β-Lg is the major whey protein and its properties have been regularly reviewed. Until now, numerous in vitro binding studies have been carried out on the bovine β-Lg and showed that it can bind a variety of ligands, most of which are small, hydrophobic molecules such as fatty acids or vitamins.

The binding properties of the four vitamins with β-Lg (the selected model carrier protein) were also studied. The binding affinity of the fat soluble vitamins with the β-Lg was evaluated by using a highly sensitive technique. Satisfactory binding constants were measured for all vitamins, thus making β-Lg a powerful and effective protein carrier.

In conclusion, the results of this study can be used as a model for assessing the actual behavior of lipid and protein carriers, in various applications, such as foods and/or biological systems. The modified concentration, bioavailability and antioxidant protection of vitamins, after their encapsulation or binding with specific lipidic and/or protein carriers which were studied under this thesis, are expected to have applications in food and pharmaceutical formulations.

Key words: Lipophilic vitamins, liposomes, β-lactoglobulin, new carrier, encapsulation, stability

Three - Member Supervisory Committee

George Kontopidis, Associate Professor of Biochemistry, Faculty of Veterinary Medicine, School of Health Sciences, University of Thessaly, Greece (supervisor)

Olga Gortzi, Associate Professor of Food Chemistry with emphasis on the technology and application of liposomes, Department of Food Technology, Technological Educational Institute of Thessaly, Greece

Ioannis Pappas, Associate Professor of Veterinary Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, School of Health Sciences, University of Thessaly, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Gortzi, O.**, Rovoli, M., Lalas, S., Kontopidis, G. (2015). Development and evaluation of a phospholipid-sterol-protein membrane resembling system. *Food Biophysics*, 10, 300–308 (DOI 10.1007/s11483-015-9390-7).
2. **Rovoli, M.**, Gortzi, O., Lalas, S., Kontopidis, G. (2014). β-Lactoglobulin improves liposome's encapsulation properties for vitamin E delivery. *Journal of Liposome Research*, 24 - No.1, 74-81 (DOI: 10.3109/08982104.2013.839701).
3. **Rovoli, M.**, Gortzi, O., Lalas, S., Kontopidis, G. (2012). Development and evaluation of a novel membrane mimic system (PC/CHOL liposome-β-Lg formulation) for vitamin E delivery. *Journal Annals of Nutrition & Metabolism*, 60:131–145 (DOI:10.1159/000337881).

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες Presentations in scientific conferences and meetings-workshops

1. **Rovoli, M.**, Sawyer, L., Kontopidis, G. (2013, Δεκέμβριος). *Ικανότητα δέσμευσης συνθετικών λιπαρών οξέων στην βόεια β-γαλακτοσφαιρίνη. Κρυσταλλογραφικές και θερμοδυναμικές μελέτες*. Αναρτημένη Ανακοίνωση στο 64ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής εταιρείας Βιοχημείας & Μοριακής Βιολογίας, Αθήνα, Ελλάδα.

   Rovoli, M., Sawyer, L., & Kontopidis, G. (2013, December). *Non natural fatty acids binding affinity to bovine β-lactoglobulin: Crystallographic and thermodynamic studies*. Poster presented at 64th Congress of the Hellenic Society of Biochemistry and Molecular Biology, Athens, Greece.
2. **Rovoli, M.**, Gortzi, O., Lalas, S., & Kontopidis, G. (2012, March). *Development and evaluation of a novel membrane mimic system (PC/CHOL liposome- β-Lg formulation) for vitamin E delivery.* Poster presented at 15th International Meeting of Fat Soluble Vitamins (FSV), Kalambaka, Greece. 1st poster award of the French Society of Vitamins and Biofactors (SFVB) http://www.sfvb.org/telechargement/prix_posterKalaba.pdf

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Μαγδαλινή Δ. Ροβολή** γεννήθηκε στην Καρδίτσα, στις 29 Απριλίου 1982 και τελείωσε το 2000, το 2ο Γενικό Λύκειο Καρδίτσας (Βαθμός: 19, 2/ 20). Σπούδασε στο Τμήμα Μοριακής Βιολογίας και Γενετικής του Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης (Σεπτέμβριος 2001 – Σεπτέμβριος 2005, Βαθμός: 7,71/ 10). Έπειτα, παρακολούθησε το Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών με τίτλο «Βιολογία της Αναπαραγωγής», στο Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (Σεπτέμβριος 2006 – Σεπτέμβριος 2007, Βαθμός: 8,60/ 10). Τέλος, ολοκλήρωσε με επιτυχία τη διδακτορική της διατριβή, με τίτλο «Μελέτη σύνδεσης και βιοδραστικότητας βιταμινών μετά από τη σύνδεσή τους με πρωτεϊνικά και λιπιδικά μόρια», στο Εργαστήριο Βιοχημείας του Κτηνιατρικού Τμήματος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (Ιούνιος 2011-Φεβρουάριος 2015, Βαθμός: Άριστα).

Εργάστηκε για τριάμισι χρόνια (Ιανουάριος 2008- Μάιος 2011) ως Επιμελήτρια Κλινικών Μελετών (σε μελέτες φαρμάκων φάσης ΙΙ- ΙV), στην εταιρεία “MedWork” Pharma Research & Consulting (Contract Research Organization). Γνωρίζει άριστα Αγγλικά, ενώ έχει βασικές γνώσεις Ιταλικών. Έχει άριστες γνώσεις χρήσης ηλεκτρονικών υπολογιστών και ειδικά των προγραμμάτων Microsoft Word, Excel και Powerpoint. Για την εκπόνηση της διδακτορικής της διατριβής, έχει λάβει υποτροφία από το πρόγραμμα διδακτορικών υποτροφιών «Ηράκλειτος ΙΙ», καθώς επίσης έχει βραβευτεί από τη Γαλλική Εταιρεία Βιταμινών και Βιοπαραγόντων με το Βραβείο Καλύτερης Αναρτημένης Ανακοίνωσης στη 15η Διεθνή Συνάντηση Λιπόφιλων Βιταμινών (FSV) το 2012 (http://www.sfvb.org/telechargement/prix_posterKalaba.pdf).

Είναι μέλος της Ελληνικής Εταιρείας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας (ΕΕΒΜΒ). Οι επιστημονικές της δημοσιεύσεις περιλαμβάνουν δύο άρθρα σε διεθνή περιοδικά με κρίση και δύο ανακοινώσεις σε συνέδρια. Τα επιστημονικά της ενδιαφέροντα αφορούν στην ανάπτυξη και στις εφαρμογές της νανοτεχνολογίας τόσο στον φαρμακευτικό τομέα όσο και στον τομέα των τροφίμων και των καλλυντικών και ειδικά στη χρήση λιπιδικών και πρωτεϊνικών μορίων ως φορέων εγκλωβισμού και προστασίας ευαίσθητων μορίων.

E-mail:magdarovoli@gmail.com, mrovoli@vet.uth.gr

Short CV

Magdalini Rovoli was born in Karditsa, on April 29th 1982 and finished the 2nd High School of Karditsa in 2000 (GPA: 19, 2/ 20). She studied at the “Molecular Biology and Genetics” Department of the Democritus University of Thrace (September 2001 – September 2005, GPA: 7.7/ 10). She obtained her Master of Science in “Reproductive Biology” from the Faculty of Medicine of the University of Thessaly (September 2006-October 2007, GPA: 8.60/ 10). Finally, she successfully completed her doctoral dissertation (PhD) with title “Association and bioactivity studies of lipophilic vitamins’ binding to proteins and lipid molecules.” at the Biochemistry Laboratory of the Veterinary Medicine Faculty of the University of Thessaly (June 2011-February 2015, GPA: Excellent).

She worked as a Clinical Research Associate (Phase II, III, IV, drug trials) at “MedWork” Pharma Research & Consulting Company (Contract Research Organization) for three and a half years. She speaks and writes English fluently and she has basic knowledge of Italian. She has proficient computer skills with excellent knowledge of Microsoft Word, Excel & Powerpoint. Her doctoral work was financed by the PhD scholarship program “Heraclitus II” and she was honoured with the 1st Poster Award by the French Society of Vitamins and Biofactors (SFVB) at the 15th International Meeting of Fat Soluble Vitamins (March 2012) (http://www.sfvb.org/telechargement/prix_posterKalaba.pdf).

She is a member of the Hellenic Society for Biochemistry and Molecular Biology (HSBMB). Her scientific publications include two articles in peer reviewed international journals and two conference announcements. Her scientific interests are the development and applications of nanotechnology in pharmaceutical, food and cosmetics research. She is especially interested in the use of lipidic and protein molecules as carriers for protection of sensitive molecules.

E-mail:magdarovoli@gmail.com, mrovoli@vet.uth.gr

Εμμανουήλ Κ. Χατζής

Μελέτη της επιδημιολογίας και της κλινικής σημασίας της λοίμωξης της γάτας από Leishmania spp.

Περίληψη

Οι στόχοι της μελέτης αυτής ήταν η εκτίμηση της συχνότητας μόλυνσης των κλινικά υγιών και των ασθενών γατών μέσω της PCR σε τέσσερεις ιστούς, η ταυτοποίηση του υπεύθυνου είδους της *Leishmania*, η εκτίμηση του παρασιτικού φορτίου, η εκτίμηση της διαγνωστικής ευαισθησίας και ειδικότητας των κυτταρολογικών εξετάσεων και δύο ορολογικών εξετάσεων (IFAT και ELISA) και η διερεύνηση τυχόν συσχετισμών μεταξύ της μόλυνσης και των στοιχείων ταυτότητας των γατών, των συνθηκών διαβίωσής τους, της περιόδου του έτους που εξετάστηκαν, της μόλυνσής τους από διάφορους άλλους λοιμογόνους παράγοντες και της παρουσίας συμπτωμάτων και παθολογικών ευρημάτων από την αιματολογική, τις βιοχημικές εξετάσεις και την ανάλυση των ούρων.

Στη μελέτη περιλήφθηκαν 100 γάτες που ζούσαν στη Θεσσαλία και στη Μακεδονία και είχαν ηλικία τουλάχιστον 1 έτους και συγκεκριμένα 50 κλινικά υγιείς (ομάδα Α) και 50 γάτες με δερματικές αλλοιώσεις ή συμπτώματα από τους οφθαλμούς ή συμπτώματα ενδεικτικά της προσβολής των εσωτερικών οργάνων (ομάδα Β). Μετά τη λήψη του ιστορικού και την κλινική εξέταση, λαμβάνονταν βιολογικά υλικά και συγκεκριμένα αίμα, ούρα, κόπρανα, υλικό απόξεσης από το βλεννογόνο του απευθυσμένου, υλικό παρακέντησης λεμφογαγγλίου, ιστοτεμάχια δέρματος, μυελός των οστών και υλικό απόξεσης από το βλεννογόνο του επιπεφυκότα. Οι εξετάσεις που πραγματοποιήθηκαν ήταν: α) η PCR στο αίμα, τα ιστοτεμάχια του δέρματος, το μυελό των οστών και το βλεννογόνο του επιπεφυκότα β) η ταυτοποίηση του είδους της *Leishmania* μέσω της *in silico* ανάλυσης ομολογίας της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας του προϊόντος της PCR γ) η real-time PCR στα δείγματα που ήταν θετικά με την PCR δ) η κυτταρολογική εξέταση επιχρισμάτων από τη στιβάδα λευκών αιμοσφαιρίων-αιμοπεταλίων του αιματοκρίτη, το υλικό απόξεσης από το βλεννογόνο του απευθυσμένου, το υλικό παρακέντησης λεμφογαγγλίου, τα ιστοτεμάχια του δέρματος, τις δερματικές αλλοιώσεις των γατών της ομάδας Β, το μυελό των οστών και το υλικό απόξεσης από το βλεννογόνο του επιπεφυκότα, ε) οι ορολογικές εξετάσεις IFAT (για IgG και IgM ανοσοσφαιρίνες έναντι της *Leishmania spp.*) και ELISA (για IgG ανοσοσφαιρίνες έναντι της *Leishmania spp.*) στ) η αιματολογική εξέταση ζ) η πλήρης βιοχημική εξέταση στον ορό του αίματος η) η ανάλυση των ούρων και η μέτρηση του λόγου πρωτεΐνες/κρεατινίνη θ) οι ορολογικές εξετάσεις για FeLV, FIV, FCV, T. *gondii* και *B. henselae* ι) η παρασιτολογική εξέταση των κοπράνων και ια) διάφορες άλλες εξετάσεις που ήταν απαραίτητες προκειμένου να επιτευχθεί η κατά το δυνατό ακριβέστερη αιτιολογική διάγνωση στις γάτες της ομάδας Β.

Οι συγκρίσεις μεταξύ των γατών των ομάδων Α και Β σε ό, τι αφορά τα στοιχεία ταυτότητας, τις συνθήκες διαβίωσης και την περίοδο του έτους που εξετάστηκαν έδειξαν ότι οι τελευταίες είχαν μεγαλύτερη ηλικία (P<0,001), ζούσαν λιγότερο συχνά σε εξωτερικούς χώρους (P<0,001) και ζούσαν συχνότερα σε αστικές περιοχές (P=0,019). Δερματικές αλλοιώσεις που έχουν αναφερθεί σε γάτες με λεϊσμανίωση διαπιστώθηκαν σε 18/50 (36%) γάτες της ομάδας Β, συμπτώματα από τους οφθαλμούς σε 1/50 (2%) και συμπτώματα ενδεικτικά προσβολής των εσωτερικών οργάνων σε 28/50 (56%). Στις τελικές διαγνώσεις των γατών αυτών περιλαμβάνονταν 31 νοσήματα ή παθολογικές καταστάσεις αλλά σε καμία γάτα δεν έγινε διάγνωση λεϊσμανίωσης.

Η *L. infantum* ήταν το υπεύθυνο είδος και το DNA της απομονώθηκε από έναν ή περισσότερους ιστούς 41 γατών και συγκεκριμένα από 21/50 γάτες της ομάδας Α και 20/50 της ομάδας Β (*P*=0,839). Το αποτέλεσμα της PCR διέφερε (*P*=0,014) μεταξύ των τεσσάρων ιστών (αίμα, ιστοτεμάχια δέρματος, μυελός των οστών, υλικό απόξεσης επιπεφυκότα) και ήταν λιγότερο συχνά θετικό στο τελευταίο, σε σύγκριση με τα ιστοτεμάχια του δέρματος (*P*=0,007) και το μυελό των οστών (*P*=0,007). Η πιθανότητα θετικού αποτελέσματος της PCR σε έναν ή περισσότερους ιστούς ήταν μεγαλύτερη (*P*=0,046, OR: 0,44) όταν η δειγματοληψία γινόταν την περίοδο δραστηριότητας των φλεβοτόμων και προκειμένου για τις γάτες της ομάδας Β, όταν αυτές εμφάνιζαν ένα τουλάχιστον σύμπτωμα ενδεικτικό της προσβολής των εσωτερικών οργάνων που έχει συνδεθεί με τη λεϊσμανίωση της γάτας (P=0,031, OR: 3,93). Το παρασιτικό φορτίο στο αίμα κυμαίνονταν από 28-238 παράσιτα/ml (διάμεσος: 87) στα ιστοτεμάχια του δέρματος, από 29-325 (διάμεσος: 96) στο μυελό των οστών, από 26-352 (διάμεσος: 131) και στο υλικό απόξεσης από το βλεννογόνο του επιπεφυκότα από 198-283 (διάμεσος: 241). Οι κυτταρολογικές εξετάσεις ήταν αρνητικές σε όλες τις γάτες της μελέτης.

IgG ανοσοσφαιρίνες έναντι της *Leishmania spp.* βρέθηκαν σε 10 γάτες (5 από την ομάδα Α και 5 από την ομάδα Β) με την IFAT και σε μια γάτα (από την

ομάδα Α) με την ELISA, ενώ IgM ανοσοσφαιρίνες βρέθηκαν σε μια γάτα (από την ομάδα Α) με την IFAT. Τα αποτελέσματα της IFAT για IgG (P<0,001), της ELISA (P<0,001) και της IFAT για IgM (P<0,001) διέφεραν από εκείνα της PCR, κυρίως λόγω της πολύ μικρής τους ευαισθησίας (0-14,3%), ενώ τα αποτελέσματα της IFAT για IgG διέφεραν από εκείνα της ELISA (P=0,039) και δε συνδέονταν με κανένα από τα στοιχεία ταυτότητας των γατών, τις συνθήκες διαβίωσής τους, την περίοδο της δειγματοληψίας, την ομάδα τους ή την κλινική εικόνα των γατών της ομάδας Β.

Δεν υπήρχε κάποια διαφορά στα αποτελέσματα της αιματολογικής εξέτασης ή της ανάλυσης των ούρων μεταξύ των μολυσμένων από την *L. infantum* και των μη μολυσμένων γατών, αλλά οι μολυσμένες γάτες της ομάδας Β είχαν συχνότερα αυξημένη δραστηριότητα ALP (*P*=0,032) και αυξημένες συγκεντρώσεις ολικής χολερυθρίνης (*P*=0,032), όπως και ανόργανου φωσφόρου (*P*=0,03) σε σύγκριση με τις μη μολυσμένες γάτες της ίδιας ομάδας.

Τα αποτελέσματα των ορολογικών εξετάσεων για FeLV, FIV, FCV, T. *gondii* και *B. henselae* δε διέφεραν μεταξύ των γατών των ομάδων Α και Β, μεταξύ των μολυσμένων και των μη μολυσμένων γατών ή μεταξύ των ορολογικά θετικών και ορολογικά αρνητικών γατών.

Συμπερασματικά, από τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής προκύπτει ότι: α) η L. infantum είναι το μόνο είδος του γένους *Leishmania* που βρέθηκε στις μολυσμένες γάτες από τη Θεσσαλία και τη Μακεδονία β) η συχνότητα μόλυνσης της γάτας από την *L. infantum* είναι αρκετά μεγάλη (41%) και δε διαφέρει μεταξύ των κλινικά υγιών γατών (42%) και εκείνων που εμφανίζουν δερματικές αλλοιώσεις, συμπτώματα από τους οφθαλμούς ή συμπτώματα ενδεικτικά της προσβολής των εσωτερικών οργάνων (40%) γ) η εξέταση δειγμάτων από πολλαπλούς ιστούς με την PCR είναι απαραίτητη προκειμένου να μην υποεκτιμηθεί η συχνότητα μόλυνσης της γάτας από την *L. Infantum* δ) η διαγνωστική ευαισθησία της PCR για την ανίχνευση του DNA της *L. infantum* στη γάτα διαφέρει μεταξύ των τεσσάρων ιστών που εξετάστηκαν και είναι σημαντικά μικρότερη στο υλικό απόξεσης από το βλεννογόνο του επιπεφυκότα σε σύγκριση με τα ιστοτεμάχια του δέρματος και το μυελό των οστών ε) κανένας παράγοντας που να σχετίζεται με τα στοιχεία ταυτότητας των γατών και τις συνθήκες διαβίωσής τους δε συνδέεται με την πιθανότητα μόλυνσης από την *L. infantum* αλλά η πιθανότητα αυτή είναι μεγαλύτερη όταν οι γάτες εξετάζονται την περίοδο δραστηριότητας των φλεβοτόμων στ) η πιθανότητα μόλυνσης δε διαφέρει μεταξύ των γατών που είναι ορολογικά θετικές ή αρνητικές για FeLV, FIV, FCV, T. *gondii* και *B. Henselae* ζ) όλες οι γάτες αιμοδότες ή οι μονάδες αίματος γάτας που προορίζονται για μετάγγιση πρέπει να ελέγχονται με PCR για *L. infantum* προκειμένου να αποφευχθεί η μέσω των μεταγγίσεων μετάδοση του παρασίτου σε άλλες γάτες η) η κυτταρολογική εξέταση επιχρισμάτων από τη στιβάδα των λευκών αιμοσφαιρίων-αιμοπεταλίων του αιματοκρίτη, το υλικό απόξεσης από το βλεννογόνο του απευθυσμένου, το υλικό παρακέντησης λεμφογαγγλίου, τα ιστοτεμάχια του δέρματος, τις δερματικές αλλοιώσεις, το μυελό των οστών και το υλικό απόξεσης από το βλεννογόνο του επιπεφυκότα δε συνίσταται για τον έλεγχο της συχνότητας μόλυνσης της γάτας από *L. Infantum*, λόγω της μικρής της ευαισθησίας, θ) οι ορολογικές εξετάσεις IFAT και ELISA για την ανίχνευση IgG ανοσοσφαιρινών έναντι της *L. infantum* χαρακτηρίζονται από πολύ μικρή ευαισθησία, ενώ αντίθετα, έχουν σχετικά μεγάλη ειδικότητα (ιδιαίτερα η ELISA), ι) η πιθανότητα θετικού αποτελέσματος της IFAT για την ανίχνευση IgG ανοσοσφαιρινών έναντι της *L. infantum* δεν εξαρτάται από την ταυτόχρονη μόλυνση από FeLV, FIV, FCV, T. *gondii* ή *B. henselae* ια) η πιθανότητα μόλυνσης είναι μεγαλύτερη σε γάτες που εμφανίζουν ένα τουλάχιστον σύμπτωμα που είναι ενδεικτικό της προσβολής των εσωτερικών οργάνων και έχει συνδεθεί με τη λεϊσμανίωση της γάτας καθώς και στις ασθενείς γάτες που έχουν αυξημένη δραστηριότητα της ALP ή αυξημένη συγκέντρωση της ολικής χολερυθρίνης και του ανόργανου φωσφόρου.

Λέξεις κλειδιά: λεϊσμανίωση, γάτα, *Leishmania* infantum, επιδημιολογική σημασία

Τριμελής Συμβουλευτικη Επιτροπή

Εμμανουήλ Ν. Σαριδομιχελάκης, Αναπληρωτής Καθηγητής, Παθολογική Κλινική Τμήμα Κτηνιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Καρδίτσα *(επιβλέπων)*

Λεωνίδας Λεοντίδης, Καθηγητής, Εργαστήριο Βιοστατιστικής, Επιδημιολογίας και Οικονομίας Ζωικής Παραγωγής, Τμήμα Κτηνιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Καρδίτσα

Τιμολέων Ράλλης, Καθηγητής, Κλινική Ζώων Συντροφιάς, Κτηνιατρική Σχολή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Emmanouil K. Chatzis

Study on the epidemiology and the clinical importance of feline infection by Leishmania spp.

Summary

Feline infection by *L. infantum* has been reported in areas where canine leishmaniosis is endemic, including Mediterranean countries, Portugal, Brazil and Iran. The epidemiologic importance of feline infection by the parasite remains obscure due to the relatively low number of properly designed epidemiological surveys, their conflicting results and the limited body of scientific evidence on the propensity of infected cats to transmit *L. infantum* to sandflies. Based on current evidence, it seems that cats residing in endemic areas become more or less commonly infected by *L. infantum*, usually without presenting clinical signs or laboratory abnormalities, because of their innate resistance. However, a minority of the infected cats may present skin lesions (mainly ulcers and nodules), ocular and/or systemic signs (especially peripheral lymphadenomegaly, splenomegaly, hepatomegaly and kidney disease) that can be accompanied by laboratory abnormalities, including anemia, hyperglobulinemia, azotemia, increased activity of ALP, ALT and AST and proteinuria. In the context of epidemiological investigations, feline infection by *L. infantum* is usually diagnosed using molecular (PCR) and serological tests, whereas cytology, histopathology and culture can be additionally employed when there is suspicion of the disease.

The aims of this study are to estimate the frequency of the infection in clinically healthy and sick cats, to identify the responsible *Leishmania* species, to investigate the parasitic load of infected cats, to explore the diagnostic sensitivity and specificity of cytology and serology (IFAT and ELISA) and to investigate possible associations between the infection and the signalment, living conditions, period of sampling, infection by other agents and presence of clinical signs or laboratory abnormalities.

A total of 100 cats, older than 1 year, from Thessaly and Macedonia, Greece, were included and they were allocated into two groups: group A included 50 clinically healthy cats and group B included 50 cats with skin lesions, ocular and/or systemic signs. After history and physical examination, sampling of blood, urine, feces, rectal mucosa scrapes, lymph node aspirates, skin biopsies, bone marrow aspirates and conjunctival smears were performed. Laboratory examinations included: a) PCR in blood, skin biopsies, bone marrow and conjunctiva b) identification of *Leishmania* species through nucleotide sequence analysis of PCR products c) real-time PCR in conventional PCR-positive samples d) cytology of buffy coat, rectal mucosal scrapes, lymph node aspiration smears, impression smears from skin biopsies, smears from the lesional skin of group B cats, bone marrow and conjunctival smears e) serology, including IFAT for IgG and IgM against *Leishmania spp*. and ELISA for IgG f) hematology g) serum biochemistry h) urinalysis including urine protein/creatinine ratio i) serology for FeLV, FIV, FCV, T. *gondii* and *B. henselae* j) fecal parasitology k) various additional diagnostic examination in group B cats in an effort to achieve, as precisely as possible, a definitive etiological diagnosis.

Differences between group A and group B cats related to their signalment and living conditions included the older age ($P<0.001$), less frequent outdoor lifestyle ($P<0,001$) and common residency in urban areas ($P=0.019$) of the latter. Skin lesions compatible with feline leishmaniosis were present in 18/50 (36%) group B cats, ocular signs in 1/50 (2%) and systemic signs in 20/28 (56%). Final diagnoses included 31 diseases but none of the cats was diagnosed with feline leishmaniosis.

L. infantum was identified in all infected cats and PCR was positive in 41 of them, including 21/50 group A and 20/50 group B cats ($P=0.839$). The results of PCR differed ($P=0.014$) among the four types of samples (blood, skin biopsies, bone marrow, conjunctiva) being less frequently positive in the latter compared to the skin biopsies ($P=0.007$) and bone marrow ($P=0.007$). The possibility for positive PCR in one or more samples was higher ($P=0.046$; OR: 0.44) when sampling had been performed during the period of sandfly activity, as well as, when group B cats presented at least one

systemic sign compatible with feline leishmaniosis (P=0.031; OR: 3.93). Parasitic density ranged from 28-238 parasites/ml (median: 87) in the blood, 29-325 (median: 96) in skin biopsies, 26-352 (median: 131) in bone marrow and 198-283 (median: 241) in conjunctiva. Cytology was negative in all cats.

Based on IFAT, IgG against *Leishmania spp.* were present in 10 cats (5 from group A and 5 from group B) and in one group A cat based on ELISA, whereas, IFAT for IgM was positive in one group A cat. The results of IFAT for IgG (P<0,001) of ELISA (P<0,001) and of IFAT for IgM (P<0,001) were significantly different compared to PCR, mainly due to the low sensitivity of serology (0-14.3%). Furthermore, the results of IFAT for IgG were significantly different from the results of ELISA (P=0.039) and were not associated with the signalment, living conditions, sampling period or clinical status of the study population.

There was no important difference in the results of hematology and urinalysis between infected and non-infected cats, but an increased frequency of increased ALP activity (P=0.032) and of increased total bilirubin (P=0.032) and inorganic phosphorus (P=0.03) was witnessed in the former cats.

Serology for FeLV, FIV, FCV, T. gondii and B. henselae did not differ between group A and group B cats, between infected and non-infected cats and between seropositive and seronegative cats.

In conclusion, the results of this study show that: a) *L. infantum* is the only Leishmania species found to infect cats from Thessaly and Macedonia, Greece b) the prevalence of the infection is considerable (41%) and does not differ between clinically healthy cats (42%) and cats with skin lesions, ocular signs and/or systemic signs (40%) c) multiple tissue examination with PCR is necessary to avoid underestimation of the prevalence of the infection d) the diagnostic sensitivity of PCR differs among tissues and it is significantly lower for conjunctiva compared to skin biopsies and bone marrow e) there is no factor relevant to the signalment and living conditions that influences the prevalence of the infection, but the latter is higher when sampling is performed during the period of sandfly activity f) the prevalence of the infection does not differ between cats that are seropositive or seronegative for FeLV, FIV, FCV, T. *gondii* and *B. henselae* g) all blood donor cats or the feline blood units should be examined with PCR to avoid the transmission of *L. infantum* through transfusions of blood h) cytological examination of buffy coat, rectum smear, lymph node, skin, bone marrow and conjunctiva lacks sensitivity and is not recommended in the context of epidemiological investigations i) IFAT and ELISA are characterized by high specificity but low sensitivity for the diagnosis of the infection which makes the results of seroepidemiological studies of questionable validity j) the probability of positive IFAT for IgG is not associated with seropositivity to FeLV, FIV, FCV, *T. gondii* or *B. henselae* k) prevalence of infection is higher in cats with at least one systemic sign compatible with feline leishmaniosis, in cats with increased ALP activity and in cats with increased total bilirubin or inorganic phosphorus serum concentrations.

Key words: leishmaniasis, feline, *Leishmania* **infantum, epidemiologic importance**

Three – Member Supervisory Committee

Emmanouil N. Saridomichelakis, Associate Professor, Clinic of Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Thessaly, Karditsa, Greece

Leonidas Leontides, Professor, Laboratory of Epidemiology, Biostatistics and Animal Health Economics, Faculty of Veterinary Science, University of Thessaly, Karditsa, Greece

Timoleon Rallis, Professor, Companion Animal Clinic (Medicine), Faculty of Veterinary Sciences, Aristotle University of Thessaloniki, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within "Heraclitus II" programme

Άρθρα σε περιοδικά / Articles in journals

1. **Chatzis, M.K.,** Andreadou, M., Leontides, L., Kasabalis, D., Mylonakis, M., Koutinas, A.F., Rallis,T., Ikonomopoulos, J., Saridomichelakis, M.N. (2014). Cytological and molecular detec-

tion of *Leishmania infantum in different tissues of clinically normal and sick cats*. Veterinary Parasitology, 202(3-4), 217-225.

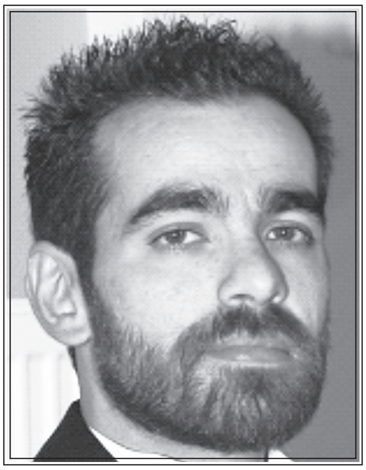
2. **Chatzis, M.K.**, Leontides, L., Athanasiou, L.V., Papadopoulos, E., Kasabalis, D., Mylonakis, M., Rallis, T., Koutinas, A.F., Andreadou, M., Ikonomopoulos, J., Saridomichelakis, M.N. (2014). Evaluation of indirect immunofluorescence antibody test and enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of infection by Leishmania infantum in clinically normal and sick cats. *Experimental Parasitology*, 147, 54-59.

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων - βιβλία περιλήψεων Publications in conference proceedings - books of abstracts

1. **Chatzis, M.K.**, Athanasiou, L.V., Papadopoulos, E., Kasabalis, D., Apostolides, K., Petanides, T., Mylonakis, M., Rallis, T., Leontides, L., Dotsika, E., Koutsoni, O., Koutinas, A.F., Saridomichelakis, M.N. (2013). A cross-sectional survey of leishmaniosis in clinically normal and sick cats in Greece with IFAT and ELISA (abstract). *Veterinary Dermatology, 24*(4), p. 380.

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες Presentations in scientific conferences and meetings-workshops

1. **Chatzis**, M.K., Athanasiou, L.V., Papadopoulos, E., Kasabalis, D., Apostolides, K., Petanides, T., Mylonakis, M., Rallis, T., Leontides, L., Dotsika, E., Koutsoni, O., Koutinas, A.F., Saridomichelakis, M.N. (2013, September). *A cross-sectional survey of leishmaniosis in clinically normal and sick cats in Greece with IFAT and ELISA*. Short communication and poster presented at 26th Annual Congress of the European Society of Veterinary Dermatology (ESVD-ECVD).



Σύντομο βιογραφικό

Ο **Εμμανουήλ Κ. Χατζής** ξεκίνησε το Σεπτέμβριο του 1999 τη φοίτησή του στο Τμήμα Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στην Καρδίτσα, από το οποίο αποφοίτησε το Νοέμβριο του 2006.

Από τα τέλη του Νοεμβρίου μέχρι το Μάιο του 2008, υπήρξε μετεκπαιδευόμενος κτηνίατρος (ΚΕΜ) στην Κλινική Παθολογίας των Ζώων Συντροφιάς του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Μετά το τέλος της μετεκπαίδευσης, συμμετείχε καθημερινά στις δραστηριότητες της Παθολογικής Κλινικής του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Από τον Ιούλιο του 2008 μέχρι τον Μάρτιο του 2014, εκπόνησε διδακτορική διατριβή στην Κλινική της Παθολογίας Ζώων Συντροφιάς του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, με θέμα: «Μελέτη της επιδημιολογίας και της κλινικής σημασίας της μόλυνσης της γάτας από *Leishmania* spp.», η οποία ολοκληρώθηκε ύστερα από τη δημόσια υποστήριξη και την αναγόρευσή του σε Διδάκτορα του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, με βαθμό «Άριστα».

Από το Μάρτιο του 2010 μέχρι και την ολοκλήρωση της παραπάνω διδακτορικής διατριβής υπήρξε υπότροφος του προγράμματος διδακτορικών υποτροφιών ”Ηράκλειτος ΙΙ” .

Short CV

Manolis K. Chatzis started his studies, in September 1999, at the Faculty of Veterinary Medicine of the University of Thessaly, in Karditsa, Greece, from where he graduated in November 2006.

From late November 2006 until May 2008, he was a postgraduate veterinarian (KEM) in the Clinic of Small Animal Medicine at the Faculty of Veterinary Medicine, University of Thessaly.

From July 2008 until March 2014, he was a PhD Student in the Clinic of Small Animal Medicine at the Faculty of Veterinary Medicine of the University of Thessaly. His doctoral work, entitled «Study of the epidemiology and clinical significance of feline infection with Leishmania spp.» was completed after the public support of his thesis at the Faculty of Veterinary Medicine of the University of Thessaly, with grade “Excellent”.

His doctoral studies, from 2010 until the completion of his thesis, were supported by a “Heraclitus II” PhD scholarship.

Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας
Department of Biochemistry and Biotechnology

Στέλλα Γεωργίου

Η έκφραση της σκελετικής ελαφριάς αλυσίδας 2 της μυοσίνης στην τσιπούρα (*Sparus aurata, L.*): ρύθμιση και συσχέτιση με δείκτες αύξησης

Περίληψη

Στο σκελετικό μυ της τσιπούρας (*Sparus aurata, L*), εκφράζονται δύο ισομορφές της ελαφριάς αλυσίδας 2 της μυοσίνης (myosin light chain 2: MLC2), A και B. Η MLC2A κωδικοποιείται από τρία μετάγραφα που παράγονται με επιλογή του εναλλακτικού σήματος πολυαδενυλίωσης και διαφέρουν στην 3' αμετάφραστη περιοχή (3' untranslated region: 3' UTR). Η MLC2A είναι δείκτης των νεοσυντιθέμενων μυϊκών ινών αφού η έκφρασή της ξεκινά με την έναρξη της μυϊκής διαφοροποίησης *in vivo* και *in vitro*. Ως μέρος του μηχανισμού σύσπασης, τα μετάγραφα της MLC2A πιθανώς αυξάνονται, προκειμένου να παράξουν τις επαρκείς ποσότητες πρωτεΐνης, για να υποστηρίξουν τον αυξανόμενο όγκο και τη λειτουργία του αυξανόμενου μυϊκού κυττάρου. Η ύπαρξη των τριών εναλλακτικών μεταγράφων υποδεικνύει την ύπαρξη ενός περίτεχνου μετα-μεταγραφικού μηχανισμού ρύθμισης, ο οποίος κυβερνάται από στοιχεία που εδράζονται στα 3' UTRs στην τσιπούρα. Η MLC2A αντικαθίσταται από την MLC2B μετά το στάδιο της μεταμόρφωσης. Και οι δύο ισομορφές είναι στόχοι δράσης της αυξητικής ορμόνης, αν και ο τρόπος ρύθμισής τους διαφέρει.

*C*is-acting ρυθμιστικά στοιχεία που εδράζονται στα 3' UTRs προβλέφθηκαν με προγράμματα βιοπληροφορικής. Η λειτουργικότητα των 3' UTRs, σε αλληλεπίδραση με το πρωτεϊνικό οπλοστάσιο του κυττάρου, μελετήθηκε *in vitro*, με συστήματα αναφοράς λουσιφεράσης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα τρία μετάγραφα υπόκεινται σε διαφορετική ρύθμιση ανάλογα με το μήκος του 3' UTR, ενώ βρέθηκαν ρυθμιστικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μεταγράφων. Η υψηλότερη έκφραση της λουσιφεράσης παρατηρήθηκε στην κυτταρική σειρά CHO, όταν μετασχηματίστηκε με τις κατασκευές MLC2A-medium και MLC2A-long 3' UTR (MLC2A-medium και MLC2A-long 3' UTR constructs).Τα κύτταρα που αναπτύσσονται με γρήγορους ρυθμούς σε συνθήκες κυτταροκαλλιέργειας εκφράζουν μικρότερα μετάγραφα για την παραγωγή περισσότερης πρωτεΐνης. Λιγότερα *c*is-acting αρνητικά ρυθμιστικά στοιχεία προβλέφθηκαν στο MLC2A-short 3' UTR, ενώ το MLC2A-short 3' UTR εκφράστηκε στα χαμηλότερα επίπεδα. Η απόδοση της μετάφρασης και οι μετα-μεταγραφικές τροποποιήσεις των μορίων mRNA με μεγαλύτερα 3' UTRs εξαρτώνται από τις αναδιπλώσεις των μορίων mRNA. Τα μετάγραφα MLC2A-medium και MLC2A-long ήταν πιο θερμοδυναμικά σταθερά από το MLC2A-short και ως εκ τούτου η έκφρασή τους ήταν πιο θερμοδυναμικά ευνοημένη, όπως αποδείχτηκε από την υψηλότερη έκφρασή της λουσιφεράσης τους συγκριτικά με τα επίπεδα λουσιφεράσης του μικρού μεταγράφου. Η αυξημένη έκφραση της λουσιφεράσης του MLC2A-long είναι αντίθετη με δεδομένα από μυϊκό ιστό και κύτταρα όπου το MLC2A-short εκφράζεται περισσότερο. Η έκφραση του μεταγράφου με το μικρότερο 3' UTR κυριαρχεί στο μυογενετικό περιβάλλον του λευκού μυ υπό τη ρύθμιση των μυογενετικών παραγόντων που απουσιάζουν από τη CHO κυτταρική σειρά. Το MLC2A-short μπορεί να είναι το επιλεγμένο μετάγραφο για το υψηλά δυναμικό περιβάλλον διαφοροποίησης και ανάπτυξης εξαιτίας της θερμοδυναμικής του αστάθειας: η μυϊκή διαφοροποίηση συμβαίνει με γρήγορο ρυθμό και οι μηχανισμοί γονιδιακής ρύθμισης πρέπει να ακολουθούν αυτόν το ρυθμό.

Η γονιδιακή οργάνωση των δύο ισομορφών και οι συντενικές σχέσεις μεταξύ των *Sparus aurata, Dicentrarchus labrax, Danio rerio, Gadus morhua, Gasterosteus aculeatus, Oryzias latipes* και *Tetraodon nigroviridis* μελετήθηκαν. Τα γονίδια της MLC2A και MLC2B έχουν 5 και 6 εξόνια αντίστοιχα, σε όλους τους οργανισμούς που εξετάστηκαν. Η οργάνωση των εξονίων-ιντρονίων είναι περισσότερο όμοια στους εξελικτικά συγγενικούς οργανισμούς, συμπέρασμα το οποίο επιβεβαιώνεται από το φυλογενετικό δέντρο (Εικόνα 1), πιθανότατα υποδεικνύοντας διαφορετικές εξελικτικές πορείες για τις δύο ισομορφές της MLC2. Επιπλέον, οι δύο ισομορφές της MLC2 αποτελούν ένα καλό παράδειγμα αποκλίνουσας εξέλιξης των cis-ρυθμιστικών στοιχείων. Ο ελάχιστος βαθμός συντήρησης που παρατηρείται μεταξύ των αλληλουχιών 3' UTRs της MLC2A και MLC2B συνηγορεί στην ύπαρξη διαφορετικών ρυθμιστικών μηχανισμών που εξαρτώνται από τα 3' UTRs. Η απομόνωση των τριών εναλλακτικών μεταγράφων της MLC2A ενισχύει την υπόθεση ότι διαφο-

ρετικοί ρυθμιστικοί μηχανισμοί έχουν εξελιχθεί για τις δύο ισομορφές της MLC2 της τσιπούρας, όπως είναι αναμενόμενο για τα γονίδια που έχουν προκύψει από διπλασιασμό και ακολούθησαν αποκλίνουσες εξελικτικές πορείες.

Οι δύο ισομορφές της MLC2 μοιράζονται την ίδια λειτουργία δεδομένου ότι χτίζουν το μόριο της μυοσίνης. Παρ' όλα αυτά, διαφορετικά πρότυπα έκφρασης των δύο ισομορφών της MLC2 (MLC2A & MLC2B), παρατηρήθηκαν κατά τη μυογένεση σε πρωτογενείς καλλιέργειες μυϊκών κυττάρων τσιπούρας και σε αναπτυσσόμενες νύμφες. Η έκφραση κάθε ισομορφής αυξάνεται σε διαφορετικές φάσεις της μυογένεσης και της μυϊκής αύξησης ενώ και οι δύο ισομορφές ρυθμίζονται με διαφορετικό τρόπο από την αυξητική ορμόνη. Αυτά τα δεδομένα, μαζί με τα δύο μεγάλα παρακλάδια της MLC2A και MLC2B των πιθανών ομόλογων γονιδίων στους τελεόστεουςκατά τη φυλογενετική ανάλυση (Εικόνα 1), υποδεικνύουν ότι οι δύο ισομορφές της MLC2 της τσιπούρας είναι παράλογα γονίδια που έχουν υποστεί κατανομή των λειτουργιών μεταξύ των αντιγράφων (subfunctionalization).

Οι διαδικασίες ανάπτυξης και αύξησης του λευκού μυός συμβαίνουν μέσω γεγονότων υπερπλασίας και υπερτροφίας που ρυθμίζονται από αρκετούς ρυθμιστικούς και ορμονικούς παράγοντες. Η ανάπτυξη του λευκού μυ σε νύμφες τσιπούρας έδειξε ότι υπάρχουν διακριτές φάσεις υπερπλασίας και υπερτροφίας, όπως μαρτυρούνται από αλλαγές στον αριθμό και στο μέγεθος των μυϊκών κυττάρων. Η γονιδιακή έκφραση των δύο ισομορφών της MLC2 και γονιδίων-κλειδιών κατά τη μυογενετική διαδικασία, μελετήθηκε από τις 15 ως τις 60 ημέρες μετά την εκκόλαψη (η.μ.ε.), σε νύμφες τσιπούρας, μαζί με τον αριθμό και το μέγεθος των μυϊκών κυττάρων, για να ανιχνευτούν τα γεγονότα υπερπλασίας και υπερτροφίας. Τα επίπεδα έκφρασης της MLC2A αυξήθηκαν από τις 15 ως τις 35 η.μ.ε.,συνοδευόμενα από μια δραματική αύξηση στον ολικό αριθμό μυϊκών ινών, που αποτελεί έναν εγκαθιδρυμένο δείκτη του αυξητικού δυναμικού, όπως επίσης και των υψηλών επιπέδων των μυϊκών ινών πολύ μικρής διαμέτρου, ενδεικτικών του σχηματισμού νέων μυϊκών ινών (υπερπλασία). Τα επίπεδα έκφρασης της MLC2B αυξήθηκαν ταυτόχρονα με την αύξηση της διαμέτρου των μυϊκών ινών. Συνολικά, τα επίπεδα έκφρασης της MLC2 ακολούθησαν στενά το σχηματισμό και την αύξηση της διαμέτρου των μυϊκών ινών και διαφοροποιήθηκαν κατά την υπερπλαστική και υπερτροφική αύξηση του σχηματισμού νέων μυϊκών ινών: η έκφραση της MLC2A ακολούθησε την υπερπλαστική φάση της μυϊκής αύξησης, δηλαδή τον σχηματισμό νέων μυϊκών ινών μέχρι τις 35 η.μ.ε., ενώ μειώθηκε δραματικά όταν ο πολλαπλασιασμός των μυϊκών κυττάρων έπαυσε μεταξύ 35 και 60 η.μ.ε. και η υπερτροφία ήταν ο κύριος μηχανισμός μυϊκής αύξησης. Αντίθετα με αυτό το πρότυπο έκφρασης, η έκφραση της MLC2B αυξήθηκε μόνο μετά τη μεταμόρφωση, όταν σταμάτησε ο σχηματισμός νέων μυϊκών ινών (Εικόνα 2). Ακόμη, η MLC2A συσχετίστηκε με μυογενετικούς παράγοντες,ενώ η MLC2B συσχετίστηκε με μυϊκά δομικά γονίδια.

Η επίδραση των συνθηκών εκτροφής στην πλαστικότητα των δύο ισομορφών της MLC2 προσδιορίστηκε σε νύμφες και νεαρά άτομα τσιπούρας, που προέρχονται από την ίδια παρτίδα αυγών και εκτράφηκαν σε συνθήκες εντατικής καλλιέργειας ή μεσόκοσμου, όπως επίσης και σε νεαρά άτομα τσιπούρας που εξετράφησαν σε συνθήκες εμπορικής ιχθυοκαλλιέργειας και υπέστησαν διαλογή κατά μέγεθος, με διαλογείς αυξανόμενου μεγέθους. Τα αποτελέσματα του πειράματος των συνθηκών εκτροφής έδειξαν ότι οι εκτρεφόμενες στο μεσόκοσμο νύμφες αυξήθηκαν περισσότερο και είχαν αυξημένη έκφραση της MLC2 σε σχέση με τις νύμφες που εξετράφησαν σε συνθήκες εντατικής καλλιέργειας. Στο δεύτερο πείραμα, η σωματική αύξηση των νεαρών ατόμων βελτιώθηκε ελάχιστα (Εικόνα 3). Η αναλογία MLC2A/MLC2B συσχετίστηκε σημαντικά με την αύξηση στα νυμφικά και πρώιμα ενήλικα στάδια.

Δεδομένης της προσαρμοστικότητας της έκφρασης των δύο ισομορφών της MLC2 στην πρώιμη ανάπτυξη της τσιπούρας, τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης διδακτορικής διατριβής παρέχουν ισχυρές αποδείξεις ότι οι ισομορφές της MLC2 είναι δείκτες πρώιμης αύξησης.

Λέξεις κλειδιά: Μυοσίνη, λευκός μυς, αύξηση, ανάπτυξη, νύμφες τσιπούρας, νεαρά άτομα τσιπούρας

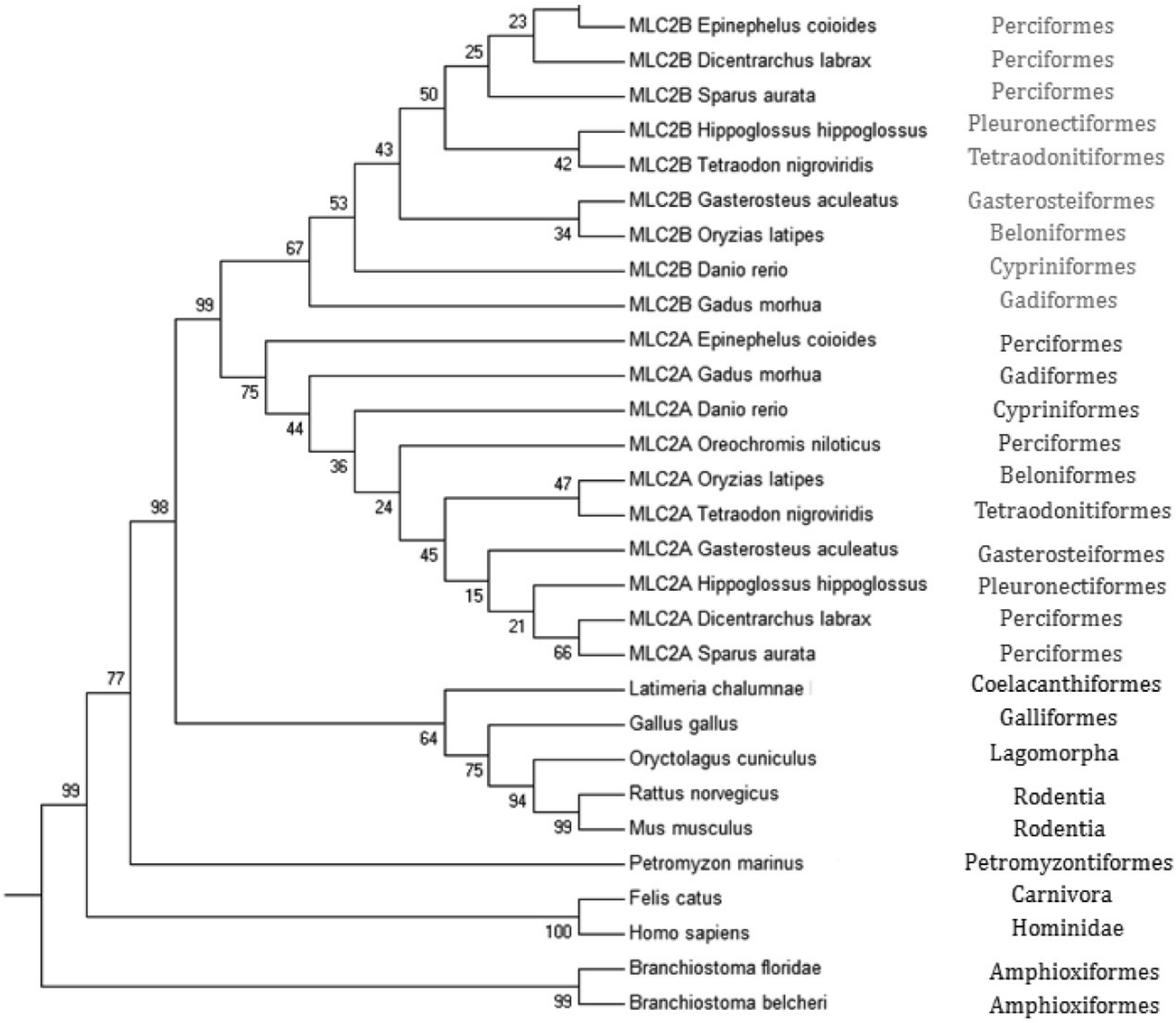
Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Κατερίνα Μούτου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βιολογίας Σπονδυλωτών, Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας *(επιβλέπουσα)*

Ζήσης Μαμούρης, Καθηγητής Γενετικής Ζωικών Πληθυσμών, Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Deborah M. Power, Καθηγήτρια Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Algarve, Πορτογαλία

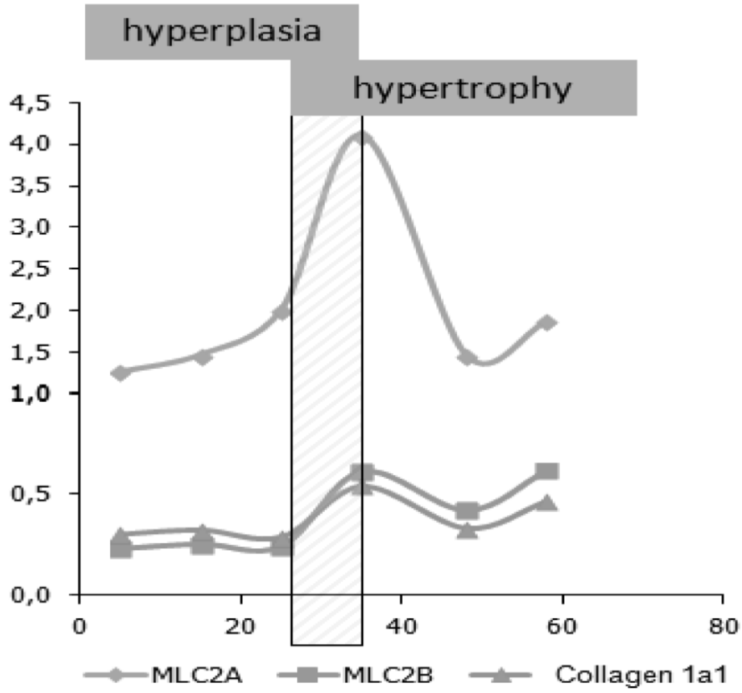
Φωτογραφικό υλικό ή εικόνες των αποτελεσμάτων
Photos gallery / Figures of results



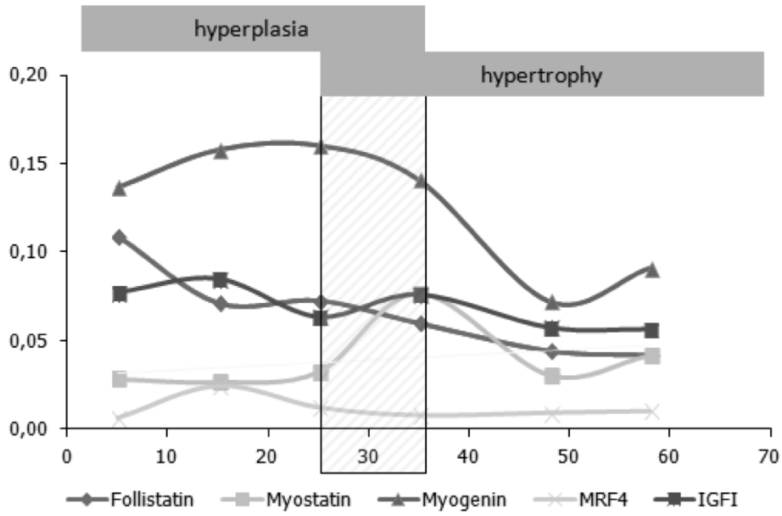
Εικόνα 1:*Φυλογενετικές σχέσεις των MLC2A και MLC2B γονιδίων μεταξύ δέκα ειδών ιχθύων. Το φυλογενετικό δέντρο κατασκευάστηκε με τη μέθοδο Neighbor-Joining χρησιμοποιώντας το MEGA version 5. Οι τιμές bootstrap φαίνονται πάνω από τα κλαδιά.*

Figure 1: *Phylogenetic relationships among ten fish species coding for MLC2A and MLC2B genes. The phylogenetic tree was constructed using the Neighbor-Joining method with MEGA version 5. Bootstrap values are indicated above the branches.*

A

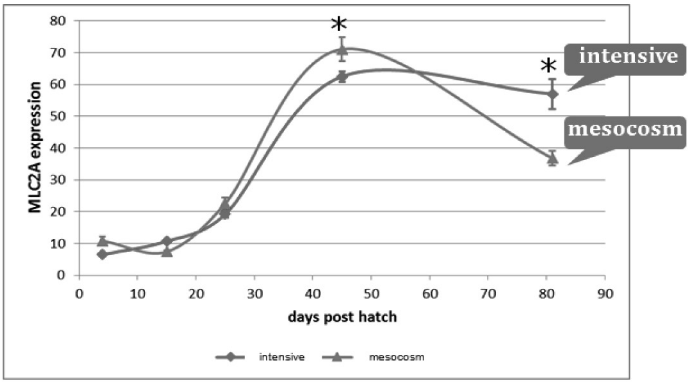


B

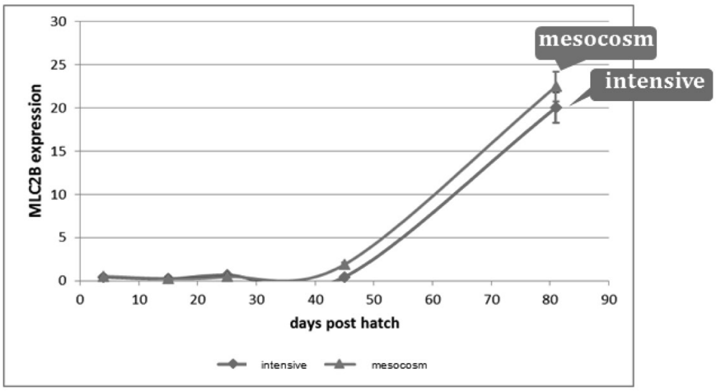


Εικόνα 2: *Πρότυπα έκφρασης δομικών (A; MLC2A, MLC2B, Col1a1) και ρυθμιστικών (B; FST, MSTN-1, myogenin, MRF4, IGFI) γονιδίων σε αναπτυσσόμενες νύμφες τσιπούρας. Οι τιμές δίνονται ως μέσοι όροι κανονικοποιημένων επιπέδων έκφρασης από 10 νύμφες.*

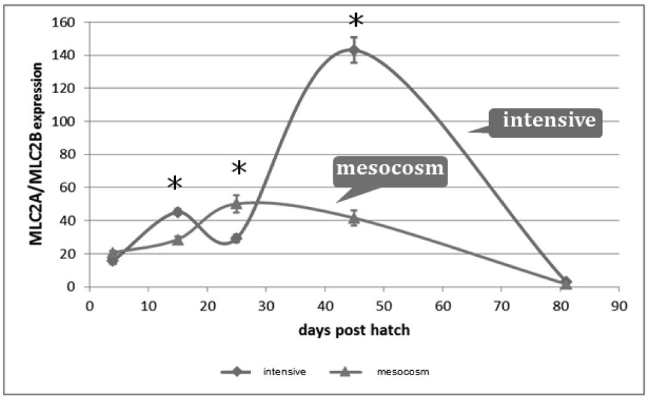
Figure 2: *Expression patterns of structural (A; MLC2A, MLC2B, Col1a1) and regulatory (B; FST, MSTN-1, myogenin, MRF4, IGFI) genes in developing gilthead sea bream larvae. Values are given as means of normalized arbitrary expression levels of 10 larvae.*



A)



B)



C)

Εικόνα 3: *Επίπεδα έκφρασης της MLC2A (A), MLC2B (B) και MLC2A/MLC2B (C) σε άτομα τσιπούρας που εξετράφησαν σε εντατικό σύστημα ή μεσόκοσμο. Οι τιμές δίνονται ως μέσοι όροι ± SEM από 9-18 άτομα. Στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ του εντατικού συστήματος και του μεσόκοσμου σε κάθε χρονικό σημείο σημειώνονται με αστερίσκο (P<0.05).*

Figure 3: *MLC2A (A), MLC2B (B) and MLC2A/MLC2B (C) expression levels in gilthead bream individuals reared in intensive or mesocosm system. Values are means ± SEM of 9-18 individuals. Significant statistical differences between intensive and mesocosm at each time point are denoted with an asterisk (P<0.05).*

Stella Georgiou

Expression of skeletal myosin light chain 2 in gilthead sea bream (Sparus aurata, L.): regulation and correlation to growth markers

Summary

In gilthead sea bream (*Sparus aurata, L*) skeletal muscle, two isoforms of myosin light chain 2 (MLC2) are expressed, A and B. MLC2A is encoded by three transcripts (short, medium and long) produced through alternative polyadenylation signal selection differing in the 3’ untranslated region (3’ UTR). MLC2A marks the newly-formed muscle fibers since its expression starts at the beginning of muscle differentiation *in vivo* and *in vitro*. As part of the contractile apparatus, MLC2A transcripts presumably increase to provide sufficient amounts of protein to support the increasing volume and function of the growing muscle cell. The existence of three alternative transcripts for MLC2A indicates the existence of an elaborate post-transcriptional regulation governed by elements residing in the 3’ UTR in gilthead sea bream. MLC2A is replaced by MLC2B post-metamorphosis and both isoforms are targets of GH action, yet in a differential manner.

*C*is-acting regulatory elements residing in 3’ UTRs were identified using bioinformatic analysis. Functionality of 3’ UTRs, in interaction with the cell protein machinery, was investigated in vitro, using luciferase reporter constructs. Data indicated that the three transcripts are subject to differential regulation according to 3’ UTR length and regulatory interactions between transcripts were detected. The highest luciferase expression was observed in mammalian ovary (CHO) cells transfected with MLC2A-medium and MLC2A-long 3’ UTR constructs. Truncated transcripts are known to be favoured under the high gene expression rates of cells for producing more protein in a cell culture and less *c*is-acting down-regulating elements have been predicted in MLC2A-short 3’ UTR. However, MLC2A-short 3’ UTR was expressed at the lowest levels. Translation efficiency and post-transcriptional modifications of mRNA molecules with longer 3’ UTRs are dependent on the foldings mRNAs can adopt. MLC2A-medium and MLC2A-long transcripts appeared to be more thermodynamically stable than MLC2A-short and therefore their expression was more thermodynamically favored as proved by the increased expression of luciferase levels compared to the short transcript. Enhanced luciferase activity of the MLC2A-long contradicts gene expression data in muscle tissue and cells where the MLC2A-short transcript is largely expressed. Expression of the transcript with the shorter 3’ UTR prevails in the myogenic environment of white muscle under the regulation of myogenic factors that are absent from the mammalian ovary cell line. MLC2A-short may be the transcript of choice in the highly dynamic environment of differentiation and development due to its thermodynamic instability; differentiation runs in fast pace and gene regulation mechanisms must follow that pace.

Gene organization of the two isoforms and the syntenic relationships between *Sparus aurata, Dicentrarchus labrax, Danio rerio, Gadus morhua, Gasterosteus aculeatus, Oryzias latipes and Tetraodon nigroviridis* were studied. MLC2A and MLC2B genes contain 5 and 6 exons respectively, in all organisms examined. Exon-intron organization is more similar among evolutionary closer species, which is further confirmed by the phylogenetic tree (Figure 1), probably indicating different evolutionary trajectories for the two MLC2 isoforms. Furthermore, MLC2 isoforms in gilthead sea bream make a good paradigm of divergent evolution concerning *c*is-regulatory elements. The minimal degree of conservation observed between the 3’ UTR sequences of MLC2A and MLC2B point to the existence of different regulatory mechanisms in all aspects governed by the 3’ UTRs. The isolation of three alternative transcripts of MLC2A reinforces the idea that different regulatory mechanisms have evolved for the two isoforms of MLC2, in gilthead sea bream, as expected for duplicated genes on divergent trajectories.

MLC2 isoforms share the same function as constituents of the myosin molecule. However, clear transitions in the expression of MLC2A

and MLC2B were observed in primary muscle cell cultures and during development in gilthead sea bream. Each isoform is up-regulated at different phases of myogenesis and muscle growth and they are differentially affected by growth hormone. These findings together with the large MLC2A and MLC2B clusters of potential homologues in teleost species in the phylogenetic analysis (Figure 1) suggest that MLC2 isoforms have undergone subfunctionalization and are products of paralogue genes.

White muscle development and growth processes occur through hyperplastic and hypertrophic events, driven by several regulatory and hormonal factors. The development of white musculature in gilthead sea bream larvae demonstrated distinct hyperplastic and hypertrophic phases, as evident by changes in muscle cellularity (number and size of muscle cells). Gene expression of MLC2 isoforms and genes-key players in the myogenetic process was investigated in 15 to 60 days post hatch (dph) gilthead sea bream larvae, coupled with cellularity measurements, to identify hyperplastic and hypertrophic events. MLC2A expression levels were elevated from 15 to 35 dph accompanied by a dramatic increase in total fiber number, an established indicator of growth potential and the high levels of very small diameter muscle fibers, indicative of new muscle formation (hyperplasia). MLC2B expression levels were increased concomitantly with an increase in muscle fiber diameter. Overall, expression levels of MLC2 isoforms followed very closely the formation and increase in diameter of muscle fibers and clearly distinguished the hyperplastic and hypertrophic phase of muscle formation; expression of MLC2A followed the hyperplastic pattern of muscle growth, i.e. new fiber formation until 35 dph, whereas it was dramatically down regulated when muscle cell proliferation came to a pause between 35 and 60 dph and hypertrophy took over as the main mechanism of muscle growth. Contrary to that pattern, MLC2B significantly increased only post-metamorphosis, when new fibers were not any longer formed (Figure 2). Also, MLC2A expression was correlated to myogenic factors, whereas MLC2B expression was correlated to muscle functional genes.

The effect of rearing conditions to MLC2 isoform plasticity was determined in larvae and juvenile sea bream outcoming from the same egg-batch and raised under intensive versus mesocosm conditions as well as in juvenile gilthead sea bream reared under commercial aquaculture practices subjected to size-grading with sorters of increasing diameter. In the rearing systems experiment, larvae raised in mesocosm outperformed in growth and MLC2 isoform expression those raised under intensive. Results from the size-grading experiment suggested that somatic growth of juvenile gilthead sea bream was modestly improved (Figure 3). The ratio of MLC2A/MLC2B expression was significantly correlated to axial growth during the larval and early juvenile stages.

Given the plastic versatility prevailing early development, the present results provide strong evidence of the robustness of MLC2 isoforms as markers of early growth.

Key words: Myosin, white muscle, growth, development, gilthead sea bream larvae, gilthead sea bream juveniles

Three - Member Supervisory Committee

Katerina Moutou, Associate Professor in Vertebrate Biology, Department of Biochemistry Biotechnology, University of Thessaly, Greece *(supervisor)*

Zissis Mamuris, Professor in Animal Population Genetics, Department of Biochemistry & Biotechnology, University of Thessaly, Greece

Deborah M. Power, Professor in Biotechnology, University of Algarve, Portugal

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Georgiou, S.**, Sarropoulou, E., Godina, M., Power, D.M., Gutiérrez, J., Mamuris, Z., Moutou, K.A. (2015). Myosin light chain 2 isoforms in gilthead sea bream (Sparus aurata, L): a paradigm of divergent evolution. (in preparation)

2. **Georgiou, S.**, Alami-Durante, H., Power, D.M., Sarropoulou, E., Mamuris, Z., Moutou, K.A. (2015). Developmental regulation of myosin light chain 2 in gilthead sea bream (Sparus aurata, L.) and correlation with muscle growth markers. *Cell tissue Research*, doi: 10.1007/s00441-015-2254-0.
3. **Georgiou, S.**, Makridis, P., Dimopoulos, D., Power, D.M., Mamuris, Z., Moutou, K.A.. (2014). Myosin light chain 2 isoforms in gilthead sea bream (Sparus aurata L.): molecular growth markers at early stages. *Aquaculture*, 432, 434-442. doi: 10.1016/j.aquaculture.2014.04.030.
4. **Georgiou, S.**, Sarropoulou, E., Power, D.M., Alami-Durante, H., Mamuris, Z., Moutou, K.A. (2013). Expression of skeletal myosin light chain 2 in gilthead sea bream (Sparus aurata, L.): regulation and correlation to growth markers. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, *78*(4), 151-2.

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων – βιβλία περιλήψεων

Publications in conference proceedings- books of abstracts

1. **Georgiou, S.**, Alami-Durante, H., Cluzeaud, M., Bazin, D., Power, D.M., Mamuris, Z., Moutou, K.A. (2011). White muscle growth in gilthead sea bream larvae (Sparus aurata); fibers and genes. *Aquaculture Europe 2011* (pp. 381-382). Rhodes, Greece: European Aquaculture Society.
2. Moutou, K.A., Codina, M., **Georgiou, S.**, Gutiérrez, J., Mamuris, Z. (2009). Myosin light chain 2 in gilthead sea bream (Sparus aurata): a molecular marker of muscle development and growth.In C.I. Hendry (Ed)., *Larvi 2009 – Fish & Shellfish Larviculture Symposium*, *European Aquaculture Society, Special Publication No. 38 (pp. 289-292)*, Oostende, Belgium: Ghent University AULA, Gent, Belgium.

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες
Presentations in scientific conferences and meetings

1. **Georgiou, S.**, Power, D.M., Alami-Durante, H., Mamuris, Z., Moutou, K.A. (2013, September). *Expression of skeletal myosin light chain 2 in gilthead sea bream (Sparus aurata, L): Regulation and correlation to growth markers*. Paper presented at Larvi 2013, Ghent, Belgium.
2. **Georgiou, S.**, Nteze, M., Giuffrida, S., Power, D.M., Mamuris, Z., Moutou, K.A. (2012, September). *How age and feeding regime affect the expression of white muscle genes in gilthead sea bream (Sparus aurata, L)*? Paper presented at AQUA 2012, World Aquaculture Society, Prague, Czech Republic.
3. Moutou, K.A., **Georgiou, S.**, Power, D.M., Mamuris, Z. (2012). *Age-related response to feeding levels of gene expression profiles in gilthead sea bream (Sparus aurata L.) white muscle*. Poster Presentation at ASSEMBLE Conference 2012, Olhao, Portugal.
4. **Γεωργίου, Σ.**, Ντεζέ, Μ., Giuffrida, S., Power, D.M., Μαμούρης, Ζ., Μούτου, Κ.Α. (2012). *Πώς η ηλικία και το διατροφικό καθεστώς επηρεάζουν την έκφραση των γονιδίων του λευκού μυός στην τσιπούρα (Sparusaurata, L)*. Αναρτημένη ανακοίνωση στο 34ο Ετήσιο Επιστημονικό Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών, Τρίκαλα.

   Georgiou, S., Nteze, M., Giuffrida, S., Power, D.M., Mamuris, Z., Moutou, K.A. (2012). *Is myosin light chain 2 (MLC2) size and feeding regime dependent in juvenile gilthead sea bream (Sparus aurata, L)*? Poster presented at 34rth Annual Conference of the Hellenic Society for Biological Sciences, Trikala, Greece.
5. Μούτου, Κ.Α., Codina, Μ., **Γεωργίου, Σ.**, Gutiérrez, J., Μαμούρης, Ζ. (2010). Η ελαφριά αλυσίδα 2 της μυοσίνης (MLC2): *Μοριακός δείκτης αύξησης και ανάπτυξης του μυ της τσιπούρας (Sparus aurata)*. Αναρτημένη ανακοίνωση στο 32ο Ετήσιο Επιστημονικό Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρείας Βιολογικών Επιστημών, Καρπενήσι.

   Moutou, K.A., Codina, M., **Georgiou, S.**, Gutiérrez, J., Mamuris, Z. (2010). *Myosin Light Chain 2 (MLC2): molecular marker of development and growth of gilthead sea bream muscle (Sparus aurata, L)*. Poster presented at 32nd Annual Conference of the Hellenic Society for Biological Sciences, Karpenisi, Greece.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Στέλλα Γεωργίου** γεννήθηκε στις 29-04-1984 στην Καρδίτσα. Σπούδασε Βιοχημεία & Βιοτεχνολογία στο Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στη Λάρισα (2002-2007, βαθμός Πτυχίου: 7,06). Πραγματοποίησε τις μεταπτυχιακές σπουδές της (2008-2010, βαθμός Μεταπτυχιακού: 8,46) με θέμα«Βιοτεχνολογία – Ποιότητα Διατροφής και Περιβάλλοντος» στο ίδιο Τμήμα. Τόσο κατά την προπτυχιακή όσο και κατά τη μεταπτυχιακή διατριβή της, ασχολήθηκε με τη μελέτη της μοριακής φυσιολογίας του πεπτικού συστήματος και την επίδραση της αυξητικής ορμόνης στο λευκό μυ της τσιπούρας (Sparus saurata, L.)

Έλαβε το Διδακτορικό της Δίπλωμα, που εστιάζει στη Μοριακή Βιολογία και Φυσιολογία Ιχθύων (2009-2013) από το ίδιο Τμήμα του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Ο τίτλος της διδακτορικής της διατριβής, την οποία εκπόνησε με υποτροφία «Ηράκλειτος ΙΙ», ήταν «Η έκφραση της σκελετικής Ελαφριάς Αλυσίδας 2 της Μυοσίνης (MLC2) στην τσιπούρα (Sparus aurata, L.): ρύθμιση και συσχέτιση με δείκτες αύξησης».

Κατά τη διάρκεια των σπουδών της (2007-2013), συμμετείχε στα ερευνητικά προγράμματα «Opti-Feed Working Package» (2009-2010) και «INTERREG IIIA Ελλάδα – Ιταλία» (2007-2008). Έχει συμμετάσχει σε εννιά συνέδρια, ενώ ήταν προσκεκλημένη ομιλήτρια σε δύο διεθνή συνέδρια.

Διαθέτει τεχνική εμπειρία σε νουκλεϊκά οξέα, πρωτεΐνες και κυτταροκαλλιέργειες, καθώς και σε βιοπληροφορικές βάσεις δεδομένων. Αυτή τη στιγμή απασχολείται ως Ερευνήτρια στο Κέντρο Μοριακών Αναλύσεων και Ερευνών στο Αγρίνιο, στο ερευνητικό έργο «Παραγωγή Μοριακού Τεστ για την Διάκριση μεταξύ Καλοήθους και Καρκινικού Όζου στον Θυρεοειδή Αδένα» (χρηματοδοτούμενο από το ΕΣΠΑ 2007-2013)

Short CV

Stella Georgiou was born in 29-04-1984 in Karditsa, Greece. She studied in the Department of Biochemistry & Biotechnology of the University of Thessaly, in Larissa, Greece (2002-2007, Bachelor's degree: 7.06). Her MSc degree was on "Biotechnology - Quality Assessment in Nutrition and the Environment" at the same Department (2008-2010, Master's degree: 8.46). Both her dissertations, either for Bachelor's and for Master's Degree, focused on studying the molecular physiology of the digestive system and the response of white muscle to treatment with growth hormone of gilthead sea bream (Sparus aurata, L.).

Her PhD (2009-2013), with a scholarship by the programme "Heraclitus II", focused on Molecular Biology and Fish Physiology and was acquired from the same Department. Her PhD's dissertation was entitled "Expression of skeletal Myosin Light Chain 2 (MLC2) in gilthead sea bream (Sparus aurata, L.): regulation and correlation to growth markers".

During her studies (2007-2013) she participated in Opti-Feed Working package scientific project (2009-2010) and in "INTERREG IIIA Greece – Italy" research project (2007-2008). She attended nine conferences and was an invited speaker in two international conferences. She has technical experience working with nucleic acids, proteins, as well as cell cultures and has a bioinformatics background.

Her current position is Researcher at Center for Molecular Analysis & Research in Agrinio, Greece, working on the project "Development of a molecular test for the discrimination of benign and cancer thyroid tissue" (funded by the NSRF 2007-2013).

Ευθαλία Κερασιώτη

Επίδραση της χορήγησης σκευάσματος υδατανθράκων-πρωτεϊνών σε δείκτες οξειδωτικού στρες, φλεγμονής και υποξίας μετά από άσκηση σε ανθρώπους

Περίληψη

Ο όρος ''οξειδωτικό στρες'' εισήχθη από τον Sies το 1991 ως ''η διαταραχή της προοξειδωτικής (π.χ. ελεύθερες ρίζες) - αντιοξειδωτικής ισορροπίας υπέρ της πρώτης, που οδηγεί σε πιθανή βλάβη''. Οι ελεύθερες ρίζες είναι δραστικές ενώσεις που παράγονται φυσικά στον ανθρώπινο οργανισμό. Είναι μόρια πολύ ασταθή και πολύ δραστικά καθώς προσπαθούν να αποσπάσουν ηλεκτρόνια από άλλα μόρια. Για τις ελεύθερες ρίζες συχνά χρησιμοποιείται γενικά ο όρος δραστικές μορφές οξυγόνου (Reactive oxygen species, ROS). Ο όρος περιγράφει τις ελεύθερες ρίζες που έχουν σαν κεντρικό μόριο το οξυγόνο. Χαρακτηριστικά παραδείγματα ελευθέρων ριζών είναι η ρίζα του σουπεροξειδίου (O_2•-), του υδροξυλίου (OH•), του αλκοξυλίου (RO•) και του υδροπεροξυλίου (HO_2•). Μπορούν να ασκήσουν τόσο θετικές επιδράσεις (π.χ. στο ανοσοποιητικό σύστημα) όσο και αρνητικές (π.χ. οξείδωση λιπιδίων, πρωτεϊνών ή DNA). Οι ελεύθερες ρίζες χρησιμεύουν ως κυτταρικοί αγγελιοφόροι, έχουν δηλαδή την ικανότητα να μεταφέρουν σήματα από τα σηματοδοτικά μονοπάτια μεταξύ των κυττάρων. Συνεισφέρουν και στο ανοσοποιητικό σύστημα, δρώντας ενάντια στα αντιγόνα κατά τη διάρκεια της φαγοκύττωσης. Ο ρόλος τους αυτός ενισχύεται κατά τη διάρκεια της φλεγμονής. Παρά τις επωφελείς επιδράσεις, οι ROS έχουν και κάποιες αρνητικές επιδράσεις καθώς αλλάζουν το μέγεθος και το σχήμα των μορίων με τα οποία αλληλεπιδρούν. Συνεπώς, οι ROS μπορούν να επάγουν την απόπτωση σε υγιή κύτταρα, να προκαλέσουν φλεγμονή και να αλλοιώσουν τις κυτταρικές λειτουργίες. Όλες οι παραπάνω αλλοιώσεις μπορούν να οδηγήσουν σε εκφυλιστικές ασθένειες, όπως καταρράκτης, καρκίνος, νόσος Parkinson, νόσος Alzheimer, καθώς και γήρανση.

Για τον περιορισμό αυτών των επιβλαβών επιπτώσεων, ο οργανισμός χρειάζεται ένα πολύπλοκο σύστημα προστασίας - το αντιοξειδωτικό σύστημα. Αυτό το σύστημα αποτελείται από αντιοξειδωτικά ένζυμα (CAT, GPx, SOD) και από μη-ενζυμικά αντιοξειδωτικά (π.χ. βιταμίνη E, βιταμίνη A, βιταμίνη C, GSH και ουρικό οξύ). Η διαταραχή μεταξύ της παραγωγής ελευθέρων ριζών και της αντιοξειδωτικής άμυνας οδηγεί σε μία οξειδωτική κατάσταση, που εμπλέκεται στη διαδικασία της γήρανσης και σε παθολογικές καταστάσεις (π.χ. καρκίνος, ασθένεια Parkinson). Το οξειδωτικό στρες μπορεί επίσης να αυξηθεί και κάτω υπό φυσιολογικές συνθήκες όπως η σωματική άσκηση. Ο όρος οξειδωτικό στρες αναφέρεται στην κατάσταση σοβαρής ανισορροπίας μεταξύ των ελευθέρων ριζών και της αντιοξειδωτικής άμυνας.

Τα τελευταία χρόνια, σε μια προσπάθεια να αυξηθεί η αντιοξειδωτική άμυνα και η προστασία του οργανισμού από τις επιβλαβείς επιδράσεις του οξειδωτικού στρες, υπάρχει αυξημένο ενδιαφέρον για αναζήτηση φυσικών πηγών αντιοξειδωτικών. Κάποιες πρωτεΐνες από συγκεκριμένα τρόφιμα έχει αποδειχθεί ότι έχουν την ικανότητα να εξουδετερώνουν δραστικά είδη οξυγόνου. Η πρωτεΐνη ορού γάλακτος είναι ένα δημοφιλές διατροφικό συμπλήρωμα που ενισχύει την αντιοξειδωτική άμυνα, πιθανώς λόγω του πλούσιου περιεχομένου της σε κυστεΐνη μέσω ενδοκυτταρικής μετατροπής της σε γλουταθειόνη. Ο ορός γάλακτος, ένα παραπροϊόν της παρασκευής τυριού και τυροπήγματος θεωρούνταν για αρκετό καιρό ένα προϊόν αποβλήτων αλλά τα τελευταία χρόνια περιγράφεται ως λειτουργικό τρόφιμο. Τα εκχυλίσματα της πρωτεΐνης που προέρχονται από τον ορό γάλακτος αποτελούν δημοφιλή συμπληρώματα στο χώρο της αθλητικής διατροφής. Τα εκχυλίσματα αυτά αποτελούν πρωτεϊνικά συμπληρώματα υψηλής βιολογικής αξίας και ενισχύουν τη σωματική απόδοση. Στο πλαίσιο της μελέτης αυτής εξετάστηκαν οι πιθανές ευεργετικές επιδράσεις της αιγοπρόβειας πρωτεΐνης ορού γάλακτος τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*. Η αιγοπρόβεια πρωτεΐνη ορού γάλακτος βρέθηκε ότι έχει την ικανότητα εξουδετέρωσης ελευθέρων ριζών (DPPH•, ABTS•+ και OH·) *in vitro*. Μελετήθηκε, επίσης, η πιθανή αντιοξειδωτική δράση της αιγοπρόβειας πρωτεΐνης ορού γάλακτος στα μυϊκά κύτταρα C2C12 και στα ενδοθηλιακά κύτταρα EA.hy926. Βρέθηκε ότι και στα δύο κυτταρικά συστήματα, η αιγοπρόβεια πρωτεΐνη ορού γάλακτος αύξησε τα επίπεδα της GSH και της TAC και μείωσε τα επίπεδα των ROS, των TBARS, των πρωτεϊνικών καρβονυλίων και της GSSG. Από τα αποτελέσματα παρατηρήθηκε ότι η αιγοπρόβεια πρωτεΐνη ορού γάλακτος εμφανίζει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση τόσο in vitro όσο και in vivo. Η αντιοξειδωτική της δράση πιθανώς οφείλεται στο αυξημένο περιεχόμενο της σε κυστεΐνη μέσω ενδοκυτταρικής μετατροπής της σε γλουταθειόνη. Τέλος, πραγματοποιήθηκε μελέτη στα κυτταρικά συστήματα C2C12 και EA.hy926, για τον προσδιορισμό του μοριακού μηχανισμού μέσω του οποίου η αιγοπρόβεια πρωτεΐνη ορού γάλακτος ασκεί την αντιοξειδωτική της δράση. Εξετάστηκε η επίδραση της αιγοπρόβειας πρωτεΐνης ορού γάλακτος στο μεταγραφικό παράγοντα Nrf2 καθώς και σε έναν αριθμό επαγόμενων αντιοξειδωτικών ενζύμων, σε πρωτεϊνικό επίπεδο. Στα κύτταρα EA.hy926, βρέθηκε ότι η αιγοπρόβεια πρωτεΐνη ορού γάλακτος αύξησε τα επίπεδα του Nrf2, της SOD-1, της HO-1 και της CAT καθώς και την ενζυμική δράση της CAT, της SOD και της GST. Στα κύτταρα C2C12, τα επίπεδα του Nrf2 δεν επηρεάστηκαν, ενώ αυξήθηκαν τα επίπεδα της SOD-1, της HO-1, της CAT και της GCS καθώς και η ενζυμική δράση της CAT, της SOD και της GST. Τέλος, βρέθηκε ότι ένα σκεύασμα σε μορφή κέικ που περιέχει αιγοπρόβεια πρωτεΐνη ορού γάλακτος, μείωσε τα επίπεδα των TBARS (δείκτης λιπιδικής υπεροξείδωσης) και εμφάνισε αντι-φλεγμονώδη δράση, καθώς οδήγησε σε μείωση της προφλεγμονώδους κυτοκίνης IL-6, της πρωτεΐνης οξείας φάσης CRP και σε αύξηση της αντιφλεγμονώδους κυτοκίνης IL-10 μετά από εξαντλητική άσκηση σε ανθρώπους.

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής έδειξαν, μετά από χορήγηση σε ανθρώπους ενός σκευάσματος, ότι η πρωτεΐνη ορού γάλακτος μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως συμπλήρωμα διατροφής ή ως συστατικό σε βιολειτουργικά τρόφιμα για τη βελτίωση των δυσμενών επιπτώσεων της εξαντλητικής άσκησης στην απόδοση των αθλητών λόγω του επαγόμενου οξειδωτικού στρες και της φλεγμονής. Με βάση αυτά τα αποτελέσματα, σκευάσματα με πρωτεΐνη ορού γάλακτος θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ίσως γενικότερα και για την πρόληψη και βελτίωση παθολογικών καταστάσεων που συνδέονται με το οξειδωτικό στρες όπως καρδιαγγειακές ασθένειες, καρκίνος και νευροεκφυλιστικές ασθένειες.

Λέξεις κλειδιά: οξειδωτικό στρες, ελεύθερες ρίζες, πρωτεΐνη ορού γάλακτος, φλεγμονή

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Δημήτριος Κουρέτας, Καθηγητής Φυσιολογίας Ζωικών Οργανισμών, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας *(επιβλέπων)*

Αθανάσιος Τζιαμούρτας, Αναπληρωτής Καθηγητής Βιοχημείας της Άσκησης, Τμήμα Επιστήμης Φυσικής Αγωγής & Αθλητισμού, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Βάιος Καραθάνος, Καθηγητής Φυσικοχημείας και Μηχανικής Τροφίμων, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Efthalia Kerasioti

Effect of a special carbohydrate-protein cake on markers of oxidative stress, inflammation and hypoxia after exercise in humans

Abstract

The term “oxidative stress’’ was introduced by Sies in 1991 as “a disturbance in the prooxidant (e.g. free radicals) – antioxidant balance in favour of the former, leading to potentional damage”. Free radicals are reactive compounds that are naturally produced in the human body. Free radicals are molecules very unstable and very reactive as they try to extract electrons from other molecules. For free radicals the term ROS (Reactive oxygen species, ROS) is often used.The term describes the free radicals which have the core molecule oxygen. Exemplary free radical is the radical superoxide (O_2• -), hydroxyl (OH•), the alkoxy (RO•) and hydroperoxyl (HO_2 •).They can exert positive effects (e.g. on the immune system) or negative effects (e.g. lipids, proteins or DNA oxidation). Free radicals are useful as cellular messengers, i.e. have the ability to convey signals from the signalling pathways between cells.They contribute to the immune system, acting against antigens during phagocytosis. Their role has

been strengthened during inflammation. Despite the beneficial effects, ROS also have some negative effects as changing the size and shape of the molecules with which they interact. Consequently, ROS can induce apoptosis in normal cells, cause inflammation and alter cellular functions. All these changes may lead to degenerative diseases such as cataracts, cancer, Parkinson's disease, Alzheimer's disease and aging.

To limit these harmful effects, an organism requires complex protection – the antioxidant system. This system consists of antioxidant enzymes (CAT, GPx, SOD) and non-enzymatic antioxidants (e.g. vitamin E, vitamin A, vitamin C, GSH and uric acid). An imbalance between free radical production and antioxidant defence leads to an oxidative stress state, which may be involved in aging processes and even in some pathology (e.g. cancer and Parkinson's disease). Oxidative stress can also be increased under physiological conditions such as physical exercise. The term oxidative stress refers to a state of serious imbalance between free radicals and antioxidant defenses.

In recent years, in an effort to increase the antioxidant defense and protection of the body from the harmful effects of oxidative stress, there is an increased interest in finding natural sources of antioxidants. Some proteins from certain foods have been shown to have the ability to neutralize reactive oxygen species. Whey protein is a popular nutritional supplement which enhances the antioxidant defense, probably due to its rich cysteine content through intracellular conversion into glutathione. Whey, a by-product of cheese manufacturing, was considered for a long time a waste product but in recent years is described as a functional food. Extracts of protein from whey supplements are popular in the field of sports nutrition. These extracts are of high biological value protein supplements and enhance physical performance.

In this study, the potential beneficial effects of sheep whey protein were examined both *in vitro* and *in vivo*. It was found that sheep whey protein exhibited scavenging activity against free radicals (DPPH•, ABTS•+ και OH˙) *in vitro*. Furthermore, the antioxidant activity of sheep whey protein in muscle cells C2C12 and endothelial cells EA.hy926 was studied. It was found that in both cell systems, sheep whey protein increased GSH and TAC levels and decreased ROS, TBARS, protein carbonyls and GSSG levels. Thus, the results indicate that sheep whey protein exhibits strong antioxidant activity both *in vivo* and *in vitro*. The antioxidant activity of whey protein is probably due to the rich cysteine content that is converted intracellularly to glutathione. Finally, a study in the C2C12 and EA.hy926 cells was conducted to determine the molecular mechanism through which sheep whey protein exerts its antioxidant action. The effects of sheep whey protein on the transcription factor Nrf2 and on a number of antioxidant enzymes regulated by this factor were examined. In EA.hy926 cells, it was found that sheep whey protein increased Nrf2, SOD-1, HO-1 and CAT levels as well as the enzymatic activity of CAT, SOD and GST. In C2C12 cells, the Nrf2 levels were not affected while the levels of SOD-1, HO-1, CAT and GCS as well as the enzymatic activity of CAT, SOD and GST were increased. Thus, the results show that the molecular mechanism through which whey protein enhances the antioxidant capacity is cell specific and it may be either Nrf2-dependent or Nrf2-independent. Finally, it was found that a supplement in a cake form containing sheep whey protein, reduced TBARS levels (a marker of lipid peroxidation) and exhibited anti-inflammatory activity, as it reduced the proinflammatory cytokine IL-6, the acute phase protein CRP and increased the anti-inflammatory protein IL-10 after exhaustive exercise in humans.

In conclusion, the results of this study showed after administration of a supplement in humans, whey protein may be used as a dietary supplement or as an ingredient in foods to improve the adverse effects of exhaustive exercise performance of athletes because of the induced oxidative stress and inflammation.Based on these results, formulations with whey protein could probably be used more generally for the prevention and improvement of pathological conditions associated with oxidative stress such as cardiovascular diseases, cancer and neurodegenerative diseases.

Key words: oxidative stress, free radicals, whey protein, inflammation

Three - Member Supervisory Committee

Dimitrios Kouretas, Professor of Animal Physiology, Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Greece (*supervisor*)

Athanasios Jamourtas, Associate Professor of Biochemistry of Exercise, Department of Physical Education and Sport Science, University of Thessaly, Greece

Vaios Karathanos, Professor in Food Engineering, Department of Nutrition and Dietetics, Harokopio University, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the program "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά / Articles in journals

1. **Kerasioti, E.**, Stagos, D., Priftis, A., Aivazidis, S., Tsatsakis, A.M., Hayes, A.M., Kouretas, D. (2014). Antioxidant effects of whey protein on muscle C2C12 cells. *Food Chemistry*, 155, 271-278.

2. **Kerasioti, E.**, Stagos, D., Jamurtas, A., Kiskini, A., Koutedakis, Y., Goutzourelas, N., Pournaras, S., Tsatsakis, A.M., Kouretas, D. (2013). Anti-inflammatory effects of a special carbohydrate-whey protein cake after exhaustive cycling in humans. *Food & Chemical Toxicology*. 61, 42-46.

3. **Kerasioti, E.**, Kiskini, A., Veskoukis, A., Jamurtas, A., Tsitsimpikou, C., Tsatsakis, A.M., Koutedakis, Y., Stagos, D., Kouretas, D., Vaios, K. (2012). Effect of a special carbohydrate-protein cake on oxidative stress markers after exhaustive cycling in humans. *Food & Chemical Toxicology*. *50*(8), 2805-2810.

4. **Spanou, C.**, Veskoukis, A.S., Kerasioti, E., Kontou, M., Angelis, A., Aligiannis, N., Skaltsounis, A.L., Kouretas, D. (2012). Flavonoid glycosides isolated from unique legume plant extracts as novel inhibitors of xanthine oxidase. *PLoSOne*, 7(3), e32214.

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες Presentations in scientific conferences and meetings – workshops

1. **Κερασιώτη, Ε.**, Γεωργαντζή, Β., Τζίμη, Α., Μπέσιος, Α., Στάγκος, Δ., Κουρέτας, Δ. (2014, Απρίλιος). *Μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης της αιγοπρόβειας πρωτεΐνης ορού γάλακτος και του μοριακού μηχανισμού της στην κυτταρική σειρά Ea.hy926*. Προφορική ανακοίνωση στο 7ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας, Λάρισα.

   Kerasioti, E., Georgatzi, V., Tzimi, A., Mpesios, A., Stagkos, D. Kouretas, D. (2014, April). *Study of the antioxidant action of sheep whey protein and its molecular mechanism in Ea.hy926 cell line*. Paper presented at 7th Panhellenic Conference of Forensic Medicine and Toxicology, Larissa, Greece.

2. **Κερασιώτη, Ε.**, Αϊβαζίδης, Σ., Στάγκος, Δ., Κουρέτας, Δ. (2014, Απρίλιος). *Μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης της αιγοπρόβειας πρωτεΐνης ορού γάλακτος in vitro*. Προφορική ανακοίνωση στο 7ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας, Λάρισα.

   Kerasioti, E., Aivazidis, S., Stagkos, D., Kouretas., D. (2014, April). *Study of the antioxidant action of sheep whey protein in vitro*. Paper presented at 7th Panhellenic Conference of Forensic Medicine and Toxicology, Larissa, Greece.

3. **Κερασιώτη, Ε.**, Πρίφτης, Α., Τζίμη, Α., Στάγκος, Δ. Κουρέτας, Δ. (2014, Απρίλιος). *Μελέτη της επίδρασης της αιγοπρόβειας πρωτεΐνης ορού γάλακτος σε δείκτες οξειδωτικού στρες και στον μεταγραφικό παράγοντα Νρφ2 στην μυϊκή κυτταρική σειρά C2C12.* Προφορική ανακοίνωση στο 7ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ιατροδικαστικής και Τοξικολογίας, Λάρισα.

   Kerasioti, E., Priftis, A., Tzimi, A., Stagkos, D., Kouretas D. (2014, April). *Study of the effect of sheep whey protein on oxidative stress markers and on the transcription factor nrf2 in c2c12 muscle cell line*. Paper presented at 7th Panhellenic Conference of Forensic Medicine and Toxicology, Larissa, Greece.

4. **Κερασιώτη, Ε.**, Πρίφτης, Α., Αϊβαζίδης, Σ., Στάγκος, Δ., Κουρέτας., Δ. (2013, Οκτώβριος). *Μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης της αιγοπρόβειας πρωτεΐνης ορού γάλακτος in vitro και στην κυτταρική σειρά C2C12*. Προφορική ανακοίνωση στο

4ο Πανελλήνιο συνέδριο Βιοτεχνολογίας και Τεχνολογίας Τροφίμων, Αθήνα.

Kerasioti, E., Priftis, A., Aivazidis, S., Stagos, D., Kouretas, D. (2013, October). *Study of the antioxidant activity of sheep whey protein in vitro and in C2C12 cell line*. Paper presented at 4th Panhellenic Conference of Biotechnology & Food Technology, Athens, Greece.

5. Φουστέρη, Ζ., Στάγκος, Δ., Πετρωτός, Κ., Ματσούκας, Ι., Κεφαλάκης, Γ., Μαντάς, Χ., Γκουντσίδης, Π., **Κερασιώτη, Ε.**, Φιλίντας, Α., Κουρέτας, Δ.. (2013, Οκτώβριος). *Μελέτη της αντιοξειδωτικής δράσης πολυφαινολικού εκχυλίσματος από απόβλητα ελαιοτριβείου μετά από ενκαψούλωση σε πρωτεΐνη ορού γάλακτος, μαλτοδεξτρίνη και ζελατίνη*. Προφορική ανακοίνωση στο 4ο Πανελλήνιο Συνέδριο Βιοτεχνολογίας και Τεχνολογίας Τροφίμων, Αθήνα.

   Fousteri, Z., Stagos, D., Petrotos, K., Matsoukas, I., Kefalakis, G., Mantas, C. Goutsidis, P., **Kerasioti, E.**, Filintas, A., Kouretas, D. (2013, October). *Study of antioxidant activity of a polyphenolic extract from olive oil mill waste water after their encapsulation in whey protein, maltodextrin and gelatin*. Paper presented at 4th Panhellenic Conference of Biotechnology & Food Technology, Athens, Greece.

5. Κρεατσούλη, Κ., Στάγκος, Δ., Πετρωτός, Κ., **Κερασιώτη, Ε.**, Κουρέτας, Δ., Ματσούκας, Ι., Κεφαλάκης, Γ., Μαντάς, Χ., Γκουτσίδης, Π., Φιλίντας, Α. (2013, Μάιος – Ιούνιος). *Αντιοξειδωτική ικανότητα πολυφαινολικών εκχυλισμάτων από απόβλητα ελαιοτριβείου*. Προφορική ανακοίνωση στο Διεθνές Συνέδριο Τροφίμων και Βιοσυστημάτων, Σκιάθος.

   Kreatsouli, C., Stagos, D., Petrotos, K., **Kerasioti, E.**, Kouretas, D., Matsoukas, I., Kefalakis, G. Mantas, C., Gkoutsidis, P., Filintas, A. (2013, May – June). *Antioxidant activity of polyphenolic extract from olive mill wastewater*. Paper presented at International Conference on Food and Biosystems Engineering, Skiathos, Greece.

7. Κερασιώτη, Ε., Στάγκος, Δ., Κισκίνη, Α., Βεσκούκης, Α., Τζιαμούρτας, Α., Πουρνάρας, Σ., Τσιτσιμπίκου, Χ., Τσατσάκης, Α.Μ., Κουτεντάκης, Γ., Καραθάνος, Β., Κουρέτας, Δ. (2012, Οκτώβριος). *Επίδραση σκευάσματος υδατανθράκων-πρωτεϊνών σε δείκτες φλεγμονής μετά από άσκηση σε ανθρώπους*. Προφορική ανακοίνωση στο 2ο Πανελλήνιο συνέδριο Βιοχημείας και Φυσιολογίας της Άσκησης, Αθήνα.

   Kerasioti, E., Stagos, D., Kiskini, A., Veskoukis, A., Jamurtas, A., Pournaras, S., Tsitsimpikou, C., Tsatsakis, A.M., Koutedakis, G., Karathanos, V., Kouretas, D. (2012, October). *Effect of a carbohydrate-protein cake on markers of inflammation after exhaustive cycling in humans*. Paper presented at 2nd Panhellenic Conference of Biochemistry and Physiology of Exercise, Athens, Greece.

8. **Κερασιώτη, Ε.**, Κισκίνη, Α., Βεσκούκης, Α., Τζιαμούρτας, Α., Τσιτσιμπίκου, Χ. Τσατσάκης, Α.Μ., Κουτεντάκης, Γ., Καραθάνος, Β., Στάγκος, Δ., Κουρέτας, Δ. (2012, Οκτώβριος). *Επίδραση σκευάσματος υδατανθράκων-πρωτεϊνών σε δείκτες οξειδωτικού στρες μετά από εξαντλητική ποδηλασία σε ανθρώπους*. Προφορική ανακοίνωση στο 2ο Πανελλήνιο συνέδριο Βιοχημείας και Φυσιολογίας της Άσκησης, Αθήνα.

   Kerasioti, E., Kiskini, A., Veskoukis, A., Jamurtas, A., Tsitsimpikou, C., Tsatsakis, A.M., Koutedakis, G., Karathanos, V., Stagos, D., Kouretas, D. (2012, October). *Effect of carbohydrate-protein cake on oxidative stress markers after exhaustive cycling in humans*. Paper presented at 2nd Panhellenic Conference of Biochemistry and Physiology of Exercise, Athens, Greece.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Ευθαλία Κερασιώτη** είναι κάτοχος Πτυχίου Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας, με Μεταπτυχιακό στο αντικείμενο Μοριακή Βιολογία-Μοριακή Γενετική και Διαγνωστικοί Δείκτες και Διδακτορικό στη Βιοχημεία.

Η Μικροβιολογία, η Μοριακή Βιολογία και ιδιαίτερα η Μοριακή Διαγνωστική ανήκουν στο πεδίο του ενδιαφέροντός της. Κατά τη διάρκεια της διδακτορικής διατριβής της (με υποτροφία «Ηράκλειτος ΙΙ»), η οποία ήταν στο πλαίσιο ερευνητικού προγράμματος με τίτλο «Επίδραση της χορήγησης σκευάσματος υδατανθράκων-πρωτεϊνών σε δείκτες οξειδωτικού στρες, φλεγμονής και υποξίας, μετά από άσκηση σε ανθρώπους», πραγματοποίησε μια σειρά μοριακών τεχνικών (Western Blot, ELISA). Συγκεκριμένα, μετρήθηκε ένας αριθμός κυτοκινών σε δείγματα πλάσματος με τη μέθοδο της ELISA και εξετάστηκε ο μετα-μεταγραφικός παράγοντας Nrf2 και ένας αριθμός πρωτεϊνών με Western Blot. Επιπλέον, εξειδικεύτηκε σε κυτταρομετρία ροής (ανάλυση FACS) για τη μέτρηση των δεικτών του οξειδωτικού στρες. Απέκτησε επίσης δεξιότητες για τη διατήρηση και την ανάπτυξη των κυτταρικών καλλιεργειών, τη χρήση ενός αιματοκυτταρόμετρου και μικροσκοπική εξέταση. Έχει λάβει γνώση του προγράμματος στατιστικής SPSS και της επεξεργασίας των αποτελεσμάτων με το συγκεκριμένο πρόγραμμα. Συμμετείχε στη συγγραφή άρθρων που δημοσιεύθηκαν σε επιστημονικά περιοδικά, καθώς και στη συγγραφή των εκθέσεων προόδου για τις ανάγκες του ερευνητικού προγράμματος.

Εργάστηκε ως βοηθός διδασκαλίας στο Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων στα ΤΕΙ Λάρισας (Εργαστήριο Βιοχημείας). Σήμερα, εργάζεται ως Βιοχημικός σε μια εταιρεία Βλαστοκυττάρων.

Short CV

Eftalia Kerasioti holds a Degree in Biochemistry & Biotechnology, a Master's degree in Molecular Biology-Molecular Genetics and Diagnostic Markers and a PhD in Biochemistry.

Microbiology, Molecular Biology and especially Molecular Diagnostics belong to the field of her interest. During her PhD work (with a "Heraclitus II" scholarship), which was under a research project entitled "Effect of a special carbohydrate-protein cake on markers of oxidative stress, inflammation and hypoxia after exercise in humans", she conducted a range of molecular techniques (Western Blot, ELISA). Specifically, she measured a number of cytokines in plasma samples by the method of ELISA and she examined the post-transcriptional factor Nrf2 and a number of proteins by Western Blot. Furthemore, she was expertised in flow cytometry (FACS analysis) for the measurement of markers of oxidative stress. She also gained skills on the maintenance and growth of cell cultures, the use of a haemocytometer and microscopic investigation. She obtained knowledge of the SPSS statistic program as the processing of the results was conducted with this specific program. She participated in the writing of articles that were published in scientific journals as well as in the writing of progress reports for the needs of the research program.

She worked as a teaching assistant in the Department of Medical Laboratory at the Technological Educational Institution of Larisa (lab of Biochemistry). Today, she works in a Stem Cell company.

Αφροδίτη Κροκιδά

Γονιδιωματική οργάνωση και λειτουργική ανάλυση γονιδίων βιοσύνθεσης και μεταβολική ποικιλότητα τριτερπενοειδών στα ψυχανθή

Περίληψη

Η οικογένεια Fabaceae ή Leguminosae αποτελεί την τρίτη μεγαλύτερη οικογένεια φυτών και περιλαμβάνει 650 γένη και 18.000 είδη, τα περισσότερα εκ των οποίων παρουσιάζουν μεγάλο αγρονομικό ενδιαφέρον. Τα ψυχανθή χρησιμοποιούνται στη διατροφή του ανθρώπου και των οικόσιτων ζώων και σαν πρώτες ύλες στη βιομηχανία. Η ιδιαιτερότητα των ψυχανθών έγκειται στο γεγονός ότι μπορούν να δεσμεύουν το ατμοσφαιρικό άζωτο έπειτα από συμβιωτική σχέση με ριζόβια βακτήρια του γένους Rhizobium, παρέχοντας στα ίδια τα φυτά αλλά και στις μεταγενέστερες καλλιέργειες ανανεώσιμες πηγές αζώτου. Η παραγωγικότητα των ψυχανθών επηρεάζεται από μια πληθώρα αβιοτικών και βιοτικών παραγόντων, όπως η αλατότητα του εδάφους, η ξηρασία, η μειωμένη διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών, καθώς και ασθένειες ή παθογόνα. Η δημιουργία ανθεκτικών φυτών έναντι αυτών των καταπονήσεων αποτελεί κύριο στόχο των ερευνητών. Για το σκοπό αυτό, πραγματοποιούνται μελέτες σε δύο φυτά-μοντέλα ψυχανθή, το *Lotus japonicus* και το *Medicago truncatula*. Τα φυτά αυτά παρουσιάζουν ευνοϊκά χαρακτηριστικά, όπως ο μικρός κύκλος ζωής, το μικρό μέγεθος, η αυτογονιμοποίηση και ο σχετικά εύκολος μετασχηματισμός τους.

Τα μεταβολικά μονοπάτια των φυτών χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, τον πρωτογενή και το δευτερογενή μεταβολισμό. Οι διεργασίες του πρωτογενούς μεταβολισμού διευκολύνουν το φυτό να χρησιμοποιήσει το νερό, το διοξείδιο του άνθρακα και τα μεταλλικά στοιχεία, προκειμένου να σχηματίσει τα νουκλεινικά οξέα, τα αμινοξέα,τις πρωτεΐνες και τα καρβοξυλικά οξέα. Αντιθέτως, οι δευτερογενείς μεταβολίτες συχνά σχετίζονται με διακριτά χαρακτηριστικά οικογενειών και εξυπηρετούν ως μέσα ανθεκτικότητας, χρώματα, αρώματα, γεύσεις. Γενικά, θεωρείται ότι οι δευτερογενείς μεταβολίτες συσχετίζονται με σημαντικές οικολογικές διαδικασίες, συμμετέχοντας στις αποκρίσεις του φυτού έναντι βιοτικών και αβιοτικών παραγόντων.

Τα τριτερπένια είναι φυτικοί δευτερογενείς μεταβολίτες που προέρχονται από την κυκλοποίηση του 2,3-οξειδοσκουαλενίου μέσω του μονοπατιού του μεβαλονικού. Κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του φυτού, τα τριτερπένια αποτελούν πρόδρομα μόρια των κυτταρικών μεμβρανών. Επιπλέον, παίζουν σημαντικό ρόλο στην άμυνα του φυτού έναντι παθογόνων παραγόντων. Οι φαρμακολογικές τους ιδιότητες, όπως αντικαρκινική και αντιφλεγμονώδης, καθώς και οι εφαρμογές τους στη βιομηχανία τροφίμων, καθιστούν τα τριτερπένια μία από τις πιο σημαντικές ομάδες φυτικών προϊόντων. Τα ψυχανθή παράγουν μία πληθώρα δευτερογενών μεταβολιτών, όπως τα τριτερπένια α-αμυρίνη, η β-αμυρίνη και η λουπεόλη. Οι τριτερπενοειδείς σκελετοί σχηματίζονται από εξειδικευμένα ένζυμα, τις συνθάσες ή κυκλάσες του οξειδοσκουαλενίου και μπορούν διαδοχικά να τροποποιηθούν από ένζυμα όπως οι γλυκοσυλτρανσφεράσες ή ένζυμα του κυτοχρώματος P450.

Οι γονιδιακές συστοιχίες είναι ομάδες γονιδίων που εδράζονται κοντά στο χρωμόσωμα, δεν παρουσιάζουν ομολογία μεταξύ τους αλλά σχετίζονται λειτουργικά, όπως τα βακτηριακά οπερόνια. Η παρουσία τέτοιων γονιδιακών συστοιχιών απαραιτήτων για τη βιοσύνθεση δευτερογενών μεταβολιτών έχει εξελιχθεί σε πολύ ενδιαφέρον θέμα στη βιοτεχνολογία φυτών. Μια γονιδιακή συστοιχία περιλαμβάνει το βασικό γονίδιο, το οποίο κωδικοποιεί για ένα ένζυμο που σχηματίζει το βασικό σκελετό του μεταβολίτη και από τα γονίδια, τα οποία τροποποιούν το βασικό σκελετό, παράγοντας το τελικό προϊόν του μεταβολικού μονοπατιού.

Τα γονίδια που συμμετέχουν σε μονοπάτια βιοσύνθεσης τριτερπενοειδών οργανώνονται σε γονιδιακές συστοιχίες στα φυτά της βρώμης και του *Arabidopsis thaliana*. Η παρουσία τέτοιων ανάλογων γονιδιακών συστοιχιών ταυτοποιήθηκε στα φυτά *Lotus japonicus* και *Medicago truncatula* στις περιοχές που εδράζονται γονίδια βιοσύνθεσης τριτερπενίων. Ανάμεσα σε αυτές, επιλέχθηκε η συστοιχία AMY2 για περαιτέρω μελέτη, η οποία βρέθηκε ότι αποτελείται από το γονίδιο της συνθάσης της β-αμυρίνης, δύο γονίδια του κυτοχρώματος P450 καθώς και μία ρεδουκτάση. Ο λειτουργικός χαρακτηρισμός της γονιδιακής συστοιχίας πραγματοποιήθηκε με ετερόλογη έκφραση σε φύλλα *Nicotiana benthamiana*. Μια καινούρια δομή τριτερπενοειδούς, η διυδρολουπεόλη, παράγεται από τη συνθάση της β-αμυρίνης, πέραν της παραγωγής της β-αμυρίνης. Επιπλέον, ένα καινούριο ένζυμο του κυτοχρώματος P450, το CYP71D353 χαρακτηρίστηκε, το οποίο καταλύει το σχηματισμό του 20-υδροξυμπετουλινικού οξέος μέσω τριών διαδοχικών βημάτων οξείδωσης της διυδρολουπεόλης. Τα πρότυπα έκφρασης των γονιδίων μελετήθηκαν σε διαφορετικές αναπτυξι-

ακές και περιβαλλοντικές συνθήκες. Τα γονίδια της συστοιχίας συν-εκφράζονται κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των φυματίων και των ριζών, σε φυτά που υποβλήθηκαν σε καταπονήσεις και σε φυτά που αναπτύχθηκαν παρουσία ορμονών. Ο φυσιολογικός ρόλος της γονιδιακής συστοιχίας στη φυματιογένεση και στη φυτική ανάπτυξη μελετήθηκε σε μετασχηματισμένα φυτά με αποσιώπηση. Επιπλέον, αποκαλύφθηκε ένας μηχανισμός επιγενετικής τροποποίησης που πιθανά εμπλέκεται στη ρύθμιση της γονιδιακής συστοιχίας. Συμπερασματικά, η AMY2 συστοιχία αποτελείται από λειτουργικά συσχετιζόμενα γονίδια, συμμετέχει στη βιοσύνθεση τριτερπενοειδών στα ψυχανθή και πιθανά εμπλέκεται στη φυτική ανάπτυξη.

Επίσης, έγινε μια προσπάθεια ταυτοποίησης του ρόλου του γονιδίου της συνθάσης της β-αμυρίνης (*βAS*) στο φυτό *Medicago truncatula*. Το πρότυπο έκφρασης του γονιδίου *βAS* μελετήθηκε σε διάφορες αναπτυξιακές συνθήκες. Διαγονιδιακά φυτά με μειωμένη έκφραση του γονιδίου δημιουργήθηκαν μέσω του μετασχηματισμού με το *Agrobacterium rhizogenes*. Οι μετασχηματισμένες σειρές με αποσιώπηση παρουσίασαν έναν αυξημένο αριθμό φυματίων όταν συγκρίθηκαν με τα φυτά μάρτυρες, γεγονός που υποδηλώνει μια πιθανή εμπλοκή του γονιδίου *βAS* στο σχηματισμό των φυματίων.

Τέλος, ο ρόλος της συνθάσης της λουπεόλης, που κωδικοποιείται από το γονίδιο *OSC3*, καθώς και το προϊόν του, λουπεόλη, διερευνήθηκε σε αναπτυσσόμενες ρίζες και φυμάτια του μοντέλου-ψυχανθούς *Lotus japonicus*. Τα πρότυπα έκφρασης του γονιδίου *OSC3* καθορίστηκαν σε διάφορα αναπτυξιακά στάδια μη μολυσμένων και μολυσμένων ριζών με το συμβιώτη *Mesorhizobium loti*. Η ιστοειδική έκφραση του γονιδίου *OSC3* καθορίστηκε με *in situ* RNA υβριδισμό. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε λειτουργική ανάλυση σε μετασχηματισμένες ρίζες που παρουσίαζαν αποσιώπηση του γονιδίου *OSC3*. Στις μετασχηματισμένες ρίζες καθορίστηκε η απουσία παραγωγής λουπεόλης με GC-MS. Τα μετασχηματισμένα φυτά παρουσίασαν το φαινότυπο της πιο ταχείας φυματιογένεσης σε σύγκριση με τα φυτά – μάρτυρες. Επιπλέον, η έκφραση του γονιδίου *ENOD40*, γονίδιο δείκτης της έναρξης σχηματισμού των καταβολών των φυματίων, αυξήθηκε σημαντικά στα μετασχηματισμένα φυτά. Η εξωγενής παροχή λουπεόλης σε αγρίου τύπου φυτά παρείχε επιπλέον ενδείξεις για τον αρνητικό ρυθμιστικό ρόλο της λουπεόλης στην έκφραση του γονιδίου *ENOD40*. Λαμβάνοντας όλα αυτά υπόψη και καθώς η βιοσύνθεση της λουπεόλης μπορεί να αποδοθεί αποκλειστικά στο γονίδιο *OSC3*, προτείνεται για τη λουπεόλη ένας ρόλος στο σχηματισμό των φυματίων μέσω της ρύθμισης της έκφρασης του γονιδίου *ENOD40*. Συμπερασματικά, αυτή η μελέτη έδειξε ότι η ύπαρξη ασυνήθιστων μεταβολικών γονιδιακών συστοιχιών υφίσταται και σε ψυχανθή φυτικά είδη, ενισχύοντας περισσότερο την πεποίθηση ότι συγκεκριμένες εξελικτικές διαδικασίες λαμβάνουν χώρα προκειμένου να παραχθούν σημαντικοί φυτικοί δευτερογενείς μεταβολίτες, όπως είναι τα τριτερπένια. Επιπρόσθετα, μέσω αυτής της εργασίας αποδίδονται καινούριοι ρόλοι στα τριτερπένια, οι οποίοι σχετίζονται με την αύξηση και ανάπτυξη του φυτού. Τέλος, η μελέτη αυτή συνεισφέρει με καινούρια γονίδια και ένζυμα τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή καινούριων βιοδραστικών μορίων μέσω προσεγγίσεων συνθετικής και συνδυαστικής βιολογίας.

Λέξεις κλειδιά: *Lotus japonicus*, *Medicago truncatula*, ψυχανθή, γονιδιακή συστοιχία, συνθάση της β-αμυρίνης, συνθάση της λουπεόλης, ρίζες, φυμάτια, συμβίωση, κυτόχρωμα P450, γονιδιακή αποσιώπηση, τριτερπένια, συνδυαστική και συνθετική βιολογία

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Καλλιόπη Παπαδοπούλου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Βιοτεχνολογία Φυτών, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Anne E. Osbourn, Καθηγήτρια/Επικεφαλής, Τμήμα Μεταβολικής Βιολογίας, Πανεπιστήμιο East Anglia/ Ινστιτούτο John Innes, Ηνωμένο Βασίλειο

Δημήτριος Καρπούζας, Αναπληρωτής Καθηγητής, Περιβαλλοντική Μικροβιολογία και Βιοτεχνολογία, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Afroditi Krokida

Genome organization and functional analysis of biosynthetic genes and metabolic diversity of triterpenes in legumes

Abstract

Fabaceae or Leguminosae is the third largest family of flowering plants, consisting of 650 genera and 18.000 species, many of which are of agronomic importance. Legume plants serve as source of food for humans, feed for livestock and raw materials for

industries. Legumes are capable to fix nitrogen in a symbiotic association with the soil bacteria of genus *Rhizobium*, providing these plants and subsequent crops with free and renewable quantities of nitrogen (N). Legume productivity is being affected by numerous biotic and abiotic barriers, as soil salinity, drought, nutrient limitations and various diseases and pests. Developing tolerant plants to these impediments is a main effort of breeding programs. Two legume species, *Lotus japonicus* (Handberg and Stougaard, 1992) and *Medicago truncatula* have been chosen as models for legume research because of their useful characteristics like small genome size, simple architecture, small stature, large seed set, short generation time, self-fertility and the establishment of a protocol for a reliable transformation technique with *Agrobacterium* strains.

Plant metabolic pathways are partitioned into two major classes. Intermediary or primary metabolism includes vital reactions similar in most organisms. Primary metabolism facilitates the plant to utilize water, carbon dioxide and minerals in order to form nucleic acids, amino acids and proteins, carbohydrates and carboxylic acids. By definition, secondary metabolites or natural products are low-molecular compounds, generally not essential for the basic processes of plant growth and development. Collectively, secondary compounds are frequently associated with the distinguishing features of particular taxa and serve as disease resistance determinants, scents, colours and flavours. In general, it is considered that secondary metabolites have important ecological functions, participating in plant responses to biotic and/or abiotic barriers. Triterpenes are plant natural products that are formed by cyclization of 2,3- oxidosqualene. During plant growth and development, triterpenoids are essential precursors for cell membranes. Additionally, they play roles in defense against pathogen attack. Their pharmacological properties, such as anti-cancer, anti-inflammatory, anti-oxidant activities and their applications in food industry, render triterpenoids as a very important group of natural products. Legumes produce a vast array of secondary compounds, including the triterpenes α-amyrin, β-amyrin and lupeol. The triterpene scaffolds formed by enzymes known as oxidosqualenecyclases (*OSCs*) may be subsequently modified by enzymes such as cytochrome P450s and glucosyltansferases.

Clusters containing genes that do not share homology but are functionally related are common features in bacterial genomes, known as operons. The existence of gene clusters necessary for the biosynthesis of secondary metabolites has emerged as a novel and increasing theme in plant biology. Secondary metabolic gene clusters contain the “signature” genes encoding enzymes that catalyze the synthesis of the skeleton structures of the different classes of secondary metabolites. In addition, clusters include genes encoding the proper “tailoring” enzymes that elaborate the secondary metabolite skeleton, such as oxidoreductases, methyltransferases, acyltransferases and glycosyltransferases. These enzymes are responsible for the successive conversion of the products of the signature enzymes into the respective pathway end products. Genes for triterpene biosynthetic pathways exist as metabolic gene clusters in oat and *Arabidopsis thaliana* plants. Four loci of candidate metabolic gene clusters were identified in the genomes of the model legumes *Lotus japonicus* and *Medicago truncatula*, in regions flanking *OSC* genes. Amongst these was a *L. japonicus* cluster containing the *AMY2 OSC* gene along with genes for two different classes of cytochrome P450 and a reductase. This cluster represents a new pathway for triterpene biosynthesis in legumes. Expression of *AMY2* cluster genes in *Nicotiana benthamiana* identified a novel triterpene structure, dihydrolupeol, produced by AMY2 and allowed the biochemical characterization of a new plant cytochrome P450, CYP71D353, which catalyses the formation of 20-hydroxybetulinic acid in a sequential three-step oxidation of 20-hydroxylupeol. The cluster genes are highly co-expressed during root and nodule development, in hormone-treated plants and under different environmental stresses. A possible role for the gene cluster in plant development was revealed by the production of RNA silencing lines. These experiments also revealed an unexpected mechanism for the regulation of cluster gene expression by long distance transcriptional gene silencing.

Additionally, the role of *βAS* gene of *M. truncatula* was investigated. The expression pattern of *βAS* gene was studied under various developmental conditions. Knockout experiments were also conducted, in which transgenic *M. truncatula* for *βAS* were generated through *A. rhizogenes* transformation. Silenced plant lines showed an increased nodule number when compared with control plants, disclosing a possible involvement of *βAS* in nodulation.

Finally, the role of lupeol synthase, encoded by *OSC3* and its product, lupeol, was identified in developing roots and nodules of the model legume

L. japonicus. The expression patterns of *OSC3*, in different developmental stages of uninfected roots and in roots infected with *Mesorhizobium* loti, were determined. The tissue specificity of *OSC3* expression was analyzed by in situ RNA hybridization. Functional analysis, in which transgenic *L. japonicus* roots silenced for *OSC3* were generated, was performed. The absence of lupeol in the silenced plant lines was determined by GC-MS. The expression of *ENOD40*, a marker gene for nodule primordia initiation, was increased significantly in the *OSC3*-silenced plant lines, suggesting that lupeol influences nodule formation. Silenced plants also showed a more rapid nodulation phenotype, consistent with this. Exogenous application of lupeol to M. loti-infected wild-type plants provided further evidence for a negative regulatory effect of lupeol on the expression of *ENOD40*. The synthesis of lupeol in *L. japonicus* roots and nodules can be solely attributed to *OSC3*. Taken together, our data suggest a role for lupeol biosynthesis in nodule formation through the regulation of *ENOD40* gene expression.In conclusion, this study shows that the unusual feature of metabolic gene clustering in plant genomes exists in legumes as well, further strengthening the hypothesis that specific evolution processes take place for the production of physiologically important plant special metabolites such as the triterpenes. Furthermore, this work adds evidence to as yet largely unrecognized functions of triterpenes in plant growth and development. Finally, it contributes with genes and enzymes implicated in the production of novel compounds with improved or altered bioactivity via combinatorial biosynthesis or via synthetic biology approaches.

Key words: *Lotus japonicus, Medicago truncatula*, legumes, gene cluster, β-amyrin synthase, lupeol synthase, roots, nodules, symbiosis, cytochrome P450, gene silencing, triterpenes, combinatorial biosynthesis, synthetic biology

Three - Member Supervisory Committee

Kalliope Papadopoulou, Associate Professor, Plant Biotechnology, Department of Biochemistry & Biotechnology, University of Thessaly, Greece

Anne E. Osbourn, Professor/Head, Department of Metabolic Biology, University of East Anglia/John Innes Centre, UK

Dimitrios Karpouzas, Assistant Professor, Environmental Microbiology & Biotechnology Department of Biochemistry & Biotechnology, University of Thessaly, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme “Heraclitus II”

Άρθρα σε περιοδικά / Articles in journals

1. **Krokida, A.**, Delis, C., Geisler, K., Garagounis, C., Tsikou, D., Pena-Rodrigues, L.M., Katsarou, D., Field, B., Osbourn, A.E., & Papadopoulou, K.K. (2013). A metabolic gene cluster in Lotus japonicus discloses novel enzyme functions and products in triterpene biosynthesis. *New Phytologist*, *200*(3), 675-90.

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες Presentations in scientific conferences and meetings –workshops

1. **Krokida, A.**, Delis, C., Garagounis, C., Katsarou, D., Field, B., Tsikou, D., Geisler, K., Peña-Rodríguez, L.M., Osbourn, A.E., Papadopoulou, K.K. (2013, June). *Biosynthetic gene clusters for triterpenes in legumes*. TERPNET 2013, 11th International Meeting on Biosynthesis, Function and Biotechnology of Isoprenoids in Terrestrial and Marine Organisms, Kolymvari, Crete, Greece.
2. **Krokida, A.**, Delis, C., Garagounis, C., Katsarou, D., Tsikou, D., Osbourn, A.E., Papadopoulou, K.K. (2011, June). *A biosynthetic gene cluster for triterpenes in Lotus japonicus*. A PSE young scientists meeting: Trends in natural products research, Kolymvari – Crete, Greece.
3. **Krokida, A.**, Delis, C., Garagounis, C., Katsarou, D., Field, B., Tsikou, D., Geisler, K., Peña-Rodríguez, L.M.,Osbourn, A.E., Papadopoulou, K.K. (2011, June). *A biosynthetic gene cluster for triterpenes in legumes*. TERPNET, 10th international meeting: biosynthesis and function of isoprenoids in plants, microorganisms and parasites, Kalmar, Sweden.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Αφροδίτη Κροκιδά** αποφοίτησε από το Ενιαίο Λύκειο Ακράτας και πραγματοποίησε βασικές σπουδές στο Τμήμα της Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, όπου και συνέχισε με μεταπτυχιακές σπουδές στο αντικείμενο «Μοριακή Οικολογία και Ανίχνευση Γενετικά Τροποποιημένων Οργανισμών».

Εργάστηκε σαν επιστημονική συνεργάτιδα στο Εργαστήριο Βιοτεχνολογίας Φυτών και Περιβάλλοντος του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στη Λάρισα για δύο χρόνια και ακολούθως, με υποτροφία " Ηράκλειτος ΙΙ", πραγματοποίησε στο ίδιο Εργαστήριο τη διδακτορική της διατριβή, με τίτλο «Γονιδιωματική Οργάνωση και Λειτουργική Ανάλυση Γονιδίων Βιοσύνθεσης και Μεταβολική Ποικιλότητα Τριτερπενοειδών στα Ψυχανθή». Ολοκλήρωσε κομμάτι της διδακτορικής της διατριβής στο εργαστήριο της Καθηγήτριας Anne Osbourn, στο Τμήμα Μεταβολικής Βιολογίας στο John InnesCentre στην Αγγλία. Επιπλέον, συμμετείχε με βοηθητικό ρόλο στα εκπαιδευτικά εργαστήρια προπτυχιακών φοιτητών, στο πλαίσιο του μαθήματος «Βιοτεχνολογία Φυτών» του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας τα έτη 2008 - 2013.

Έχοντας συμμετοχή σε ποικίλα ερευνητικά έργα στο Εργαστήριο Βιοτεχνολογίας Φυτών και Περιβάλλοντος, εξειδικεύτηκε σε διάφορες εργαστηριακές τεχνικές, όπως βασικές και προχωρημένες τεχνικές μοριακής βιολογίας, βιολογίας φυτού, ιστολογίας και μικροσκοπίας, μικροβιολογίας, γενετικής μηχανικής φυτών, βιοπληροφορικής, βιοχημείας και καλλιέργειας καρκινικών κυττάρων.

Στη συνέχεια εργάστηκε για 15 μήνες ως μεταδιδάκτορας στο Τμήμα Γεωπονίας του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης και παράλληλα συμμετείχε στις ερευνητικές δραστηριότητες του Εργαστηρίου Βιοτεχνολογίας Φυτών και Περιβάλλοντος στο Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Τώρα εργάζεται ως μεταδιδάκτορας στο Μεσογειακό Αγρονομικό Ινστιτούτο Χανίων. Τα ερευνητικά της ενδιαφέροντα είναι ο δευτερογενής μεταβολισμός του φυτού, οι μοριακές αλληλεπιδράσεις φυτών – μικροοργανισμών, η ανίχνευση, απομόνωση και μελέτη του βιολογικού ρόλου φυτικών βιοδραστικών μορίων και η χρήση τους στη φαρμακοβιομηχανία και κοσμετολογία.

Short CV

Afroditi Krokida graduated from High school of Akrata and studied in the Department of Agricultural Biotechnology at Agricultural University of Athens. She obtained her Master of Science Diploma from the same Department, in the field of "Molecular Ecology and Identification of Genetically Modified Organisms".

She worked as a scientific collaborator in the Laboratory of Plant and Environmental Biotechnology in the Department of Biochemistry and Biotechnology at University of Thessaly (Larissa, Greece) for two years and, then, supported by a «Heraclitus II» scholarship, she completed her PhD thesis entitled "Genome Organization, Functional Analysis of Biosynthetic Genes and Metabolic Diversity of Triterpenes in Legumes" in the same Laboratory. During her PhD, she completed part of her thesis as a visiting PhD student to Professor Anne Osbourn's laboratory in the Department of Metabolic Biology in John Innes Centre. Additionally, she had an assistant role in teaching practical courses of undergraduate students to the field of "Plant Biotechnology" in the Department of Biochemistry and Biotechnology. Furthermore, she was a supervisor of several projects in the Laboratory of Plant and Environmental Biotechnology, which resulted in her expertise in the fields of molecular biology, plant biology, microscopy, computational biology, microbiology, genetic engineering, biochemistry, mammalian cells bioassays.

Subsequently, she worked for 15 months as a post-doctoral researcher in the Department of Agriculture at Aristotle University of Thessaloniki, Greece and, also, participated in the research activities of the Plant and Environmental Biotechnology Laboratory at University of Thessaly. Now she works as a post-doctoral researcher in Mediterranean Agronomic Institute of Chania. Her research interests are plant secondary metabolism, molecular interaction of plant – microorganisms and identification, isolation of natural bioactive compounds and their applications in pharmaceutical industry and cosmetics.

Ευθυμία Σαγρή

Τρανσκριπτομική και πρωτεομική ανάλυση του σημαντικότερου παρασίτου της ελιάς, του εντόμου Bactrocera oleae, με έμφαση στα συστήματα φυλοδιαχωρισμού και ανθεκτικότητας στα εντομοκτόνα

Περίληψη

Το έντομο *Bactrocera oleae* (*Tephritidae*), κοινώς ο δάκος της ελιάς, είναι ο σημαντικότερος εχθρός της ελιάς και η ζημιά που προκαλεί φτάνει το 30% ετησίως. Οι καταστροφικές του συνέπειες τον καθιστούν στόχο συστηματικού ελέγχου, κυρίως με χρήση χημικών εντομοκτόνων. Για την καταπολέμηση του εντόμου στη χώρα μας, χρησιμοποιούνται κυρίως οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα, ενώ σε μικρότερη κλίμακα εφαρμόζονται οι συνθετικές πυρεθρίνες και πρόσφατα ο νατουραλίτης spinosad. Η μη ορθολογική χρήση αυτών εμπεριέχει κινδύνους, όπως οικολογικές διαταραχές, δημιουργία και εξάπλωση ανθεκτικότητας, επιβλαβείς τοξικολογικές επιδράσεις και συνέπειες στην υγεία του ανθρώπου. Για τον έλεγχο φυσικών πληθυσμών του εντόμου έχουν προταθεί νέες φιλικότερες προς το περιβάλλον μέθοδοι, όπως η τεχνική του στείρου εντόμου (Sterile Insect Technique, SIT) που προϋποθέτει τη μαζική εκτροφή και εξαπόλυση στείρων εντόμων στη φύση. Η μέθοδος αυτή έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για τον έλεγχο άλλων εντόμων (πχ. Μεσογειακή μύγα) σε διάφορες περιοχές του κόσμου, ωστόσο η SIT δεν έχει εφαρμοσθεί με επιτυχία ακόμη στον δάκο. Όπως έχει δειχθεί σε πολλές περιπτώσεις, η επιτυχής εφαρμογή της SIT προϋποθέτει καλή γνώση της βιολογίας και της οικολογίας του εντόμου, καθώς και αποτελεσματικά μοριακά και γενετικά εργαλεία. Δεδομένου ότι οι πληροφορίες για το γονιδίωμα του δάκου είναι ελάχιστες, η έρευνα αυτή έχει σκοπό την ανάπτυξη εργαλείων πρωτεομικής και τρανσκριπτομικής που θα βοηθήσουν τις προσπάθειες αποτελεσματικότερης εφαρμογής SIT και τον εντοπισμό και την απομόνωση γονιδίων του δάκου που εμπλέκονται είτε σε μονοπάτια φυλοδιαχωρισμού είτε ανθεκτικότητας στο εντομοκτόνο spinosad.

Τρανσκριπτομική ανάλυση: Η ανάλυση του τρανσκριπτόματος του δάκου στόχευε αφενός στην αποκάλυψη γενετικών τόπων που εμπλέκονται στην ανθεκτικότητα του δάκου στο spinosad και αφετέρου στον εντοπισμό γονιδίων διαχωρισμού των δύο φύλων. Για το σκοπό αυτό, RNA απομονώθηκε είτε από κεφάλια ανθεκτικών και ευαίσθητων στο spinosad εντόμων είτε από το αναπαραγωγικό σύστημα αρσενικών και θηλυκών ατόμων. Το RNA αυτό μετατράπηκε σε cDNA και ακολούθησε η αλληλούχησή του. Η αλληλούχηση πραγματοποιήθηκε στο Ινστιτούτο Φλέμινγκ με την τεχνολογία SOLiD (Πίνακας Ι). Η βιοπληροφορική ανάλυση των δειγμάτων κατέληξε σε πλήθος γονιδίων διαφορετικής έκφρασης σε ευαίσθητα και ανθεκτικά στο spinosad έντομα, καθώς επίσης και σε αρσενικά και θηλυκά άτομα *B. oleae*. Η επεξεργασία και σύγκριση περισσότερων από 13.000 γονιδίων προσδιόρισε τη στατιστικά σημαντική υπερέκφραση 9 γονιδίων και στατιστικά σημαντική υποέκφραση ~40 γονιδίων ανάμεσα σε ευαίσθητα και ανθεκτικά στο spinosad έντομα. Αντίστοιχα, 330 γονίδια είχαν υπερέκφραση στα θηλυκά έντομα ενώ 1238 υπερεκφράζονται στα αρσενικά έντομα (Εικ.1). Στη συνέχεια, επιλέχθηκαν είτε γονίδια με ιδιαίτερα διαφορετική έκφραση είτε γονίδια ιδιαίτερου ενδιαφέροντος για περαιτέρω λειτουργική ανάλυση μέσω qRT-PCR (Εικόνες 2 & 3). Για τη λειτουργική ανάλυση διαφορικά εκφραζόμενων γονιδίων σε θηλυκά και αρσενικά άτομα μελετήθηκαν οι δώδεκα γενετικοί τόποι: *kl2 (male fertility factor, kl2), kl3 (male fertility factor, kl3), kl5 (male fertility factor, kl5), ory (occludin-related Y protein), fem-1 (sex-determining protein fem-1), gas8 (growth arrest specific protein 8), lobo (lostboys), ix (intersex), pbl (pebble)* και *hcf (host cell factor C1)* που υπερεκφράζονται στα αρσενικά και τα δύο γονίδια *sox* και *pcp* (pupal cuticle protein 78E) που υπερεκφράζονται στα θηλυκά έντομα. Στα αποτελέσματα που προέκυψαν, επιβεβαιώθηκε σημαντική διαφορά αυξημένης έκφρασης στα αρσενικά έντομα για τα γονίδια *kl2*, *kl3*, *kl5*, *ory*, *fem-1*, *gas8*, *lobo*, *pbl*, *hcf* και το γονίδιο *pcp* με υπερέκφραση στα θηλυκά έντομα, ενώ ελάχιστες διαφορές παρατηρήθηκαν μεταξύ των αρσενικών και θηλυκών

εντόμων για το γονίδιο *ix*. Μόνο για το γονίδιο *sox* δε διαπιστώθηκε το αναμενόμενο αποτέλεσμα (Εικ.4). Παράλληλα, για τη λειτουργική ανάλυση των γονιδίων που εμπλέκονται στην ανθεκτικότητα, συνολικά μελετήθηκαν δύο ανθεκτικοί και δύο ευαίσθητοι πληθυσμοί *B. oleae*. Οι ανθεκτικοί πληθυσμοί ήταν ο εργαστηριακός πληθυσμός (SPIN) που είχε επιλεγεί μέσω συνεχούς προσθήκης του εντομοκτόνου στη διατροφή του και ένας φυσικός πληθυσμός από την Καλιφόρνια (w-CAL) που εμφάνιζε 13 φορές αυξημένη ανθεκτικότητα σε σχέση με εργαστηριακό ευαίσθητο στέλεχος. Οι ευαίσθητοι πληθυσμοί ήταν ο εργαστηριακός (LAB) που εκτρέφεται σε εργαστηριακές συνθήκες τα τελευταία ~40 χρόνια και ένας πληθυσμός που προέκυψε από ελαιόκαρπους της περιοχής Βόλου- Αγριάς (w-GR) όπου δε γίνεται χρήση εντομοκτόνων. Συνολικά μελετήθηκαν οι δεκαέξι γενετικοί τόποι, που αρκετοί ανήκουν σε ομάδες μεταβολισμού ενέργειας: *Yolk protein 2 (Yp2), ATP synthase FO subunit 6 (ATP synthase), Low affinity cationic amino acid transporter 2 (CAT-2), Serine protease 6 (SP6), 4-nitrophenyl phophatase (pNPPase), Salivary Cys-rich secreted peptide-vWF (SalCys), Cytochrome P450 6a23-like (Cyp6α23) και Antigen 5 precursor (Ant5)* που υπερεκφράζονται στα ανθεκτικά στο spinosad έντομα και *Heat-shock protein* 70 (Hsp70), *Heat-shock protein 23 (Hsp23), Larval serum protein 1 (LSP1), Hexamerin L1 (HexL1), Chitinase 5 (Cht5), Oxidase/peroxidase (oxidase), Macrophage mannose receptor 1 (mmr1) και Cell division cycle-associated protein 7 (Cdc)* που υποεκφράζονται στα ανθεκτικά έντομα. Στα αποτελέσματα που προέκυψαν, επιβεβαιώθηκε σημαντική διαφορά αυξημένης έκφρασης στα ανθεκτικά έντομα για τα γονίδια *Yp2, ATP synthase, CAT-2, SP6, pNPPase, SalCys και Cyp6α23* αλλά και των γονιδίων *Hsp70, Hsp23, LSP1, HexL1, Cht5* με υπερέκφραση στα ευαίσθητα έντομα. Για τα γονίδια *Ant5*, *oxidase*, *mmr1* και *Cdc* δε διαπιστώθηκε το αναμενόμενο αποτέλεσμα (Εικ.5).

Πρωτεομική ανάλυση: Για την πρωτεομική ανάλυση, αρχικά πραγματοποιήθηκε ηλεκτροφόρηση δύο διαστάσεων (2D-PAGE) σε κεφάλια από αρσενικά και θηλυκά έντομα για τη μελέτη της διαφορικής έκφρασης των πρωτεϊνών μεταξύ των δύο φύλων του δάκου (Εικ.6). Στη συνέχεια, οι διαφορετικές πρωτεΐνες εντοπίστηκαν, αποκόπηκαν, ακολούθησε πέψη με τρυψίνη και ανάλυση με φασματομετρία μάζας στο ινστιτούτο Αλέξανδρος Φλέμινγκ. Τέλος, τα αποτελέσματα επεξεργάστηκαν μέσω βιοπληροφορικής ανάλυσης. Στον πίνακα ΙΙ εμφανίζονται οι πρωτεΐνες που εκφράζονται με διαφορετικό τρόπο ανάμεσα σε θηλυκά και αρσενικά έντομα. Οι πρωτεΐνες αυτές ανήκουν σε διαφορετικές λειτουργικές ομάδες, όπως κυτοσκελετού, μεταβολισμού, συναπτοσωμικές, μεταγωγής σήματος και οξειδωτικού στρες. Επίσης, έγινε εφαρμογή μιας νέας προσέγγισης μέσω μελέτης των πεπτιδίων. Με σκοπό τη διερεύνηση μηχανισμών που εμπλέκονται σε συστήματα φυλοδιαχωρισμού, αρχικά συλλέχθηκαν όργανα αναπαραγωγής αρσενικών και θηλυκών εντόμων από το εργαστηριακό στέλεχος του δάκου. Στη συνέχεια, έγινε ομογενοποίηση των ιστών με κατάλληλο διάλυμα λύσης και απομόνωση των πεπτιδίων. Ακολούθησε η φασματομετρία μάζας με χρήση MALDITOF-TOF, λήψη των αποτελεσμάτων των πεπτιδίων με τη χρήση του MASCOT και επεξεργασία των αποτελεσμάτων μέσω βιοπληροφορικής ανάλυσης. Με επιτυχία έγινε εντοπισμός πεπτιδίων που εμπλέκονται σε συστήματα διαχωρισμού των δύο φύλων καθώς παρατηρήθηκε υπερέκφρασή τους σε αρσενικά και θηλυκά έντομα αντίστοιχα.

Λέξεις κλειδιά: Next generation sequencing, ανθεκτικότητα εντομοκτόνου, Spinosyns, ανάλυση έκφρασης, σεξουαλική διαφοροποίηση, πρωτεομική ανάλυση

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Κωνσταντίνος Ματθιόπουλος, Καθηγητής Μοριακής Βιολογίας, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Μαρία Κοντού, Επίκουρη Καθηγήτρια, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Βασίλειος Αϊδίνης, Ερευνητής Β', Ινστιτούτο Ανοσολογίας, Ερευνητικό Κέντρο Βιοϊατρικών Επιστημών «ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ ΦΛΕΜΙΝΓΚ»

Efthymia Sagri

Transcriptomic and proteomic analysis of the most important olive pest, the insect *Bactrocera* oleae, with emphasis on sex differentiation and insecticide resistance systems

Summary

The olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Tephritidae), is the most important enemy of cultivated olives, causing around 30% of damages per annum. Control of the fly is mainly based on chemical insecticides. In our country, organophosphate and pyrethroid insecticides are primarily used, however, the naturalyte spinosad has been introduced in recent years. Intensive as well as improper use of insecticides has hazardous effects, such as ecological disturbances, establishment and spread of resistance, dangerous toxicological effects and consequences on human health. More environmentally friendly approaches have also been proposed, such as the sterile insect technique (Sterile Insect Technique, SIT), which involves the mass rearing and releasing of sterilized insects in nature. This method has been successfully used to control other insects (eg. Mediterranean fly) in many regions worldwide, however the SIT has not been successfully applied in the olive fly yet. As has been shown in many cases, the successful application of SIT presupposes good knowledge of the insect's biology and ecology, as well as the availability of effective molecular and genetic tools. Given the minimal information about olive fly's genome, this research aimed at the development of proteomic and transcriptomic tools in order to identify and isolate genes that are involved in pathways of sex differentiation or and spinosad resistance.

Transcriptomic analysis: In order to identify genetic loci that are involved either in spinosad resistance or that are implicated in sex differentiation, RNA was isolated either from heads of sensitive and resistant to spinosad insects, or from the reproductive systems of male and female flies. RNA was converted into cDNA and subsequently massively sequenced in the SOLiD platform of the Fleming Institute in Athens (Table I). The bioinformatic analysis resulted in a number of genes with differential expression in spinosad sensitive and resistant flies, as well as in male and female reproductive systems of *B. oleae*. Processing and comparison of more than 13,000 genes identified the statistically significant upregulation of nine genes and statistically significant down regulation of ~40 genes between sensitive and resistant to spinosad insects. Similarly, 330 genes were upregulated in the female reproduction system while 1238 were down regulated in male testes flies (Fig.1). Several genes were further selected for validation through qRT-PCR (Figures 2 & 3).Twelve reproductive loci were considered: *kl2 (male fertility factor, kl2), kl3 (male fertility factor, kl3), kl5 (male fertility factor, kl5), ory (occludin-related Y protein), fem-1 (sex-determining protein fem-1), gas8 (growth arrest specific protein 8), lobo (lost boys), ix (intersex), pbl (pebble) and hcf (host cell factor C1*) that were overexpressed in males and the two genes *sox* and *pcp* (*pupal cuticle protein 78E*) that were overexpressed in female flies. The results confirmed significant overexpression in male testes for genes *kl2, kl3, kl5, ory, fem-1*, *gas8, lobo, pbl, hcf* and significant overexpression of pcp in female tissues while minimal differences were observed in *ix* expression between males and females. qRT-PCR did not validate the expression profile of the sox gene obtained from RNA-seq (Figure 4).Furthermore, validation of the genes implicated in spinosad resistance was performed on two resistant and two sensitive populations of *B. oleae*. The resistant populations were: a laboratory strain (SPIN) selected by continually increasing amounts of the insecticide in its diet; and a wild population from California (w-CAL) which has a 13 times greater resistance compared to the laboratory sensitive strain. The sensitive populations were: the laboratory strain (LAB) which has been reared in

laboratory conditions over the past ~40 years; and a population derived from olives of the region of Volos-Agria (w-GR) where insecticides are not used. In total, sixteen loci were studied, many of which belong to energy metabolism groups: *Yolk protein 2 (Yp2), ATP synthase FO subunit 6 (ATP synthase), Low affinity cationic amino acid transporter 2 (CAT-2), Serine protease 6 (SP6), 4-nitrophenylphophatase (pNPPase), Salivary Cys-rich secreted peptide-vWF (SalCys), Cytochrome P450 6a23-like (Cyp6α23) and Antigen 5 precursor (Ant5)* were upregulated in resistant to spinosad insects; and *Heat-shock protein 70 (Hsp70), Heat-shock protein 23 (Hsp23), Larval serum protein 1 (LSP1), HexamerinL1 (HexL1), Chitinase 5 (Cht5), Oxidase/peroxidase (oxidase), Macrophage mannose receptor 1 (mmr1) and Cell division cycle-associated protein 7 (Cdc)* were down regulated in resistant flies. The results confirmed a significant overexpression of genes Yp2, ATP synthase, *CAT-2, SP6, pNPPase, SalCys and Cyp6α23* in resistant insects and significant overexpression of genes *Hsp70, Hsp23, LSP1, HexL1, Cht5* in sensitive flies. For genes *Ant5, oxidase, mmr1 and Cdc* the RNA seq result was not confirmed (Figure 5).

Proteomic analysis: For proteomic analysis, a two-dimensional electrophoresis (2D-PAGE) for heads of male and female insects was initially performed, in order to study the differential expression of proteins in the two sexes of the fruit fly. Subsequently, the differentially expressed proteins were identified, isolated, followed by digestion with trypsin and analyzed by mass spectrometry in the Athens Fleming Institute. Finally, the results were analyzed through bioinformatics analysis. In Table II the male and female differentially expressed proteins are shown. These proteins belong to different functional groups such as cytoskeleton, metabolism, synaptosomal, signal transduction and oxidative stress. Moreover, a new peptidomic approach was applied. In order to discover the mechanisms involved in sex differentiation systems, at first tissues were collected from the reproductive systems of male and female insects which were then homogenized in the appropriate lysis buffer and the peptides were isolated. MALDI TOF-TOF analysis was subsequently followed and the outcoming results were analyzed with the MASCOT software. This analysis successfully identified peptides overexpressed in either male or female olive fly tissues.

Key words: Next generation sequencing, insecticide resistance, Spinosyns, expression analysis, sexual differentiation, proteomic analysis

Three - Member Supervisory Committee

Konstantinos Mathiopoulos, Professor, Department of Biochemistry and Biotechnology University of Thessaly, Greece

Maria Kontou, Assistant Professor, Protein Chemistry, Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Thessaly, Greece

Vasilis Aidinis, Researcher B', Institute of Immunology, Biomedical Sciences Research Center "ALEXANDER FLEMING", Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά/ Articles in journals

1. **Sagri, E.**, Reczko, M., Tsoumani, T.K., Gregoriou, M.E., Harokopos, V., Mavridou, A.M., Tastsoglou, S., Athanasiadis, K., Ragoussis, J., & Mathiopoulos, K.D. (2014). The molecular biology of the olive fly comes of age, *BMC Genetics*, 15 (Suppl2),8. http://dx.doi.org/10.1186/1471-2156-15-S2-S8
2. **Sagri, E.**, Reczko, M., Gregoriou, M.E., Tsoumani, T.K., Zygouridis, E.N., Salpea, K.D., Zalom, F.G., Ragoussis, J., & Mathiopoulos, K.D. (2014). Olive fly transcriptomics analysis implicates energy metabolism genes in spinosad resistance. *BMC Genomics*, *15*(1),714.http://dx.doi.org/10.1186/1471-2164-15-714.

3. Kakani, E.G., **Sagri, E.**, Omirou, M., Ioannides, I.M., Mathiopoulos, K.D.(2013). Detection and geographical distribution of the organophosphate resistance-associated Δ3Q ace mutation in the olive fruit fly, *Bactrocera oleae (Rossi). Pest Manag Sci*., *70*(5),743-50.

   http://dx.doi.org/10.1002/ps.3564.

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και ημερίδες
Presentations in scientific conferences and meetings-workshops

1. **Sagri, E.**, Reczko, M., Gregoriou, M.E., Tsoumani, T.K., Zygouridis, E.N., Salpea, K.D., Zalom, F.G., Ragoussis, J., & Mathiopoulos, K.D. (2014, November). *Immunity and energy metabolism genes of the olive fly are implicated in spinosad resistance*. Paper presented at 65th National Conference of the Greek Society of Biochemistry and Molecular Biology,Thessaloniki,Greece.
2. Gregoriou, M.E., Tastsoglou,S., Athanasiadis, K., **Sagri, E.**, Ragoussis, J., & Mathiopoulos, K.D. (2014, November). *Does the reproductive system "smell"?* Paper presented at 65th National Conference of the Greek Society of Biochemistry and Molecular Biology, Thessaloniki, Greece.
3. **Sagri, E.**, Reczko, M., Gregoriou, M.-E., Tsoumani, K.T., Zygouridis, N., Salpea, K.D., Zalom, F.G., Ragoussis, J., & Mathiopoulos, K.D. (2014, August). *Olive fly transcriptomics analysis implicates energy metabolism genes in spinosad resistance*. Paper presented at 10th European Congress of Entomology, York, United Kingdom.
4. **Σαγρή, Ε.**, Σαλπέα, Κ., Reczko, M., Χαροκόπος Β., Ραγκούσης, Γ., & Ματθιόπουλος, Κ. Δ. (2013 Οκτώβριος). *Τρανσκριπτομική ανάλυση του Bactroceraoleae με έμφαση σε μηχανισμούς ανθεκτικότητας σε εντομοκτόνα*. Προφορική ανακοίνωση στο 15ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Καβάλα.

   Sagri, E., Salpea, K., Reczko, M., Harokopos, V., Ragoussis, J., Mathiopoulos, K.D. (2013, October). *Transcriptomics analysis of Bactroceraoleae with emphasis in insecticide resistance systems*. Paper presented at 15th National Entomological Conference, Kavala, Greece.
5. **Sagri, E.**, Salpea, K., Reczko, M., Harokopos, V., Ragoussis, J., Mathiopoulos, K. D. (2013, May). *Transcriptomics analysis of Bactrocera oleae with emphasis in sex separation and insecticide resistance systems*. Paper presented at 35th Scientific Conference E.E.B.E., Nauplio,Greece.
6. Gregoriou, M.E., **Sagri, E**., Kakani, E.G., Salpea, K., Harokopos, V., Zalom, F.G., Ragoussis, J., & Matthiopoulos, K.D. (2012, August). Spinosad Resistance in the olive fly, Bactrocera oleae. Paper presented at the XXIV International Congress of Entomology, Daegu, Korea.
7. **Sagri, E.**, Stravodimos, G., Samiotaki, M., Panagiotou, G., Mathiopoulos, K.D., & Kontou, M. (2012, July). *Sex-specific proteome differences in the olive fruit fly, Bactrocera oleae*. Paper presented at 2nd International Symposium of Team,Kolymbari, Greece.
8. Gregoriou, M.E., **Sagri, E**., Kouimanis, V., Kakani, E.G., Zygouridis, N.E., Zalom, F.G., & Mathiopoulos, K.D. (2012, July). *Spinosad resistance in Bactrocera oleae*. Paper presented at 2nd International Symposium of Team, Kolymbari, Greece.
9. **Sagri, E.**, Stavrodimos, G., Samiotaki, M., Panagiotou, G., Mathiopoulos, K.D., & Kontou, M. (2012, May). *Proteomics analysis of Bactrocera oleae with emphasis in sex separation and insecticide resistance systems*. Paper presented at 34th Scientific Conference E.E.B.E.,Trikala, Greece.
10. **Sagri, E**., Stavrodimos, G., Samiotaki, M., Panagiotou, G., Mathiopoulos, K.D., & Kontou, M. (2011, October). *Proteomics analysis of Bactrocera oleae with emphasis in sex separation and insecticide resistance systems*. Paper presented at 6th International Symposium on Molecular Insect Science, Grand Krasnapolsky, Amsterdam, The Netherlands.

Σύντομο Βιογραφικό

Η **Ευθυμία Σαγρή** γεννήθηκε στη Λάρισα. Έλαβε το Πτυχίο της από τη Γεωπονική Σχολή του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, με κατεύθυνση: Φυτά Μεγάλης Καλλιέργειας και Οικολογίας, το 2005. Η πτυχιακή της διατριβή είχε θέμα "Η επίδραση της αλατότητας στη φυτρωτική και βλαστική ικανότητα σπόρων αρακά και καλαμποκιού" (Υπεύθυνος Καθηγητής: Δόρδας Χρήστος). Κατά το διάστημα 2007 -2009, παρακολούθησε το Μεταπτυχιακό κύκλο σπουδών με τίτλο "Βιοτεχνολογία-Ποιότητα Διατροφής και Περιβάλλοντος", στο Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Στο πλαίσιο των μεταπτυχιακών της σπουδών, πραγματοποίησε διατριβή στη Μοριακή Εντομολογία με θέμα: "Εξάπλωση μεταλλάξεων που σχετίζονται με την ανθεκτικότητα του δάκου της ελιάς σε οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα" (Υπεύθυνος Καθηγητής: Ματθιόπουλος Κωνσταντίνος).

Από το 2006 έως το 2010, εργάστηκε στην εταιρία: ΑΓΡΟΣΥΜΒΟΥΛΟΙ ΕΝΕΡΓΕΙΑΚΗ (Υπηρεσίες γεωργικών μελετών) στη Λάρισα. Στο πλαίσιο της Εκπαίδευσης για ενηλίκους, δίδαξε το μάθημα "Ασθένειες και Προσβολές Φυτών" στην ειδικότητα "Δασικής Προστασίας", στο 2ο Ινστιτούτο Επαγγελματικής Κατάρτισης Λάρισας (10/2008-02/2009) και το μάθημα "Τυποποίηση Αγροτικών Προϊόντων" στην ειδικότητα "Τεχνικός στην οργανική - βιολογική γεωργία" στο 1ο Ινστιτούτο Επαγγελματικής Κατάρτισης Λάρισας (02/2010-05/2010).

Short CV

Efthimia Sagri was born in Larissa. She graduated from the School of Agriculture of the Aristotle University of Thessaloniki at the direction: Plants of Extensive Cultures and Ecology, in 2005. Her graduation thesis was on the subject "The effect of salinity on germination and germ line of seeds of pea and corn" (Professor: Christos Dordas). During 2007-2009, she attended the Postgraduate course entitled Biotechnology- Food and environment quality at the Department of Biochemistry and Biotechnology of the University of Thessaly. Within the postgraduate study, she conducted a thesis in Molecular Entomology on the subject "Spread of mutations associated with resistance of the olive fly to organophosphate insecticides" (Professor: Mathiopoulos Konstantinos).

From 2006 to 2010, she worked in the company: Agrosymvouloi Energy CO (Agricultural Programmes, Agro-environmental programs subsidized by EU) in Larissa. Also, within the frame of Education for adults, she taught the course "Diseases and Insults of Plants" to the specialty "Forest Protection" in 2nd IEK of Larissa (10/2008-02/2009) and the course "Standardization of agricultural products'' to the specialty "Technician in organic-ecological agriculture" in 1st IEK of Larissa (02/2010-05/2010).

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
SCHOOL OF SCIENCE

Τμήμα Πληροφορικής
Department of Computer Science

Τμήμα Πληροφορικής με εφαρμογές στην Βιοϊατρική
Department of Computer Science and Biomedical Informatics

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
SCHOOL OF SCIENCE

Τμήμα Πληροφορικής με εφαρμογές στην Βιοϊατρική
Department of Computer Science and Biomedical Informatics

Ιωάννης Μιχελάκος

Εξόρυξη γνώσης από Ιατρικά δεδομένα

Περίληψη

Στον πραγματικό κόσμο, σε όλους σχεδόν τους τομείς, υπάρχουν μεγάλα σύνολα δεδομένων που «κρύβουν μέσα τους» (ή περιλαμβάνουν) πολλή γνώση και χρήσιμη πληροφορία. Η πρόκληση που εμφανίζεται σήμερα είναι όχι πώς να συλλέξουμε και να αποθηκεύσουμε επαρκείς όγκους πληροφοριών, αλλά πώς να βγάλουμε συμπεράσματα που να έχουν νόημα και σημασία από αυτές τις μάζες στοιχείων που βρίσκονται σε μεγάλες Βάσεις Δεδομένων, σε Αποθήκες Δεδομένων, σε συλλογές κειμένων, στον Παγκόσμιο Ιστό και αλλού. Η Εξόρυξη Δεδομένων (ΕΔ) ή Εξόρυξη Γνώσης από Δεδομένα έρχεται να δώσει απάντηση σε αυτή την πρόκληση.

Η ΕΔ είναι μια όχι πλέον καινούρια περιοχή, αλλά με αρκετές και σημαντικές ερευνητικές προκλήσεις, αφού τον τελευταίο καιρό όλο και περισσότεροι επιστήμονες ασχολούνται με αυτή, προσπαθώντας να προτείνουν δυναμικές τεχνικές και αλγορίθμους για ανακάλυψη γνώσης. Η εξόρυξη δεδομένων διεξάγεται επί δεδομένων που παρουσιάζονται σε ποσοτική μορφή, με μορφή κειμένου ή με μορφή πολυμέσων. Οι τεχνικές εξόρυξης δεδομένων (όπως συσχέτιση, αλληλουχία, ταξινόμηση, ομαδοποίηση) συχνά χρησιμοποιούνται σαν μέθοδοι πρόβλεψης (χρήση υπαρχόντων δεδομένων για να προβλεφθούν άγνωστες ή μελλοντικές τιμές κάποιων άλλων μεταβλητών ή δεδομένων) και σαν περιγραφικές μέθοδοι (για να βρεθούν κατανοητά πρότυπα και γενικές ιδιότητες/χαρακτηριστικά που περιγράφουν τα δεδομένα). Το ενδιαφέρον για την ΕΔ φαίνεται και από το πλήθος των επιστημονικών περιοδικών (π.χ. DataMiningan dKnowledgeDiscovery, Knowledge and Information Systems, IEEE Transactions on Knowledge and Data Engineering) και συνεδρίων (π.χ. KDD, ICDM, SIAM-DM, IDA, PKDD, PAKDD) που επικεντρώνονται σε αυτή την περιοχή και από το γεγονός ότι δημοφιλή Συστήματα Διαχείρισης Βάσεων Δεδομένων έχουν ενσωματώσει δυνατότητες ΕΔ (π.χ. Oracle, DB2, SQLserver).

Αν και η ανάπτυξη που γνωρίζει η ΕΔ είναι δεδομένη, οι φιλοδοξίες για περαιτέρω ανάπτυξη είναι περισσότερες από ποτέ. Η ετερογένεια, η ποσότητα και ο ρυθμός παραγωγής των δεδομένων συνεχίζουν να αυξάνουν, προσθέτοντας μεγαλύτερες προκλήσεις σε όσους αναζητούν χρήσιμες πληροφορίες στα δεδομένα αυτά. Οι μελλοντικές τάσεις στο χώρο της ΕΔ περιλαμβάνουν την αντιμετώπιση με επιτυχία μεγαλύτερου όγκου δεδομένων, τη διαχείριση ετερογενών και μη δομημένων δεδομένων που διαρκώς αυξάνουν το ρυθμό εμφάνισης τους έναντι των δομημένων, τη διαχείριση ροών δεδομένων, τη διαχείριση δεδομένων που έχουν γραφική αναπαράσταση, τους περιορισμούς που αφορούν τη συλλογή, κατοχή, επεξεργασία και διανομή των ίδιων των δεδομένων και τέλος την ανάπτυξη μεθόδων εξόρυξης γνώσης που θα μπορούν να ανταποκρίνονται σε δεδομένα που είναι ευαίσθητα τόσο στη διανομή τους όσο και στη «χειραγώγηση» τους.

Συχνά και στην ιατρική υπάρχει «κρυμμένη» πληροφορία στα δεδομένα. Οι γιατροί και οι σχετικοί αναλυτές μπορεί να χρειάζονται πολύ χρόνο για να ανακαλύψουν τη χρήσιμη πληροφορία. Αυτό έχει ως συνέπεια μεγάλο πλήθος από ιατρικά δεδομένα να μην αναλύονται ποτέ. Επίσης, τα ιατρικά δεδομένα είναι οικογένεια δεδομένων που συγκεντρώνει μια σειρά από χαρακτηριστικά: είναι συχνά κατανεμημένα, ημιδομημένα, ετερογενή, εξελισσόμενα, έχουν ασάφεια ή ανακρίβεια, έχουν συχνά μορφή κειμένου, σε κάποιες περιπτώσεις είναι πολυδιάστατα ή/και ευαίσθητα προσωπικά δεδομένα. Αυτά τα χαρακτηριστικά τα καθιστούν ιδιαίτερα, γι' αυτό και οι τεχνικές που θα αναπτυχθούν θα πρέπει να λαμβάνουν υπόψη τους τουλάχιστον μερικά από αυτά. Επομένως κύριος στόχος των τεχνικών Εξόρυξης Ιατρικών Δεδομένων (ΕΙΔ) είναι να αναλύσουν τα ιατρικά δεδομένα και να εξάγουν χρήσιμη πληροφορία από αυτά. Η ΕΔ έχει ήδη εφαρμοστεί στο χώρο της ιατρικής, όχι όμως σε τέτοιο βαθμό όπως σε άλλους χώρους (π.χ. επιχειρησιακά δεδομένα και προώθηση πωλήσεων). Επιπρόσθετα, η επιστημονική κοινότητα εκτιμά ότι παραμένουν πολλές ερευνητικές προκλήσεις στις τεχνικές ΕΙΔ.

Επειδή τα ιατρικά δεδομένα προέρχονται από παρατηρήσεις ανθρώπων ειδικών στο χώρο της υγείας, δημιουργούνται σοβαρά ηθικά, κοινωνικά και νομικά ζητήματα. Μερικά από τα θέματα αυτά αφορούν τον τρόπο κτήσης των δεδομένων, τη μυστικότητα και ασφάλεια των δεδομένων, τα αναμενόμενα αποτελέσματα των εκάστοτε ερευνών. Τέτοιου είδους ζητήματα θα ληφθούν σοβαρά υπόψη στη διατριβή αυτή.

Ο χώρος της βιοϊατρικής τεχνολογίας προσφέρει νέες προκλήσεις στην ΕΔ, όπως είναι η μεγάλη διάσταση, τα ελλιπή και θορυβώδη δεδομένα, η επικάλυψη, οι εξαιρετικά πολύπλοκες συσχετίσεις μεταξύ των μεταβλητών που οι απλές τεχνικές δεν μπορούν να εντοπίσουν, η ενσωμάτωση μεταξύ πηγών δεδομένων και τύπων δεδομένων, η αστάθεια δεδομένων, η αλληλεπίδραση με το χρήστη. Επιπλέον, είναι κρίσιμα σημεία έρευνας η δημιουργία κατάλληλων εφαρμογών σε θέματα εξατομικευμένων ιατρικών διαγνώσεων για κάθε συγκεκριμένο ασθενή,και η ανάπτυξη νέων μεθόδων που να μπορούν να διαχειριστούν το διαρκώς αυξανόμενο όγκο των δεδομένων αυτών καθώς και τις ιδιαιτερότητές τους.

Επιπρόσθετα, περαιτέρω προκλήσεις για την ανάπτυξη νέων μεθόδων αποτελούν η ουσιαστικότερη ερμηνεία των αποτελεσμάτων και η ισορροπία αυτής με την ακρίβεια, η βέλτιστη εκμετάλλευση των υπολογιστικών πόρων που προσφέρουν οι νέες υπολογιστικές πλατφόρμες, ενώ τέλος σημαντικό είναι να αποφευχθεί στο μέλλον η εσωστρέφεια που παρατηρείται στην τεκμηρίωση των πειραματικών αποτελεσμάτων και η αδυναμία κατανόησης των αναγκών και των ιδιαιτεροτήτων που χαρακτηρίζουν τα δεδομένα αυτά.

Οι τεχνικές εξόρυξης στην ιατρική που έχουν μελετηθεί μέχρι σήμερα, έχουν χρησιμοποιηθεί για ανακάλυψη προτύπων που πριν δεν ήταν γνωστά και είναι πιθανόν χρήσιμα για τη διάγνωση και πρόβλεψη μιας ασθένειας, για να βρεθούν μη αναμενόμενες σχέσεις ανάμεσα στα ιατρικά δεδομένα και χαρακτηριστικά καθώς και γιανα τα συνοψίσουν και να τα ταξινομήσουν με νέους τρόπους που είναι κατανοητοί και χρήσιμοι στους γιατρούς. Μέσω της διαδικασίας παροχής υπηρεσιών υγείας, συλλέγεται τεράστιος αριθμός δεδομένων. Υπάρχουν όμως σχετικά λίγα εργαλεία για την αξιοποίηση αυτών των δεδομένων. Είναι σημαντικό στην εξόρυξη ιατρικών δεδομένων, όπως σε κάθε προσπάθεια εξόρυξης γνώσης, να ακολουθείται μια συγκεκριμένη διαδικασία ανακάλυψης γνώσης που θα ξεκινά από τον προσδιορισμό του προβλήματος και θα τελειώνει στην εφαρμογή των αποτελεσμάτων. Είναι πολύ σημαντικό στο μέλλον να προσπαθήσουμε να ημι-αυτοματοποιήσουμε αυτή τη διαδικασία. Για να συμβεί αυτό, είναι απαραίτητο να χρησιμοποιηθούν νέες τεχνολογίες και σημασιολογικά εργαλεία, όπως οντολογίες, OWL, XML, κ.α. .

Μια σειρά από πρόσφατες εργασίες στο χώρο της εξόρυξης ιατρικών δεδομένων καταγράφονται στη βιβλιογραφία όπου μπορεί κανείς να βρει περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τις υπάρχουσες τεχνικές και τις μέχρι σήμερα εφαρμογές τους. Τέλος, η ΕΔ αποτελεί εργαλείο έχοντας ως κύρια κλειδιά επιτυχίας την ακριβή διατύπωση του προβλήματος που προσπαθούμε να λύσουμε, τη χρήση των σωστών δεδομένων για να λύσουμε το πρόβλημα και την κατανόηση της εμπλεκόμενης ιατρικής διαδικασίας. Επιπλέον, τα σχήματα που αποκαλύπτονται μέσω της ΕΔ πρέπει να επαληθευθούν στον πραγματικό κόσμο.

Λέξεις κλειδιά: Βάσεις Δεδομένων, Εξόρυξη Δεδομένων, συσχέτιση, αλληλουχία, ταξινόμηση, ομαδοποίηση, ιατρικά δεδομένα, εξόρυξη ιατρικών δεδομένων, μέθοδοι πρόβλεψης, περιγραφικές μέθοδοι

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Βασίλειος Πλαγιαννάκος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Πληροφορικής με Εφαρμογές στη Βιοϊατρική, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας (επιβλέπων)
Γνωστικό αντικείμενο: Υπολογιστική Νοημοσύνη, Ευφυή και Προσαρμοστικά Συστήματα, Εξελικτικοί και Γενετικοί Αλγόριθμοι, Συσταδοποίηση

Μιχαήλ Βασιλακόπουλος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Ηλεκτρολόγων Μηχανικών & Μηχανικών Υπολογιστών, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
Γνωστικό αντικείμενο: Συστήματα Βάσεων Δεδομένων

Ελπινίκη Παπαγεωργίου, Επίκουρη Καθηγήτρια, Τμήμα Πληροφορικής & Τεχνολογίας Υπολογιστών , ΤΕΙ Λαμίας
Γνωστικό αντικείμενο: Ευφυή Συστήματα, Τεχνικές Υπολογιστικής Νοημοσύνης, Πολύπλοκα Προσαρμοστικά Συστήματα, Έμπειρα Συστήματα και Συστήματα Υποστήριξης Αποφάσεων, Μηχανική Μάθηση, Τεχνικές Εξόρυξης Δεδομένων

Ioannis Michelakos

Medical Data Mining

Abstract

In the real world, in almost all areas, there are large data sets which”hide inside” (or include) a lot

of knowledge and useful information. The challengethatappears today is not how to collect and store adequate volumes of information, but how to draw conclusions that make sense and importance from these masses of data found in large databases, Data Warehouses, to document collections in the World Web and elsewhere. The Data Mining (DM) is coming to answer this challenge.

The DM is no longer a new region, but with many important research challenges lately, more and more scientists engaged in this effort to propose dynamic techniques and algorithms for knowledge discovery. Data mining is conducted on data presented in quantitative form, with text or multimedia format. Data mining techniques (such as correlation ID, classification, clustering) are often used as predictive methods (use of existing data to predict unknown or future values of certain variables or other data) and as descriptive methods (to find understood standards and general properties / attributes that describe the data). Interest in the ED is demonstrated by a number of journals (e.g. Data Mining and Knowledge Discovery, Knowledge and Information Systems, IEEE Transactions on Knowledge and Data Engineering) and conferences (e.g. KDD, ICDM, SIAM- DM, IDA, PKDD, PAKDD) that focus on this area and by thefact that popular Database Management Systems have integrated HR capabilities (e.g. Oracle, DB2, SQL server).

Although the development of the DM is a fact, ambitions for further growthare more than ever. The heterogeneity, the amount and therate of the production of data continue to increase, adding greater challenges to those seeking useful information to this data. Future trends in the DM include addressing successfully larger amounts of data, management of heterogeneous and unstructured data which increase their incidence rate compared to structured, data management flows, management of data plotting, restrictions concerning the collection, holding, processing and distribution of the same data and finally thedevelopment of data mining methods that can respond to data that are sensitive to both their distribution and “manipulation”.

Often, in medicine too, there is “hidden” information in the data. Doctors and relevant analysts can take a long time to discover useful information. This results in a large number of medical data which are never analyzed. Also, the medical data is a data family that brings together a number of features: they are often distributed, semistructured, heterogeneous, evolving, have ambiguity or inaccuracy, often textual, in some cases they are multidisciplinary and / or sensitive personal data. These features make them special, so the techniques to be developed should take into account at least some of them. Therefore, the main aim of technical Medical Data Mining (MDM) is to analyze the medical data and extract useful information from them. The MDM has already been applied in medicine, but not so much as in other fields (e.g. operational data and sales promotion). Additionally, the scientific community believes that many research challenges remain concerning MDM techniques.

Because medical data derive from the observations of people who are experts in the health sector, serious ethical, social and legal issues are created. Some of these issues concern the manner of acquisition of data, privacy and data security, the expected results of the various investigations. Such issues will be seriously considered in this thesis.

The biomedical technology area offers new challenges to the MDM, such as the large dimension, incomplete and noisy data, duplications, the extremely complex relationships between variables that simple techniques cannot detect, the integration between data sources and data types, the data instability, the interaction with the user. Furthermore, crucial points of the research are the creation of appropriate applications on issues of personalized medical diagnoses for each patient and the development of new methods that can handle the increasing volume of such data and their particularities.

Additionally, further challenges for the development of new methods are the more substantial interpretation of the results and its balance with the precision, optimal exploitation of computing resources offered by new computing platforms and finally it is important to avoid future introversion observed inthe documentation of experimental results and the lack of understanding of the needs and specific features of these data.

The mining techniques in medicine studied up to today have been used to discover patterns not previously known and are possibly useful for the diagnosis and prediction of disease, to find unexpected relationship between the medical care data and attributes as well as to summarize and classify them in new ways that are understandable and useful to doctors. Through the health care process huge amounts of data are collected. But there are relatively few tools to exploit those data. It is important in mining medical data such asin every attempt of mining knowledge to follow a specific process of discovering knowledge that starts from the identification of the problem and finishes implementing the results. It is very important in the future to try to semi-automate this process. For this to happen tools are necessary to use new technologies and semantic tools such as ontologies, OWL, XML, etc.

A series of recent works in the field of mining medical data is recorded in the literature where one can find more information about existing techniques and their applications up to today. Finally, the DM is a tool having as main keys of success the exact formulation of the problem we are trying to solve, the use of the right data to solve the problem and the understanding of the involved medical procedure. Moreover, the shapes disclosed by DM must be verified in the real world.

Keywords: Databases, Data Mining, association, sequence, classification, clustering, medical data, medical data mining, forecasting methods, descriptive methods

Three - Member Supervisory Committee

Vassilis P. Plagianakos, Associate Professor, Department of Computer Science and Biomedical Informatics, University of Thessaly, Greece
Computational Intelligence, Intelligent and Adaptive Systems, Evolutionary and Genetic Algorithms, Clustering

Michael Gr. Vassilakopoulos, Associate Professor, Department of Electrical and Computer Engineering, University of Thessaly, Greece
Database Systems

Elpiniki I. Papageorgiou, Assistant Professor, Department of Computer Engineering of the Technological Educational Institute (TEI) of Central Greece, Lamia, Greece
Intelligent Systems, Computational Intelligence Techniques, Complex Adaptive Systems, Expert Systems and Decision Support Systems, Machine Learning, Data Mining Techniques

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Κεφάλαια σε συλλογικά έργα / Book chapters

1. **Michelakos, I.**, Malios, N., Papageorgiou, E., & Vasilakopoulos, M. (2011). Ant Colony Optimization and Data Mining.In N. Bessis& F. Xhafa (Eds.), *Next Generation Data Technologies for Collective Computational Intelligence* (pp.31-60). New York: Springer

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων – βιβλία περιλήψεων Publications in conference proceedings – books of abstracts

1. **Michelakos, I.**, Papageorgiou, E., & Vasilakopoulos, M. (2010). A Hybrid Classification Algorithm evaluated on Medical Data. *Enabling Technologies: Infrastructures for Collaborative Enterprises* WETICE '10, 19th IEEE International Workshop (pp. 98 -103). Larissa, Greece: IEEE

2. **Michelakos, I.**, Papageorgiou, E., & Vasilakopoulos, M. (2010). A study of cAnt-Miner 2 parameters using medical data sets. WETICE '10, *19th IEEE International Workshops on Enabling Technologies*: Infrastructures for Collaborative Enterprises (pp. 119-121). Larissa, Greece: IEEE

4. **Michelakos, I.**, Malios, N., Papageorgiou, E., & Vasilakopoulos, M. (2010). Ant Colony Optimization and Data Mining: Techniques and Trends. *P2P, Parallel, Grid, Cloud and Internet Computing* (3PGCIC), *2010 International Conference* (pp. 284 – 289).Fukuoka, Japan:IEEE

Σύντομο βιογραφικό

Ο **Ιωάννης Μιχελάκος** γεννήθηκε στην Αθήνα, το 1977. Πήρε το Πτυχίο του από το τμήμα Μαθηματικών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, το 1999. Τελείωσε τις μεταπτυχιακές του σπουδές στα Πληροφοριακά Συστήματα στο Πανεπιστήμιο Μακεδονίας στη Θεσσαλονίκη, το 2004.

Από το Φεβρουάριο του 2006 μέχρι το Δεκέμβριο του 2009, υπήρξε επιστημονικός και τεχνικός υπεύθυνος του Ολοκληρωμένου Πληροφοριακού Συστήματος στην Περιφέρεια Στερεάς Ελλάδος. Από το Σεπτέμβριο του 2005 έως το Μάρτιο του 2011, υπήρξε εργαστηριακός συνεργάτης, διδάσκοντας διάφορα γνωστικά αντικείμενα (Πληροφοριακά Συστήματα Διοίκησης, Βάσεις Δεδομένων, Προγραμματισμός Ι, Τεχνολογία Λογισμικού, Πολυμέσα, Πληροφορική Υγείας), στο Τμήμα Πληροφορικής στο ΤΕΙ Λαμίας.

Τα ερευνητικά του ενδιαφέροντα είναι: Εξόρυξη Γνώσης, Βάσεις Δεδομένων, Τεχνικές Υπολογιστικής Νοημοσύνης, Ευφυή και Προσαρμοστικά Συστήματα.Είναι ενεργός μέλος της διεθνούς κοινότητας IEEE και της Ελληνικής Εταιρείας Επιστημόνων Πληροφορικής.

Short CV

Ioannis Michelakos was born in Athens, Greece. He received his B.Sc. Degree in Mathematics from the University of Ioannina, Greece, in 1999. He obtained his Master of Science Degree in Management Information Systems from the University of Macedonia, Thessaloniki, Greece, in 2004.

From February 2006 to December 2009, he has been a scientific and technical support specialist of the Integrated Information System of the Prefecture of Central Greece. From September 2005 to March 2011, he has been a laboratory co-operator, teaching several lessons (MIS, Data Bases, Programming Languages I, Software Engineering, Multimedia, Health Informatics) in the Department of Computer Engineering of the Technological Educational Institute (TEI) of Central Greece, Lamia. From November 2010 to November 2011, he was responsible for Design, Development and Managing of Liaison Office Information System of the University of Central Greece, Lamia.

His research topics are Data Mining, Data Bases, Computational Intelligence and Intelligent and Adaptive Systems.He is an active member of the IEEE Society and the Greek Computer Society.

Σωτήριος Τασουλής

Εξόρυξη γνώσης από μεγάλης διάστασης ταχείς ροές δεδομένων

Περίληψη

Ενώ η ομαδοποίηση δεδομένων έχει μια μακρά ιστορία και ένα μεγάλο κομμάτι της έρευνας έχει αφιερωθεί στην ανάπτυξη πολυάριθμων μεθόδων ομαδοποίησης, σημαντικές προκλήσεις παραμένουν ακόμα. Μία από τις πιο σημαντικές σχετίζεται με τη μεγάλη διάσταση των δεδομένων. Μία συγκεκριμένη κατηγορία αλγορίθμων ομαδοποίησης αντιμετωπίζει τέτοιου τύπου δεδομένα με μεγάλη επιτυχία, χρησιμοποιώντας τεχνικές μείωσης της διάστασης. Οι μέθοδοι προβολών για την μείωση διάστασης μας έδωσαν τη δυνατότητα να ανακαλύψουμε τη δομή των δεδομένων εξαιρετικά μεγάλης διάστασης. Σε αυτή τη διατριβή, γίνεται μία προσπάθεια να εμβαθύνουμε την κατανόησή μας σχετικά με το τι μπορεί να επιτευχθεί από αυτού του είδους τις τεχνικές σε μία προσπάθεια να ανακαλύψουμε θεωρητικά τη σχέση των ομάδων στα δεδομένα και την κατανομή των προβολών τους. Βασισμένοι στα ευρήματά μας προτείνουμε μία σειρά από διαχωριστικούς ιεραρχικούς αλγορίθμους ομαδοποίησης. Οι προτεινόμενοι αλγόριθμοι απαιτούν ελάχιστες παραμέτρους εισόδου και επίσης έχουν τη δυνατότητα να εκτιμούν το πλήθος των ομάδων στα δεδομένα. Τα πειραματικά αποτελέσματα δείχνουν ότι οι προτεινόμενες τεχνικές είναι αποτελεσματικές σε τεχνητά δεδομένα αλλά και σε πραγματικές εφαρμογές που χαρακτηρίζονται από πολύ μεγάλη διάσταση.

Λέξεις κλειδιά: Εξόρυξη Δεδομένων, Ομαδοποίηση, Ιεραρχικοί Αλγόριθμοι, Ανάλυση Πρωτευουσών Συνιστωσών, Τυχαίες Προβολές, Εκτίμηση πυκνότητας Πυρήνα

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Βασίλης Πλαγιανάκος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Πληροφορικής με Εφαρμογές στη Βιοϊατρική, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας *(επιβλέπων)*

Ηλίας Μαγγλογιάννης, Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Ψηφιακών Συστημάτων, Πανεπιστήμιο Πειραιά

Nial Adams, Καθηγητής, Σχολή Φυσικών Επιστημών, Τμήμα Μαθηματικών, Imperial College, Λονδίνο, Ηνωμένο Βασίλειο.

Sotirios Tasoulis

Knowledge discovery in high dimensional data

Abstract

While data clustering has a long history and a large amount of research has been devoted to the development of numerous clustering techniques, significant challenges still remain. One of the most important is associated with high data dimensionality.

In general terms, these problems result from the fact that a fixed number of data points become increasingly ‘‘sparse’’ as the dimensionality increases. For clustering purposes, the most relevant aspect of the curse of dimensionality concerns the effect that it has on distance or similarity. It has been shown that the relative difference of the distances of the closest and farthest data points of an independently selected point goes to 0 as the dimensionality increases. Thus, it is often said that “in high dimensional spaces, distances between points become relatively uniform”.

A particular class of clustering algorithms has been very successful in dealing with such datasets, utilizing information driven by dimensionality reduction techniques. Projection methods for dimension reduction have enabled the discovery of otherwise unattainable structure in ultra high dimensional data by applying techniques from linear algebra or statistics such as principal component analysis (PCA) or singular value decomposition (SVD).

In this class of algorithms, the principal direction divisive partitioning (PDDP) algorithm is of particular value. Compared to other similar techniques PDDP has the advantage of very low computational complexity. PDDP is a ‘‘divisive’’ hierarchical clustering algorithm and as any algorithm of this kind, produces a nested sequence of partitions, with a single, all-inclusive cluster at the top. Starting from this all-inclusive cluster the nested sequence of partitions is constructed by iteratively splitting clusters, until a termination criterion is satisfied. Any divisive clustering algorithm can be characterized by the way it chooses to provide answers to the following three questions:

Q1: Which cluster to split further?

Q2: How to split the selected cluster?

Q3: When should the iteration terminate?

In this thesis, we try to deepen our understanding on what can be achieved by this kind of approaches in an attempt to theoretically discover the relationship between true clusters in the data and the distribution of their projection. Based on such findings, we separately investigate each of the above questions involved in a divisive hierarchical clustering procedure and we propose a series of new hierarchical divisive clustering algorithms. The main characteristic of the proposed algorithms is that they incorporate information from the density of the projected data onto the first principal component (dePDDP). Then they create a top-down hierarchy by performing binary splits based on the density of the projected data. (See Figures 1,2)

Further on, we also investigate alternative approaches for finding projection directions that might be more appropriate in clustering terms such as Independent Component Analysis (ICA). We also proposed a new criterion of direction interestingness guided by the cluster structure to construct a new projection pursuit methodology utilizing the Differential Evolution algorithm to perform optimization over the space of the projections. Using such methodologies we manage to discover clusters of arbitrary shapes and sizes.

However, in certain cases where the data dimensions lie in the range of hundreds of thousands or even millions even Principal Component Analysis can be quite expensive to compute. For this reason Random Projection (RP) emerged as an alternative method for dimension reduction. In Random Projection, the data are projected onto a lower dimension subspace using a random matrix. RP is extremely computational efficient and has also the desirable property to preserve the structure of the data without introducing significant distortion. Here we combine the RP method with our density based technique to create a new effective and computationally efficient clustering methodology while we show that the theoretical properties of both components can be combined in a sound manner. While constructing a full PCA representation has a complexity that is polynomial with respect to the data dimension, RP's complexity is linear. This suggests that by applying RP first to get a reduced dimension representation and using PCA later could also reduce the total complexity significantly.

The final part of this thesis is devoted to clustering of data streams. This particular task is of great interest in the recent years as such data formats are becoming increasingly ambiguous. Recent technological advances have made the continuous collection of data trivial, leading to very large databases that grow at an unlimited rate and many times it is either unnecessary or impractical to store them. These streaming data present new challenges to clustering algorithms. A streaming clustering process aims to continuously track the clustering structure of the data. Since stream data by nature impose a one pass constraint on the design of the algorithms, this task becomes more difficult.

Most clustering methods cannot be used for streaming data since they rely on the assumption that the data are available in a permanent memory structure, from which global information can be obtained at any time. However in many cases a clustering algorithm can be extended to the concept of data streams. Here we present an extension of the proposed density based approach in which we update online the hierarchical structure of the algorithm at each data point arrival taking advantage of techniques such as incremental principal component analysis (IPCA) and density estimation over data streams.

The proposed algorithms require minimal user-defined parameters and have the desirable feature of being able to provide approximations for the number of clusters present in the data. The experimental results indicate that the proposed techniques are effective in simulated data scenarios and as well in a variety of real world problems ranging from text mining to microarray data analysis that are affected by high dimensionality.

Key words: Data Mining, Clustering, Hierarchical Algorithms, Principal Component Analysis, Random Projection, Kernel Density Estimation

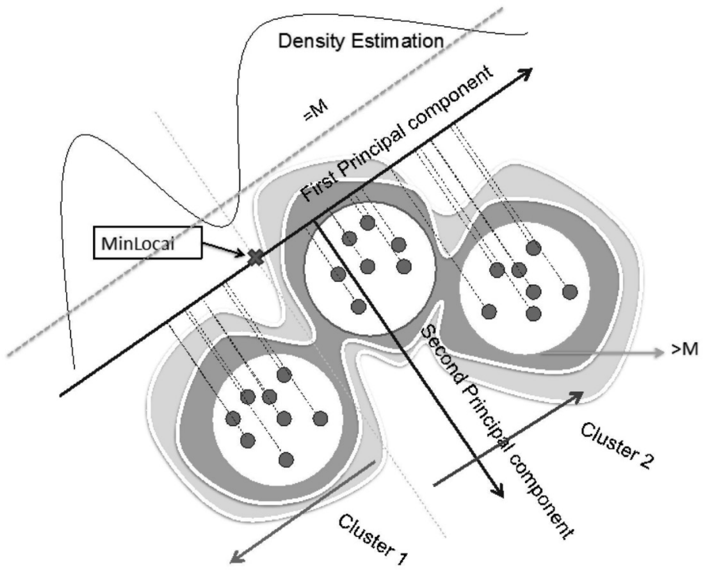


Figure 1: *The dePDDP splitting criterion. The split is done based on the minimum of all local minima of the density estimation of the projected data. As long the density value of the splitpoint is low enough, we can guarantee that we do not split any of the actual clusters*

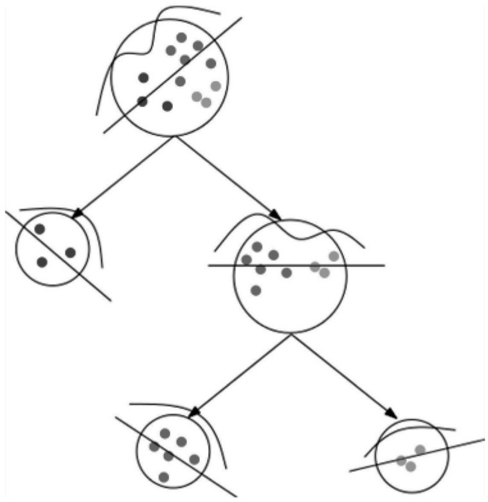


Figure 2: The hierarchical structure of the dePDDP algorithm. The first principal component and the density estimation of the projections computed at each step. As shown the procedure stops as long as there are not any minimums.

Three - Member Supervisory Committee

Vassilis P. Plagianakos, Associate Professor, Department of Computer Science and Biomedical Informatics, University of Thessaly, Greece *(supervisor)*

Ilias Maglogiannis, Assistant Professor, Department of Digital Systems, University of Piraeus, Greece

Nial Adams, Professor, Faculty of Natural Sciences, Department of Mathematics, Imperial College, London, UK.

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the programme "Heraclitus II"

Άρθρα σε περιοδικά/Articles in journals

1. **Tasoulis, S.**, Maglogiannis, I., & Plagianakos, V. (2014). Fractal analysis and fuzzy c-means clustering for quantification of fibrotic microscopy images.*Artificial Intelligence Review* (AIRE), *42*(3), pp. 313–329.
2. **Tasoulis, S**. Doukas, C., Plagianakos, V., &Maglogiannis,I. (2013). Statistical data mining of streaming motion data for activity and fall recognition in assistive environments. *Neurocomputing*,107, pp. 87–96.
3. **Tasoulis, S.** , Tasoulis, D., & Plagianakos,V. (2013).Random direction divisive clustering. *Pattern Recognition Letters 34* (2), pp. 131 – 139.
4. **Tasoulis,S.**, Tasoulis, D., & Plagianakos, V. (2010). Enhancing principal direction divisive clustering. *Pattern Recognition*, *43*(10), pp. 3391– 3411.

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων – βιβλίαπεριλήψεων Publications in conference proceedings – books of abstracts

1. **Tasoulis, S.**, Maglogiannis, I., &Plagianakos, V. (2012) Unsupervised detection of fibrosis in microscopy images using fractals and fuzzy c-means clustering. In Iliadis, S. Lazaros, I. Maglogiannis, H. Papadopoulos (Eds.), *Artificial Intelligence Applications and Innovations,8th IFIP WG 12.5 International Conference, AIAI 2012, Proceedings, Part I* (pp. 385–394). Halkidiki, Greece.
2. **Tasoulis, S.**, Epitropakis, M., Plagianakos, V., & Tasoulis,D. (2012). Density based projection pursuit clustering. IEEE *Congress on Evolutionary Computation (CEC)*. (pp. 1–8). Brisbane, QLD.
3. **Tasoulis, S.**, Tasoulis, D., & Plagianakos, V. (2012). Clustering of high dimensional data streams. In I.Maglogiannis, V. Plagianakos, I.Vlahavas (Eds.), Artificial Intelligence: Theories and Applications. *7th Hellenic Conference on AI, SETN 2012, Proceedings* (pp. 223–230). Lamia, Greece: Hellenic Artificial Intelligence Society (EETN).
4. **Tasoulis, S.**, Doukas, C. Maglogiannis, I. & Plagianakos, V. (2011) Independent component clustering for skin lesions characterization. In Iliadis, S. Lazaros, I. Maglogiannis, H.Papadopoulos (Eds.), *Artificial Intelligence Applications and Innovations,12th International Conference, EANN 2011 and 7th IFIP WG 12.5 International Conference, AIAI 2011Proceedings, Part II* (pp. 472–482).Corfu, Greece.
5. **Tasoulis, S.**, Doukas, C., Maglogiannis, I. & Plagianakos, V. (2011).Statistical data mining of streaming motion data for fall detection in assistive environments. *Engineering in Medicine and Biology Society, EMBC, 2011 Annual International Conference of the IEEE* (pp. 3720–3723).Boston, MA.
6. **Tasoulis, S.**, Tasoulis, D., & Plagianakos, V. (2010). *Evolutionary principal direction divisive partitioning.* IEEE Congress on Evolutionary Computation (CEC) (pp. 1–7). Barcelona.
7. **Tasoulis, S.**, Doukas, C., Maglogiannis, I., & Plagianakos, V. (2010). Skin lesions characterisation utilising clustering algorithms. In S., Konstantopoulos, S., Perantonis, V., Karkaletsis, C.D., Spyropoulos, G., Vouros (Eds.) *Artificial Intelligence: Theories, Models and Applications. 6th Hellenic Conference on AI, SETN 2010, Proceedings* (pp. 243–253). Athens, Greece: Hellenic Artificial Intelligence Society (EETN).
8. **Tasoulis, S.**, Doukas,C., Maglogiannis, I., & Plagianakos,V. (2010). Classification of apoptosis using advanced clustering techniques on digital microscopic images. *Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), 2010 Annual International Conference of the IEEE* (pp. 5565–5568). Buenos Aires: IEEE.

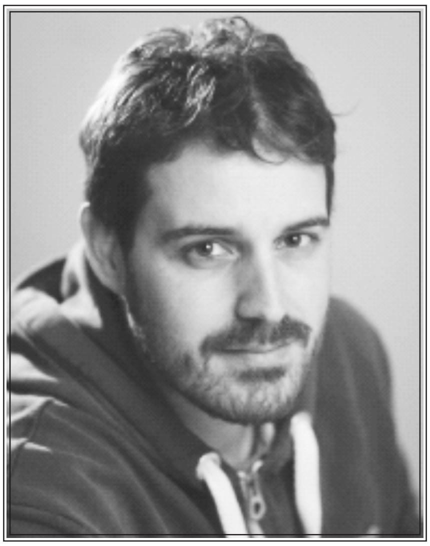
9. **Tasoulis, S.**, Doukas, C., Maglogiannis, I. &Plagianakos, V. (2010). Classification of dermatological images using advanced clustering techniques. *Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), 2010 Annual International Conference of the IEEE* (pp. 6721–6724).Buenos Aires.

10. **Tasoulis, S.**, Plagianakos, V., &Tasoulis, D. (2009). Projection based clustering of gene expression data. In F. Masulli, L. E. Peterson, R. Tagliaferri. *Computational Intelligence Methods for Bioinformatics and Biostatistics.6th International Meeting, CIBB 2009*, Revised Selected Papers (pp. 228–239). Genoa, Italy: CIBB.

11. **Tasoulis, S.**, & Tasoulis, D. (2008). Improving principal direction divisive clustering.*14th ACM SIGKDD International Conference on Knowledge Discovery and Data Mining (KDD 2008), Workshop on Data Mining using Matrices and Tensors* (Workshop's Proceedings on-line: http://users.cis.fiu.edu/~taoli/kdd08-workshop/DMMT08-Proceedings.pdf). Las Vegas, USA:.

Ανακοινώσεις σε επιστημονικά συνέδρια και σε ημερίδες
Presentations in scientific conferences and meetings - workshops

1. **Tasoulis, S.**, Plagianakos, V., &Tasoulis, D. (2011). *Independent component divisive clustering of gene expression data*. Presentation at Eighth International Meeting on Computational Intelligence Methods for Bioinformatics and Biostatistics (CIBB 2011),Gargnano-Lago di Garda, Italy.



Σύντομο Βιογραφικό

Ο **ΣωτήριοςΤασουλής** είναι πτυχιούχος Μαθηματικός του Πανεπιστημίου Πατρών, απότο 2006. Επίσης, από το 2009, είναι κάτοχος του Μεταπτυχιακού Διπλώματος "Μαθηματικά των Υπολογιστών και των αποφάσεων'' από το Διατμηματικό Πρόγραμμα των Τμημάτων Μαθηματικών και Μηχανικών Ηλεκτρονικών Υπολογιστών του Πανεπιστημίου Πατρών. Το 2013, ορίσθηκε Διδάκτορας του Τμήματος Πληροφορικής με Εφαρμογές στη Βιοϊατρική του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Το ίδιο έτος συνέχισε το ερευνητικό του έργο στο Ινστιτούτο Πληροφορικής και Τεχνολογίας του Ελσίνκι και στο Τμήμα Πληροφορικής του Πανεπιστημίου του Ελσίνκι, ως μεταδιδακτορικός ερευνητής στον τομέα Ανάλυσης Μεγάλων Δεδομένων. Το Σεπτέμβριο του 2015, ο Σωτήριος Τασουλής προσχώρησε στο προσωπικό της Σχολής Υπολογιστικών και Μαθηματικών Επιστημών του Πανεπιστημίου John Moores του Λίβερπουλ, στη βαθμίδα του Λέκτορα. Τα ερευνητικά του ενδιαφέροντα είναι η εκμάθηση μηχανών σε εφαρμογές μεγάλων δεδομένων, μεγάλης κλίμακας εξόρυξη δεδομένων, μείωση διάστασης και μάθηση χωρίς επίβλεψη.

Short CV

Sotiris Tasoulis received his Diploma in Mathematics from University of Patras, Greece, in 2006 and his MSc in Mathematics of Computers and Decision Making from the Interdepartmental Postgraduate Program of the Department of Mathematics in collaboration with the Department of Computer Science and Computer Engineering of the University of Patras, Greece, in 2009. In 2013, he received his PhD from the Department of Computer Science and Biomedical Informatics, University of Thessaly, Greece entitled "Knowledge Discovery in High Dimensional Data". The same year he joined Helsinki Institute for Information Technology HIIT and Department of Computer Science of the University of Helsinki as a post doctoral researcher in "Knowledge discovery in Big Data" until September 2015. Directly after that, Sotiris Tasoulis joined the school of Computing and Mathematical Sciences at Liverpool John Moores University as a Lecturer in Mathematics. His research interests are Machine Learning in Big Data Applications, Large Scale Data Mining,

Dimensionality Reduction and Unsupervised Learning.

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
SCHOOL OF PHYSICAL EDUCATION AND SPORTS SCIENCE

Τμήμα Φυσικής Αγωγής & Αθλητισμού
Department of Physical Education and Sports Science

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
SCHOOL OF PHYSICAL EDUCATION AND SPORTS SCIENCE

Τμήμα Φυσικής Αγωγής & Αθλητισμού
Department of Physical Education and Sports Science

Angelica Valente

Εξέταση της λειτουργικής αρχιτεκτονικής του θερμορυθμιστικού συστήματος του ανθρώπου διαμέσου βιοχημικών μετρήσεων

Περίληψη

Η λειτουργία του φαιού Λιπώδους Ιστού (BAT) σχετίζεται με τη διατήρηση της θερμοκρασίας του σώματος. Αυτό επιτυγχάνεται διαμέσου μιας διαδικασίας που ονομάζεται θερμογένεση μη-σχετιζόμενη με το ρίγος (Non-Shivering Thermogenesis, NST). Η αποσυζευκτική πρωτεΐνη 1 (UCP-1) είναι μια μιτοχονδριακή πρωτεΐνη, που εντοπίζεται στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη, παίζει σημαντικό ρόλο στην NST και εκφράζεται κυρίως στο φαιό λιπώδη ιστό και σε ιστούς με ομοιότητες με τον φαιό λιπώδη ιστό (Britecells). Η θερμογένεση διαμέσου της δράσης της UCP-1 επιφέρει μεγάλη αύξηση στην ενεργειακή δαπάνη ηρεμίας και αποτελεί μια σημαντική, με ολοένα αυξανόμενο ενδιαφέρον ερευνητική περιοχή στο χώρο της παχυσαρκίας.

Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, η συγκεκριμένη διδακτορική διατριβή σχεδιάστηκε έτσι ώστε να απαντηθούν ερωτήματα και να αναδειχθούν παράγοντες που θα μπορούσαν να μειώσουν το φαινόμενο της παχυσαρκίας. Η διατριβή χωρίστηκε σε τρεις φάσεις. Στην πρώτη πραγματοποιήθηκε μια ανασκόπηση βιβλιογραφίας για τα έτη 2006 έως 2013 σχετικά με τους μοριακούς μηχανισμούς που συνδέουν την NST με την παχυσαρκία στους ανθρώπους και δόθηκε ιδιαίτερη έμφαση στους μηχανισμούς με τους οποίους αναπτύσσεται ο φαιός λιπώδης ιστός. Στη δεύτερη φάση αξιολογήθηκαν οι επιδράσεις της οξείας χορήγησης μέντας (L-menthol) στην ενεργειακή δαπάνη ηρεμίας και στο μεταβολικό ρυθμό. Η μέντα χορηγήθηκε με δύο τρόπους: διαμέσου του στόματος με τη μορφή χαπιού και με την επάλειψη του δέρματος. Στην τρίτη φάση αξιολογήθηκαν οι επιδράσεις της χρόνιας χορήγησης μέντας στη σωματοδομή, στο μεταβολισμό και στο φαινότυπο του λευκού λιπώδους ιστού.

Η ανασκόπηση της βιβλιογραφίας ανέδειξε μόρια τα οποία αυξάνουν την NST και τη δράση του μεταβολισμού διαμέσου: 1) της αύξησης της δημιουργίας Brite κυττάρων στο λευκό λιπώδη ιστό 2) της αύξησης της έκφρασης της UCP-1 στα Brite λιποκύτταρα και 3) της αύξησης της μάζας του φαιού λιπώδους ιστού και των Brite κυττάρων.

Τα πειραματικά δεδομένα έδειξαν ότι η χορήγηση μέντας σε οξεία μορφή (είτε διαμέσου του στόματος ή της επάλειψης) αύξησε τη θερμογένεση και το μεταβολικό ρυθμό στους ανθρώπους. Η επάλειψη είχε καλύτερα αποτελέσματα, πιθανόν εξαιτίας της μειωμένης διάσπασής της. Ωστόσο, η καθημερινή χρήση της μέντας δεν επηρέασε σημαντικά τη σωματοδομή, το μεταβολισμό και το φαινότυπο του λευκού λιπώδους ιστού, πιθανόν εξαιτίας προσαρμογών που επέρχονται με την καθημερινή χρήση αυτής. Μελλοντικές έρευνες θα πρέπει να εξετάσουν πιθανούς υποδοχείς που επηρεάζονται από τη μέντα και βρίσκονται στο δέρμα, καθώς επίσης και το ρυθμό διάσπασης της μέντας, αφού αυτή έχει επαλειφθεί στο δέρμα, έτσι ώστε να αποκαλυφθούν οι παράγοντες που δεν επηρέασαν το μεταβολισμό και το φαινότυπο του λευκού λιπώδους ιστού με τη συστηματική επάλειψη της μέντας.

Λέξεις κλειδιά: Φαιός Λιπώδης Ιστός, Θερμογένεση, Αποσυζευκτική πρωτεΐνη, μέντα

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Αθανάσιος Τζιαμούρτας, Αναπληρωτής Καθηγητής ΤΕΦΑΑ, Βιοχημεία της Άσκησης, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τρίκαλα

Γιάννης Κουτεντάκης, Καθηγητής ΤΕΦΑΑ, Εργοφυσιολογία, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τρίκαλα

Χριστίνα Καρατζαφέρη, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΤΕΦΑΑ, Φυσιολογία της άσκησης, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τρίκαλα

Angelica Valente

Investigation of the functional architecture of the human thermoregulatory system through biochemical indices

Summary

Since 1980, worldwide mean body mass index has been increasing by 0.45 kg/m² per decade, while rates of overweightness and obesity are projected to increase in almost all countries, leading to 1.5 billion overweight individuals by 2015. The countermeasure often proposed against overweightness and obesity is a reduction of energy intake and/or an increase in physical activity. However, increasing basal metabolic rate (BMR) through frequent stimulation of non-shivering thermogenesis (NST) is also a viable alternative that can be beneficial. This is because up to 20% of average daily metabolic rate (M) may consist of cold-induced NST. In rodents, NST takes place exclusively in brown adipose tissue (BAT) by uncoupling protein-1 (UCP1), a mitochondrial inner membrane protein, while in humans NST can also occur in skeletal muscle. BAT in mammals maintains body temperature during cold exposure which, as a consequence, leads to excess energy expenditure (EE). Indeed, frequent stimulation of NST irrevocably increases BMR, resulting in decreased body mass and stored fat.

Adipose tissue biology pertaining to UCP1-mediated thermogenesis is one of the most rapidly advancing areas in obesity research, with an ever-increasing number of molecular, physiological, pharmacological and dietary factors being implicated in the transdifferentiation of white adipocytes to “brite” (i.e. brown-like) adipocytes and potential targets for obesity management. In rodents, brite cells in white adipose tissue (WAT) express UCP1 and may play an important role in NST and metabolism when UCP1 is activated through pathways similar to those of brown adipocytes.

NST is reduced with ageing in mammals, leading to overweightness or obesity. Therefore, it is crucial to intensify research efforts aimed at the prevention of BAT loss and/or BAT regeneration to treat human adipose excess. Given the above, the present PhD project included three studies: a systematic review and two human research investigations.

Molecular pathways linking non-shivering thermogenesis and obesity: focusing on brown adipose tissue development

An increase in energy intake and/or a decrease in EE lead to fat storage, causing overweight and obesity phenotypes. The objective of this review was to analyse, for the first time using a systematic approach, all published evidence from 2006 to 2013 regarding the molecular pathways linking NST and obesity in mammals, focusing on mechanisms involved in BAT development. By integrating the results of the evaluated animal and human studies, our analysis identified specific molecules (Fig.1) that enhance NST and metabolism by: (i) stimulating “brite” (brown-like) cell development in WAT; (ii) increasing UCP1 expression in brite adipocytes; and (iii) augmenting brown and/or brite adipose tissue mass. The latter can be also increased through low temperature, hibernation and/or molecules involved in brown adipocyte differentiation. Cold stimuli and/or certain molecules (i.e. L-menthol) activate UCP1 in the existing brown adipocytes, thus increasing total EE by a magnitude proportional to the number of available brown adipocytes.

<u>Pharmacokinetics of a single L-menthol oral versus skin administration: effects on thermogenesis and metabolic rate</u>

We investigated the absorption and metabolism pharmacokinetics of a single L-menthol oral versus skin administration and the effects on human thermogenesis and M. Twenty healthy adults were randomly distributed into oral (capsule) and skin (gel) groups and treated with 10 mg•kg-1 L-menthol ($ORAL_{MENT}$; $SKINM_{ENT}$) or control (lactose capsule: $ORAL_{CON}$; water application: $SKIN_{CON}$) in a random order on two different days. L-menthol, menthol glucudonide, adiponectin and leptin were measured in the blood at baseline and 1, 2 and 6 hours following treatments. Skin blood flow, skin temperature, rectal temperature (T_{re}), body heat storage (S), M, respiratory quotient (RQ), heart rate variability (HRV), thermal comfort and sensation were measured at baseline and every hour thereafter for 7 hours. L-menthol glucuronidation was greater in $ORAL_{MENT}$ (97%) than $SKIN_{MENT}$ (44%, Fig.2a). L-menthol, cutaneous vasoconstriction, T_{re} and S showed greater increase following $SKIN_{MENT}$ compared to $ORAL_{MENT}$ and control conditions (Fig.2b). The M increased from baseline by 19% in $SKIN_{MENT}$ and 11.5% in $ORAL_{MENT}$

and RQ decreased more in $ORAL_{MENT}$ (5.4%) than $SKIN_{MENT}$ (4.8%) compared to control conditions (Fig. 2c). The assessed blood hormones and HRV were similar to control following either treatment. Participants reported no cold, shivering, discomfort, stress or skin irritation. A single L-menthol skin or oral administration increased thermogenesis and M in humans. Skin L-menthol gel application was more potent at eliciting these effects maybe due to the attenuated and delayed L-menthol glucuronidation.

Effect of daily L-menthol skin administration on body composition, metabolism and white adipose tissue phenotype

We investigated effect of daily L-menthol skin administration as well as a dose-effect using two different L-menthol concentrations on body composition, metabolism and WAT phenotype. Twenty-one healthy adults were randomly distributed into 10 mg•kg-1 L-menthol (M10), 20 mg•kg-1 L-menthol (M20) or control (CON) group. All participants applied on their arms, legs, chest, abdomen and neck L-menthol or control cream once per day for 30 days. All measurements (heart rate variability, resting EE, body composition, blood sampling and subcutaneous abdominal fat biopsy) were conducted three days prior the first application and one day after the last application. Preliminary results indicated that after 30 days of L-menthol cream administration resting EE, body weight, fat percentage, body mass index, as well as WAT gene expression of UCP1, leptin, glut4, PPARα and γ, PGC1-α did not change in both M10 and M20 groups. However, adiponectin gene expression in WAT significantly increased after 30 days of L-menthol administration only in M10. Adiponectin is involved in regulating glucose levels as well as fatty acid breakdown, however, further analysis of blood indices (i.e. insulin, adiponectin, leptin, ghrelin, T3, T4, TSH) and WAT protein expression of molecules involved in browning process and metabolism are needed to confirm the beneficial effect of daily L-menthol cream administration on human metabolism and adiposity.

***Figure 1 -** Schematic representation of the effect of specific molecules, hibernation and cold on BAT/brite development, NST stimulation and adiposity based on the results of the present systematic analysis.*

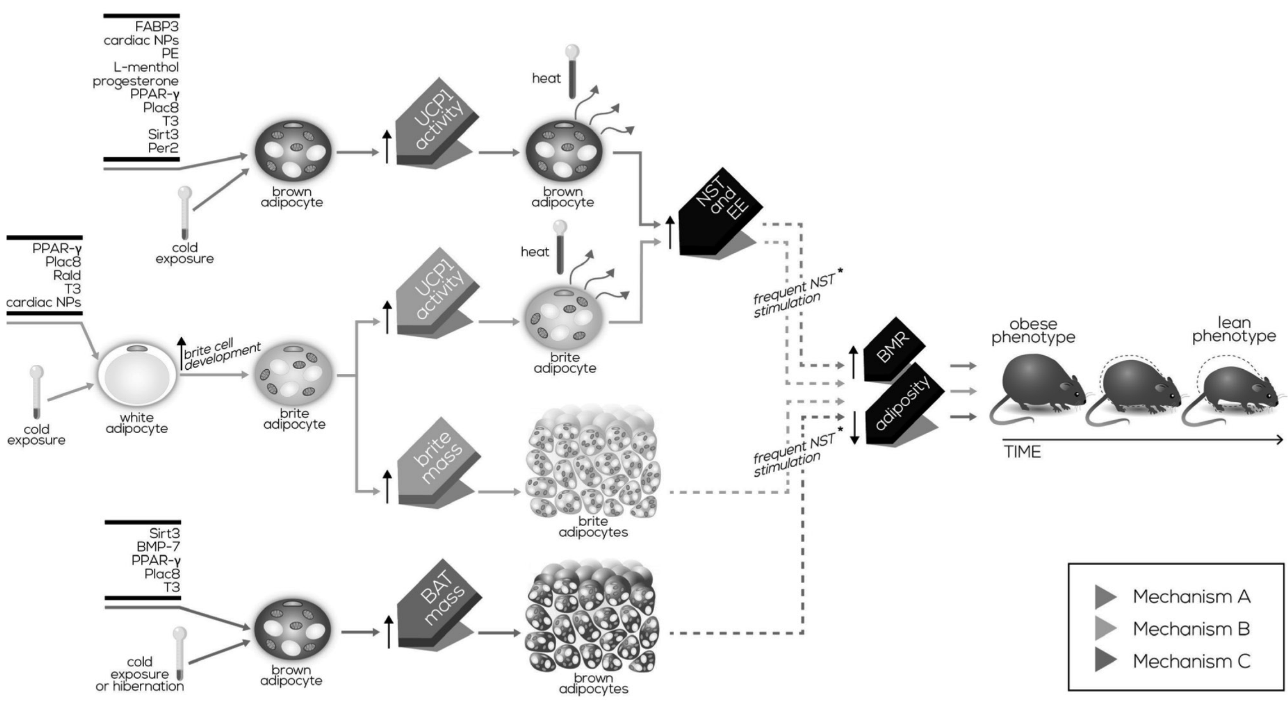
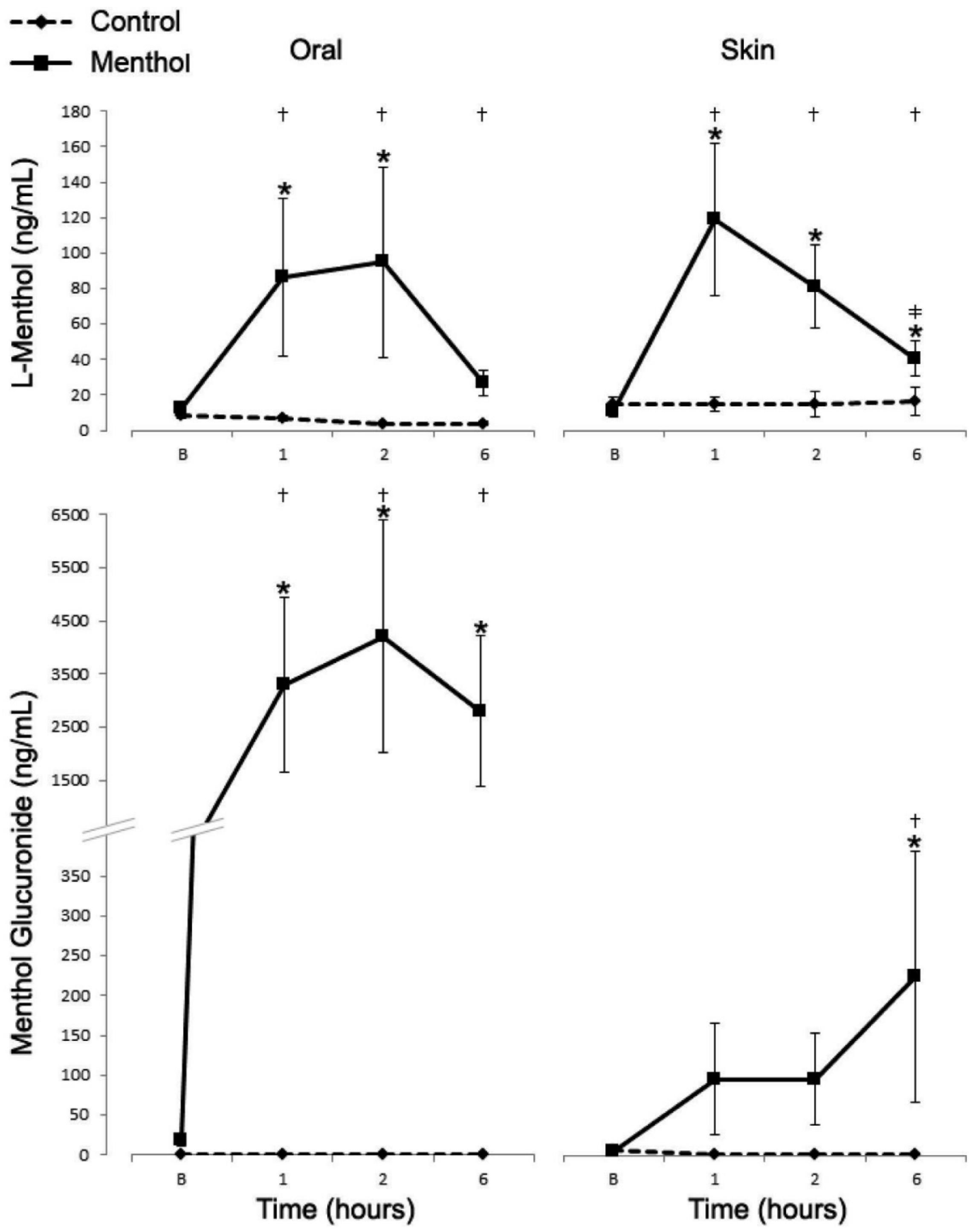
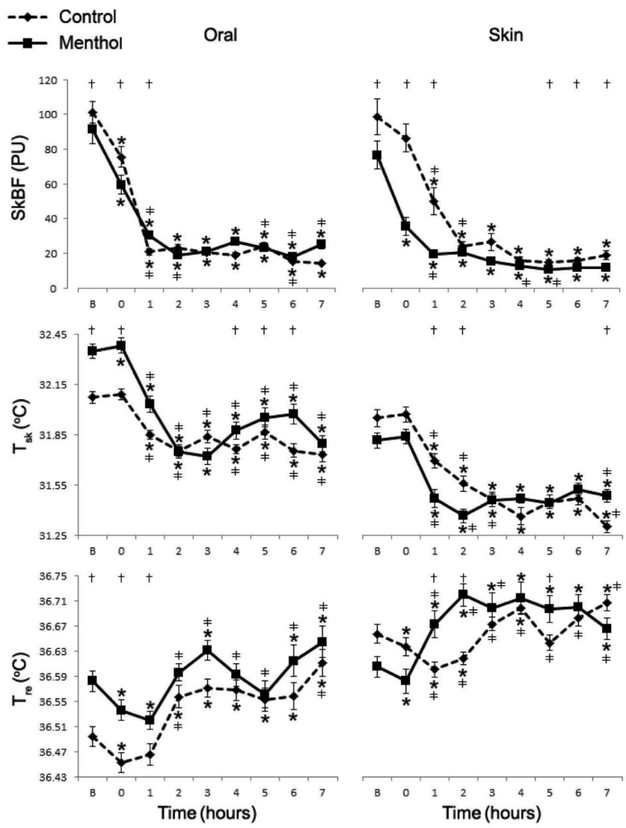
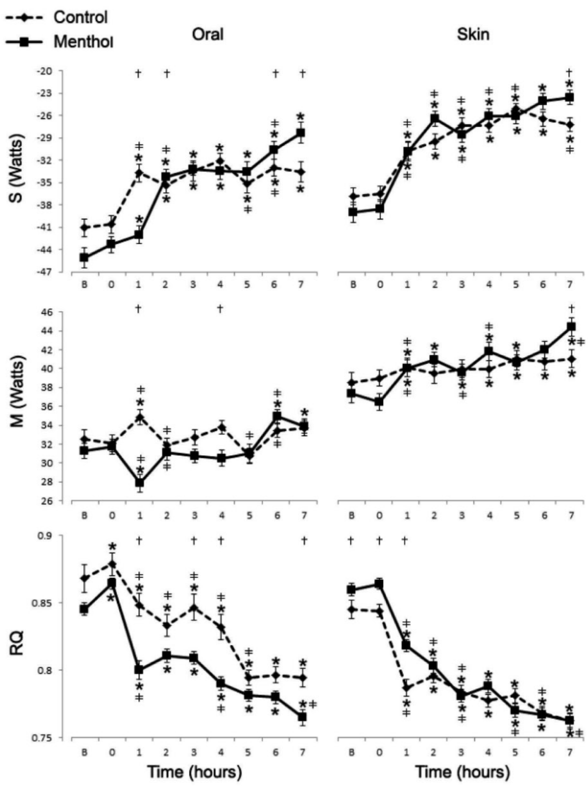


***Figure 2** - Results (mean ± SEM) and comparisons for: (a) serum L-menthol and menthol glucuronide levels at baseline (B) and 1, 2 and 6 hours after oral and skin treatments (b) skin blood flow (SkBF), mean skin temperature (T_{sk}) and rectal temperature (T_{re}) and (c) heat storage (S), metabolic rate (M) and respiratory quotient (RQ) at baseline and for 7 hours after oral and skin treatments. Note: * = significant differences from baseline within the same treatment; ‡ = significant differences from the previous time-point within the same treatment; † = significant differences between control and L-menthol treatments for the same time-point.*




Control
Menthol
Oral
Skin
SkBF (PU)
T_{sk} (°C)
T_{re} (°C)
Time (hours)
Time (hours)

c)


Control
Menthol
Oral
Skin
S (Watts)
M (Watts)
RQ
Time (hours)
Time (hours)

Key words: Brown adipose tissue, thermogenesis, Uncoupling protein, menthol

Three - Member Supervisory Committee

Thanasis Jamurtas, Associate Professor in Exercise Biochemistry, Department of Physical Education & Sport Science, University of Thessaly, Greece

Yiannis Koutedakis, Professor in Exercise Physiology, Department of Physical Education & Sport Science, University of Thessaly, Greece

Christina Karatzaferi, Associate Professor in Physiology of Sports, Department of Physical Education & Sport Science, University of Thessaly, Greece

Εργογραφία στο πλαίσιο του προγράμματος «Ηράκλειτος ΙΙ» Scientific works within the program "Heraclitus II"

Άρθρα ανασκόπησης / Invited reviews

1. **Valente, A.**, Jamurtas, A.Z., Koutedakis, Y., & Flouris A.D. (2015). Molecular pathways linking non-shivering thermogenesis and obesity: focusing on brown adipose tissue development. *Biological Reviews*. *90*(1),77-88.

Δημοσιεύσεις περιλήψεων σε έγκριτα επιστημονικά περιοδικά

1. Davies N.A., Dinas P.C., **Valente, A.**, Koutedakis Y., Jamurtas A.Z., Flouris A.D., Ryan E.J., Carrillo A.E. (2015). Analysis of sugar intake and resting energy expenditure in adult males during a 5-week period. *Medicine and Science in Sports and Exercise*; *47*(5S): S642-S645.

Δημοσιεύσεις σε πρακτικά συνεδρίων-βιβλία περιλήψεων Publications in conference proceedings-books of abstracts

1. Davies, N.A., Dinas, P.C., **Valente, A.**, Koutedakis, Y., Jamurtas, A.Z., Flouris, A.D., Ryan, E.J., Carrillo, A.E. (2015). Analysis of sugar intake and resting energy expenditure in adult males during a 5-week period. *62nd Annual Meeting, 6th World Congress on Exercise is Medicine® and World Congress on the Basic Science of Exercise Fatigue*.(p. 644). San Diego, California, USA: American College of Sports Medicine.
2. **Valente, A.**, Jamurtas, A.Z., Koutedakis, Y., & Flouris, A.D. (2013). Administration of L-menthol causes increased metabolic heat production in humans.InBogdanis G. (Ed.), 3*rd Conference of the Hellenic Society of Biochemistry and Physiology of Exercise* (pp. 21-22).Athens, Greece: Hellenic Society of Biochemistry and Physiology of Exercise.
3. **Valente, A.**, Jamurtas, A.Z., Koutedakis, Y., & Flouris, A.D. (2013). Activation of TRPM8 by L-menthol skin and diet treatments: effect on human metabolism and thermoregulation.In Nadolnik L. (Ed.), *International Scientific Meeting "Metabolic syndrome: experiment, clinics and therapy* (pp. 108-110),Grodno, the Republic of Belarus:National Science & Technology.
4. **Valente, A.**, Jamurtas, A.Z., Theodoropoulou, E., Vakonaki, E., Christakis-Hampsas, M., Pantelakos, S., Tzatzarakis, M., Tsatsakis, A.,& Flouris, A.D. (2013). Metabolic and thermoregulatory effects of skin versus diet L-menthol treatment., *49th Congress of the European Societies of Toxicology* (pp. 416). Interlanken, Switzerland:European Societies of Toxicology.
5. **Valente, A.,** Jamurtas, A.Z., Koutedakis, Y., & Flouris, A.D. (2013). Acute effect of dietary and skin TRPM8 ion channel stimulation on human thermoregulation and metabolism. Annual *Conference of the International Union of Physiological Societies*, (pp. 617). Birmingham, UK:International Union of Physiological Societies.
6. **Valente, A.,** Jamurtas, A.Z., Theodoropoulou, E., Vakonaki E., Christakis-Hampsas, M., Pantelakos, S., Tzatzarakis, M., Tsatsakis, A., & Flouris, A.D. (2013). Metabolic and thermoregulatory effects of skin versus diet L-menthol treatment. *Toxicology Letters;* 221S: S179.
7. **Valente, A.**, Jamurtas, A.Z., Koutedakis Y., & Flouris, A.D. (2012). Molecular pathways linking non shivering thermogenesis and obesity.In Bogdanis G. (Ed.), *2nd Annual Conference of the Hellenic Society of Biochemistry and Physiology of Exercise* (pp. 29).Athens, Greece: Hellenic Society of Biochemistry and Physiology of Exercise

Short CV

Angelica Valente is a PhD student in the Department of Physical Education and Sport Science at University of Thessaly, working on brown adipose tissue, particularly the link between uncoupling protein 1 and metabolic diseases at both physiological and molecular level. Angelica received her Bachelor of Science in Biotechnology for Innovation of Processes and Products by University of Bari (Italy) in 2005 and her Master of Science in Industrial and Environmental Biotechnology by University of Bari (Italy) in 2008.

She works on European Grant Funding FP7 and Horizon 2020. Since January 2014, she has been a researcher in molecular physiology at the Department of Human Physiology and Sports Medicine and the Department of Pharmaceutical Chemistry, Drug Analysis and Drug Information, Vrije Universiteit Brussel (Belgium), conducting research on the connection between brown adipose tissue, muscle cells and the brain. Since2015, she is also a Project Coordinator of SCAFFY, a European H2020-MSCA-RISE-2014 (grant no. 645640), which aims to regenerate brown adipose tissue using nanotechnology approaches.

Since 2012, she has been teaching Molecular Biology courses at University of Thessaly (Greece) to students of all levels and since autumn 2014 she has been teaching Molecular Biology and Biochemistry at Chatham University (Pittsburgh, USA) to undergraduate students. From 2008 until 2010, she worked as researcher trainee in molecular biology projects applied to in vitro embryo production and epigenetics [at the Mississippi State University (USA)] and environmental monitoring [at European Commission (Ispra, Italy)].

Her doctoral studies are funded by the Ph.D Scholarship Programme “Heraclitus II”.

Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος ΙΙ . Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου.

This research has been co-financed by the European Union (European Social Fund – ESF) and Greek national funds through the Operational Program "Education and Lifelong Learning" of the National Strategic Reference Framework (NSRF) - Research Funding Program: Heracleitus II. Investing in knowledge society through the European Social Fund.

Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο
ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
επένδυση στην κοινωνία της γνώσης
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ
ΕΣΠΑ 2007-2013
πρόγραμμα για την ανάπτυξη
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ
Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

European Union
European Social Fund
OPERATIONAL PROGRAMME
EDUCATION AND LIFELONG LEARNING
investing in knowledge society
MINISTRY OF EDUCATION & RELIGIOUS AFFAIRS
MANAGING AUTHORITY
NSRF 2007-2013
programme for development
EUROPEAN SOCIAL FUND
Co-financed by Greece and the European Union