

Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 54, No 1 (2003)



Non-thermal microwave effects on chicken foetuses during organogenesis

Th. D. XENOS (Θ.Δ. ΞΕΝΟΣ), I. N. MAGRAS (Ι.Ν. ΜΑΓΡΑΣ)

doi: [10.12681/jhvms.15215](https://doi.org/10.12681/jhvms.15215)

To cite this article:

XENOS (Θ.Δ. ΞΕΝΟΣ) T. D., & MAGRAS (Ι.Ν. ΜΑΓΡΑΣ) I. N. (2017). Non-thermal microwave effects on chicken foetuses during organogenesis. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 54(1), 28–33. <https://doi.org/10.12681/jhvms.15215>

Αποτελέσματα μικροκυματικής μη θερμικής έκθεσης εμβρύων όρνιθας κατά τη διάρκεια της οργανογένεσης

Θ. Δ. Ξένος¹, Ι. Ν. Μάγρας²

ΠΕΡΙΛΗΨΗ. Σκοπός της πειραματικής αυτής εργασίας είναι η διερεύνηση των αποτελεσμάτων έκθεσης παλμικά διαμορφωμένης (Pulse Modulated, PW) και αδιαμόρφωτης (Continuous Wave, CW) μικροκυματικής ακτινοβολίας, πολύ χαμηλής ισχύος, σε έμβρυα όρνιθας στην οργανογένεση. Χρησιμοποιήθηκαν 496 γονιμοποιημένα αυγά όρνιθας από τα οποία τα 380 εκτέθηκαν σε ακτινοβολία, ενώ τα 116 χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Τα πρώτα εκτέθηκαν σε "μη θερμική" πυκνότητα μικροκυματικής ισχύος στάθμης 8,8 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ (SAR= 1,16 mW/Kg) στη συχνότητα 9,152 GHz, από την 3η ως τη 10η ημέρα της επώασης συνεχώς. Από τα αυγά αυτά 172 εκτέθηκαν σε CW, ενώ 208 σε PW. Στα αυγά-μάρτυρες έγιναν όλες οι κινήσεις της έκθεσης χωρίς όμως να εκτεθούν σε ακτινοβολία. Στο τέλος της επώασης τόσο τα έμβρυα των πειραματικών αυγών όσο και των αυγών-μαρτύρων εξετάστηκαν μακροσκοπικά και μικροσκοπικά. Τα έμβρυα που προέκυψαν από τα αυγά τα οποία εκτέθηκαν σε μικροκύματα, παρουσίασαν συγγενείς ανωμαλίες (καθυστερήσιμη ανάπτυξη και σοβαρές διαμαρτίες) καθώς και πρώιμους και όψιμους εμβρυϊκούς θανάτους. Το ποσοστό των προσβεβλημένων εμβρύων έφτασε στο 62,78% στα εκτεθέντα σε αδιαμόρφωτα και στο 47,12% στα εκτεθέντα σε παλμικά διαμορφωμένα κύματα. Το αντίστοιχο ποσοστό στους μάρτυρες ήταν ιδιαίτερα μικρό και έφτασε μόλις το 3,44%. Τα αποτελέσματα αυτά, τα οποία αξιολογήθηκαν στατιστικά, στηρίζουν την άποψη, ότι *in ovo* έκθεση εμβρύων όρνιθας σε μικροκυματική ακτινοβολία πολύ χαμηλής -μη θερμικής- πυκνότητας ισχύος, κατά την οργανογένεση, προκαλεί δυσμενείς επιδράσεις στην ανάπτυξή τους.

Λέξεις ευρετηρίασης: Αποτελέσματα έκθεσης σε RF, οργανογένεση, μικροκύματα, έμβρυο όρνιθας.

Non-thermal microwave effects on chicken foetuses during organogenesis

Xenos Th. D.¹, Magras I. N.²

ABSTRACT. The purpose of this work is to investigate possible effects of pulse-modulated (PW) and non-modulated (CW) low power density microwave radiation on chicken foetuses during organogenesis. A total of 496 fertilised chicken eggs were used in this study; 380 of them as experimental material and 116 as controls. The experimental eggs were exposed to a non-thermal power density of 8.8 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ (SAR= 1.16 mW/Kg) radiation at 9.152 GHz, from the 3rd to the 10th day of incubation, continuously. 172 eggs were irradiated by CW whereas 208 eggs by PW. The controls were sham-exposed. The foetuses of the experimental eggs and of the controls were macro- and microscopically examined at the end of their incubation. In 62.78% of CW-irradiated, 47.12% of PW-irradiated and only in 3.44% of the sham-exposed foetuses abnormalities (development retardation and severe malformations) and embryonic and foetal deaths (embryonic and foetal) were observed. The differences in the effects caused by CW and PW irradiation were statistically evaluated. These results support the aspect that very low power density microwaves applied to the chicken foetuses, *in ovo* during organogenesis, may cause abnormal development.

Key words: RF radiation effects, organogenesis, microwaves, chicken foetuses.

¹Τομέας Τηλεπικοινωνιών, Τμήμα Ηλεκτρολόγων Μηχανικών και Μηχανικών Υπολογιστών, Α.Π.Θ., 540 06 Θεσσαλονίκη.

²Τομέας Δομής και Λειτουργίας Ζωικών Οργανισμών, Εργαστήριο Ανατομικής, Ιστολογίας και Εμβρυολογίας, Τμήμα Κτηνιατρικής, Α.Π.Θ., 540 06 Θεσσαλονίκη.

¹Telecommunications division, Department of Electrical Engineering & Computer Engineering, Aristotle University of Thessaloniki, 540 06 Thessaloniki, Greece

²Department of Anatomy, Histology & Embryology, School of Veterinary Medicine, Aristotle University of Thessaloniki, 540 06 Thessaloniki, Greece.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στην προοιτή σ' εμάς διεθνή βιβλιογραφία εντοπίστη-
κε μεγάλος αριθμός πειραματικών εργασιών, οι οποίες αναφέρονται σε δυσμενείς επιδράσεις των ακτινοβολιών ραδιοσυχνότητας στα έμβρυα πτηνών (π.χ. Sisken et al. 1986, Saito et al. 1991, McRee and Hamrick 1997) και θηλαστικών (π.χ. Jensh et al. 1977, 1978, Larry et al. 1983, Larry and Connover 1987). Οι πυκνότητες ισχύος, που χρησιμοποιήθηκαν κατά τις πειραματικές ακτινοβολήσεις στις μελέτες αυτές ήταν είτε υψηλές, της τάξης των mW/cm^2 ή ακόμη και δεκάδων mW/cm^2 για μικρά χρονικά διαστήματα (Clark and Justesen 1983), είτε χαμηλές για μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα (Magras et al. 1998). Η πρώτη κατηγορία των παραπάνω μελετών ασχολείται με «θερμικές επιδράσεις», οι οποίες επηρεάζουν δυσμενώς την ανάπτυξη των εμβρύων (Larry et al. 1983, Larry and Connover 1987). Η δεύτερη κατηγορία των μελετών αυτών αναφέρεται σε «μη θερμικές επιδράσεις» με άλλοτε έντονες και άλλοτε ήπιες δυσμενείς επιπτώσεις στα έμβρυα (Tanner and Rommero-Sierra 1982, McRee and Hamrick 1997). Οι επιπτώσεις των μη θερμικών ακτινοβολιών αμφισβητούνται από μερίδα ερευνητών (π.χ. Cernov), αφού κατά κανόνα δεν μπορούν να επαναληφθούν πειραματικά και δεν υπάρχουν αρκετά στοιχεία, ώστε να πιστοποιούνται στατιστικά. Ωστόσο, παρ' όλον ότι η ύπαρξη των «μη θερμικών επιδράσεων» στα έμβρυα δεν είναι ευρέως αποδεκτή, αποκτούν στις μέρες μας ολοένα και αυξανόμενο ενδιαφέρον. Η σημασία τους εστιάζεται περισσότερο σε εκείνες οι οποίες προκαλούνται από ακτινοβολίες που ανήκουν στις ανώτερες περιοχές του φάσματος των ραδιοκυμάτων, οι οποίες βρίσκουν και στο μέλλον θα βρίσκουν όλο και περισσότερες εφαρμογές και στις οποίες οι έμβιοι οργανισμοί δεν είναι φυσικά προσαρμοσμένοι (Pakhomov et al 1998). Η παρούσα πειραματική μελέτη εστιάστηκε στη διερεύνηση πιθανών δυσμενών επιπτώσεων, στα έμβρυα όρνιθας, κατά τη διάρκεια της οργανογένεσης, μεταξύ 3ης και 10ης ημέρας επώασης μετά από έκθεση σε παλμικά διαμορφωμένα (PW) και αδιαμόρφωτα (CW), μη θερμικά, μικροκύματα χαμηλής πυκνότητας ισχύος (9,152 GHz)

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Χρησιμοποιήθηκαν 496 συνολικά γονιμοποιημένα αυγά, από σμήνος ορνίθων, φυλής Kobb, ηλικίας 34 εβδομάδων¹. Από αυτά 380 εκτέθηκαν σε μικροκύματα, ενώ τα υπόλοιπα 116 χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Δύο ώρες μετά τη γέννησή τους τα αυγά τοποθετούνταν σε επωαστικό κλίβανο και προθερμαίνονταν στους 30°C για 10 λεπτά της ώρας. Κατόπιν απολυμαίνονταν με υποκαπνισμό, ατμούς διαλύματος φορμαλδεΐδης (40%) και υπεραγγα-

INTRODUCTION

A large number of experimental studies was carried out, to assess the potential effects of the RF radiation on the prehatching development, using birds (e.g. Sisken et al. 1986, Saito et al. 1991, McRee and Hamrick 1997) and small mammals (e.g. Jensh et al. 1977, 1978, Larry et al. 1983, Larry and Connover 1987) as experimental material. The power densities used in these studies were either high, of the order of mW/cm^2 or even tens of mW/cm^2 for short periods of time (Clark and Justesen 1983) or low power densities for longer periods of time (Magras et al. 1998). The former deals with thermal effects, causing congenital malformations, embryonic deaths and foetal deaths (Larry et al. 1983, Larry and Connover 1987). The latter deals with non-thermal (or micro-thermal) grave or mild effects (Tanner and Rommero-Sierra 1982, McRee and Hamrick 1997), which are usually under dispute, since they cannot be replicated or statistically evaluated. These effects are today more important with respect to the higher bands of the RF spectrum, which are going to find a wide application in the future and in which living organisms are not naturally adapted (Pakhomov et al. 1998). The aim of this study was to investigate the possible effects of pulse-modulated (PW) and non-modulated (CW), non-thermal, low power density microwave radiation (9.152 GHz) on chicken fetuses, during organogenesis, from the 3rd to the 10th day of incubation.

MATERIAL AND METHODS

In the present work 496 fertilized eggs (380 microwave- and 116 sham-irradiated (controls) of the hybrid Kobb), originating from a 34-week old flock, were used¹. Two hours after being laid, the eggs were placed in an incubator and were pre-heated to 30°C for 10 minutes. Then, they were disinfected by fumigation with a solution of 2 parts of formaldehyde (40%) and 1 part of potassium permanganate for 30 minutes at 37°C and 90% relative humidity. The eggs were randomly allocated to experimental groups. The experimental eggs were divided into two groups; the eggs of the first group were irradiated by non-modulated microwaves (CW), whereas those of the second group to pulse-modulated (PW) microwaves of identical power levels. The eggs of a third group, used as controls, were sham-irradiated. Three automatic incubators, made of polyurethane (transparent to the radio-frequency applied), placed in different rooms, were used. These incubators were measured to have identical electrical, magnetic and thermal characteristics. The temperature in each incubator was electronically controlled to 37±0.5°C at 50-70% relative humidity. All eggs were placed in the incubators

¹ Η χρήση αυτού του πειραματικού υλικού εγκρίθηκε από την Κτηνιατρική υπηρεσία της Νομαρχίας Θεσσαλονίκης σύμφωνα με τις διατάξεις των νόμων 1197/81 και 2015/92 και της Προεδρικής απόφασης 160/91.

¹ The use of this experimental material was approved by the Veterinary service of the Municipality of Thessaloniki according to the provisions of the laws 1197/81 and 2015/92 and the Presidential Decree 160/91 of the Greek Democracy.

νικού καλίου σε αναλογία 2:1 για 30', σε θερμοκρασία 37°C και σχετική υγρασία 90%. Τα αυγά που εκθέτονταν σε ακτινοβολία χωρίζονταν σε δύο ομάδες. Τα αυγά της πρώτης εκθέτονταν σε αδιαμόρφωτα (continuous wave, CW) και της δεύτερης σε παλμικά διαμορφωμένα (pulsed modulated waves, PW) μικροκύματα ίσης πυκνότητας ισχύος. Τα αυγά της τρίτης ομάδας ακτινοβολήθηκαν εικονικά, δηλαδή έγιναν όλοι οι χειρισμοί σε παράπλευρο, ξεχωριστό κατά τα λοιπά όμως όμοιο χώρο, με όμοιο πειραματικό υλικό, ίδιους επωαστικούς κλιβάνους, όπως θα αναφερθεί και στα επόμενα, ταυτόχρονα με την κύρια έκθεση, με μόνη διαφορά ότι οι μάρτυρες δεν δέχτηκαν ακτινοβολία ραδιοκυμάτων. Για την επώαση χρησιμοποιήθηκαν τρεις λειτουργικά όμοιοι επωαστικοί κλιβάνοι. Η μοιότητα των κλιβάνων επιβεβαιώθηκε με μετρήσεις των ηλεκτρικών, μαγνητικών και θερμικών χαρακτηριστικών τους. Η θερμοκρασία σε κάθε επωαστικό κλιβάνο ρυθμιζόταν ηλεκτρονικά στους 37±0,5°C ενώ η σχετική υγρασία στο 50-70%. Όλα τα αυγά τοποθετούνταν στους επωαστικούς κλιβάνους με τους επιμήρεις άξονές τους κατακόρυφα και τους αεροθάλαμους στο άνω μέρος. Ακόμη, τα αυγά περιστρέφονταν εννέα φορές την ημέρα προς τα αριστερά ή προς τα δεξιά κατά 45° ως προς την κατακόρυφο.

Κάθε μικροκυματική διάταξη αποτελούνταν από (α) μια μικροκυματική γεννήτρια, της μικροκυματικής περιοχής X, μέγιστης ισχύος εξόδου +25 dBm, (β) μια μικροκυματική κεραία παραβολικού ανακλαστήρα κέρδους 26 dB στη συχνότητα 9,152 GHz και (γ) ένα δίκτυο κυματοδηγών για τη σύνδεση της γεννήτριας με την κεραία. Το παραπάνω δίκτυο περιλάμβανε ένα κατευθυντικό ζεύκτη -20 dB, για τη συνεχή παρακολούθηση του σήματος εκπομπής. Ο κάθε επωαστικός κλιβάνος τοποθετούνταν σε απόσταση 5 m από την κεραία εκπομπής και προς τη διεύθυνση μεγίστου του κύριου λοβού ακτινοβολίας αυτής, έτσι ώστε να εξασφαλίζεται έκθεση σε «πεδίο ακτινοβολίας». Ένας μικροκυματικός φασματικός αναλυτής, μέσω μιας κεραίας τύπου χοάνης, κέρδους 16 dB παρακολουθούσε τη μικροκυματική πυκνότητα ισχύος, η οποία εφαρμοζόταν στα πειραματικά αυγά. Τόσο η εφαρμοζόμενη όσο και η υφιστάμενη ηλεκτρομαγνητική πυκνότητα ισχύος ελεγχόταν με ένα μετρητή Narda 8100 και ένα πρόβολο. Οι μετρήσεις έγιναν κατά το σχετικό πρότυπο της IEEE (IEEE 1991).

Επειδή ο σκοπός της εργασίας αυτής ήταν η διερεύνηση πιθανών "μη θερμικών" επιδράσεων μικροκυματικής ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας σε έμβρυα όρνιθας, γι' αυτό εφαρμόστηκε πυκνότητα ισχύος 8,8 μW/cm². Η πυκνότητα αυτή αντιστοιχεί σε ένα μέσο «ρυθμό ειδικής απορρόφησης» (specific absorption rate, SAR) ίσο προς 1,16 mW/Kg μέσα στο αυγό (Xenos and Magras, 2000). Όλα τα αυγά ακτινοβολήθηκαν πραγματικά ή εικονικά μεταξύ της 3ης και της 10ης ημέρας της επώασης ταυτόχρονα. Αμέσως μετά την εκκόλαψη οι νεοσσοί θυσιάζονταν με τη χρήση διεθλαιθέρα για λόγους ευθανασίας και εξετάζονταν με προσοχή τόσο μακροσκοπικά όσο και μικροσκοπικά, για πιθανές διαμαρτίες διάπλασης.

with their longitudinal axes pointing vertically and their air chambers oriented upwards. Nine times a day the eggs were vertically rotated 45° to the left or to the right.

Each microwave setup consisted of an X-band microwave generator with a maximum power output of +25 dBm, a 27-cm horn-fed parabolic reflector antenna of a 26 dB gain at 9.152 GHz and an X-band waveguide network connecting the generator to the antenna. The network included a -20 dB directional coupler for continuously monitoring the microwave signal. Each incubator was placed 5 m away at the transmitting antenna maximum, in order to ensure a far field irradiation of the eggs. The microwave power density applied, was continuously monitored by a spectrum analyser via a standard gain (16 dB) horn antenna, whereas the connecting cable characteristics were measured by a network analyser. The electromagnetic power density, applied and background, was cross-checked by a Narda 8100 survey meter and probe respectively. All measurements were performed according to the relevant IEEE standard (IEEE 1991).

Given that the purpose of this study was to investigate possible non-thermal electromagnetic effects on chicken foetuses, a power density of 8.8 μW/cm² was applied. This would be equal to an average 1.16 mW/Kg SAR within the eggs placed at the incubator (Xenos and Magras 2000). The experimental eggs were irradiated or sham irradiated during organogenesis, from the 3rd to the 10th day of the incubation simultaneously. Immediately after hatching, the chicks were sacrificed by euthanasia using diethylether and they were examined macro- and microscopically for any possible malformations.

RESULTS

A 62.78% of the CW- and a 47.12% of the PW-irradiated, *in ovo*, foetuses presented various adverse effects; i.e. development retardation, post-hatching mortality, severe malformations, embryonic deaths and foetal deaths. Only 3.44% of the sham-irradiated foetuses presented adverse effects. The exact percentages for each category of these effects are presented in Table 1. Most of the malformations observed were extensive, fatal and non-identifiable from the teratological point of view. This was due to the fact that the embryos were in the stage of embryogenesis at the time of the RF exposure. Consequently, two weeks after the installation of the malformation, at the time that the time of hatching was ended when the assessment was performed, the nature of the malformation was not identifiable. Furthermore, a 48-hour decrease of the pre-hatching period has been observed in the PW- microwaves irradiated foetuses.

Statistical analysis of the above results, by means of the χ^2 -test, has led to the following remarks:

- The ratios in each column of the CW- and PW-microwave irradiated foetuses were found significant to a

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ποσοστό 62,78% των εμβρύων, που εκτέθηκαν *in ovo* σε αδιαμόρφωτα και 47,12% σε παλμικά διαμορφωμένα μικροκύματα παρουσίασαν, μεταξύ άλλων, επιβράδυνση ανάπτυξης, μετεκκολαπτική θνησιμότητα, βαρείες διαμαρτίες, αλλά και πρώιμους και όψιμους εμβρυϊκούς θάνατους. Ωστόσο, μόνο 3,44% των εικονικά εκτεθέντων εμβρύων παρουσίασαν τέτοιες βλάβες. Τα ακριβή ποσοστά για κάθε κατηγορία περιλαμβάνονται στον πίνακα 1. Οι περισσότερες από τις διαμαρτίες που παρατηρήθηκαν ήταν εκτεταμένες, θανατηφόρες και μη κατατάξιμες. Αυτό μπορεί να αποδοθεί στο ότι τα έμβρυα ακτινοβολήθηκαν πολύ νωρίς κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη, δηλαδή στο στάδιο της εμβρυογένεσης. Συνεπώς, δυο εβδομάδες μετά την εγκατάσταση της βλάβης κατά την εκκόλαψη και την εκτίμηση των αποτελεσμάτων, η συνολική διαμαρτία ήταν πλέον πολυσύνθετη. Στην περίπτωση των εμβρύων, που εκτέθηκαν σε παλμικά διαμορφωμένα (PW) μικροκύματα, παρατηρήθηκε 48ωρη ελάττωση του χρόνου ελώσεως.

Η στατιστική ανάλυση των παραπάνω αποτελεσμάτων, με τη βοήθεια του χ^2 test, οδήγησε στις ακόλουθες επισημάνσεις:

- Οι αναλογίες σε κάθε ομάδα εμβρύων που ακτινοβολήθηκαν με διαμορφωμένα (PW) ή μη (CW) μικροκύματα βρέθηκαν σημαντικές σε επίπεδο 5%.
- Οι αναλογίες στην ομάδα των μαρτύρων δεν μπόρεσαν να πιστοποιηθούν στατιστικά.
- Με το χ^2 test αποδείχθηκε η υπόθεση ότι τα αδιαμόρφωτα μικροκύματα πρέπει να προκαλούν περισσότερες δυσμενείς επιδράσεις από ό,τι τα παλμικά διαμορφωμένα σε επίπεδο σημαντικότητας 1%.

• Η διαφοροποίηση των αποτελεσμάτων μεταξύ μαρτύρων απ' ενός και εκτεθέντων σε μικροκύματα (παλμικά διαμορφωμένων ή αδιαμόρφωτων) πιστοποιήθηκε σε επίπεδο σημαντικότητας 1%.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Από τη μελέτη αυτή προέκυψε ότι μόνον 37,22% από τα εκτεθέντα σε αδιαμόρφωτα μικροκύματα και 52,88% από τα εκτεθέντα σε παλμικά διαμορφωμένα μικροκύματα προέκυψαν φυσιολογικά αναπτυγμένοι νεοσσοί. Αντίθετα, το αντίστοιχο ποσοστό στους μάρτυρες έφτασε το 96,56%. Το γεγονός αυτό μπορεί να αποτελέσει σημαντική ένδειξη, ότι τα μικροκύματα- ακόμα και σε χαμηλές πυκνότητες ισχύος και μακριά από τη συχνότητα συντονισμού -(εν προκειμένου περίπου 1,75 GHz) επιδρούν δυσμενώς στην ανάπτυξη του εμβρύου, όταν αυτά εκτίθενται κατά τη διάρκεια του σταδίου της οργανογένεσης. Το αποτέλεσμα αυτό συμφωνεί με την άποψη των Tanner και Rommero-Sierra (1982), Siskin et al (1986) και Saito και Suzuki (1991, 1995). Οι κύριες διαφορές μεταξύ αυτών των μελετών και της παρούσας εστιάζονται στην πυκνότητα ισχύος, στη συχνότητα και στη μορφή των μικροκυμάτων (διαμορφωμένα ή όχι), που εφαρμόστηκαν.

Πίνακας 1

Παρατηρηθέντα αποτελέσματα	Έκθεση σε CW		Έκθεση σε PW		Μάρτυρες	
	αυγά	%	αυγά	%	αυγά	%
Καθυστερήση ανάπτυξης	60	34,88	34	16,35	2	1,72
Μετεκκολαπτική θνησιμότητα	20	11,63	30	14,42	-	-
Σοβαρές διαμαρτίες	4	2,32	10	4,81	-	-
Πρώιμοι εμβρυϊκοί θάνατοι	10	5,81	14	6,73	1	0,86
Όψιμοι εμβρυϊκοί θάνατοι	14	8,14	10	4,81	1	0,86
Δυσμενή αποτελέσματα	108	62,78	98	47,12	4	3,44
Κανονική ανάπτυξη	64	37,22	110	52,88	112	96,56
Μη γονιμοποιημένα αυγά	172	100,00	208	100,00	116	100,00

Table 1

Observed results	CW exposure		PW exposure		Sham exposure	
	eggs	%	eggs	%	eggs	%
Development retardation	60	34.88	34	16.35	2	1.72
Post-hatching mortality	20	11.63	30	14.42	-	-
Severe malformations	4	2.32	10	4.81	-	-
Embryonic deaths	10	5.81	14	6.73	1	0.86
Foetal deaths	14	8.14	10	4.81	1	0.86
Adverse effects	108	62.78	98	47.12	4	3.44
Normal development	64	37.22	110	52.88	112	96.56
Non fertilised eggs	172	100.00	208	100.00	116	100.00

5% level.

• The ratios in the column of the sham-irradiated fetuses were not found significant at a 5% level and consequently the adverse effects could be considered random.

• The χ^2 -test proved the hypothesis that CW-microwaves cause more adverse effects than PW-microwaves to a 1% level.

• The differences in adverse effects between the sham-irradiated and the CW- or PW- microwave irradiated fetuses were statistically significant to a 1% level.

DISCUSSION

From the microwave-irradiated eggs, only 37.22% (CW) and 52.88% (PW) of chicks had developed normally, in contrast to a 96.56% of the sham-irradiated eggs. This fact could be a strong indication that microwaves, even at low power densities and far from the resonant frequency (~ 1.75 GHz), adversely affect the foetus during organogenesis. This is in accordance with the work of Tanner and Rommero-Sierra (1982), Siskin et al. (1986) and Saito and Suzuki (1991, 1995). The main differences between these studies and the present one are with respect to the applied power densities, the frequencies of irradiation and the type

Η πυκνότητα ισχύος ήταν $8,8 \mu\text{W}/\text{cm}^2$. Αυτή καταλήγει να είναι $6,3 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ στο έμβρυο (Xenos and Magras 1999), δηλαδή 500 φορές χαμηλότερη από την πυκνότητα ισχύος που κατά το ισχύον πρότυπο (CENELEC 1996) θα μπορούσε να προκαλέσει πιθανές τοπικές ή γενικές αυξήσεις θερμοκρασίας. Συνεπώς, ήταν εύλογο να αναμένονται μόνο «μη θερμικά αποτελέσματα».

Η συχνότητα ακτινοβολίας παίζει σημαντικό ρόλο στη χωροταξική κατανομή του ηλεκτρομαγνητικού πεδίου σε ανομοιογενές διηλεκτρικό υλικό, όπως μπορεί να θεωρηθεί το εμβρυοφόρο αυγό της όρνιθας. Η συχνότητα που χρησιμοποιήθηκε στον πειραματισμό της παρούσας μελέτης ήταν 9,152 GHz, ενώ οι Saito και Suzuki (1995) χρησιμοποίησαν τη συχνότητα των 428 MHz. Η εξασθένιση του ραδιοκύματος που διεισδύει σε αυγό της όρνιθας, κατά το μικρό του άξονα, για τη συχνότητα των 9,152 GHz είναι σημαντική (13 dB), ενώ είναι ασήμαντη για τη συχνότητα των 428 MHz. Τα πειραματικά αυγά, στη μελέτη αυτή, τοποθετήθηκαν στο πεδίο ακτινοβολίας της κεραίας εκπομπής. Στις παραπάνω αναφερθείσες μελέτες που προηγήθηκαν, δε διευκρινίζεται εάν τα αυγά τοποθετήθηκαν στο εγγύς πεδίο ή στο πεδίο ακτινοβολίας των κεραίων εκπομπής. Το γεγονός αυτό, όμως, παίζει σημαντικό ρόλο στην απορροφούμενη ισχύ (CENELEC 1996).

Στα έμβρυα που ακτινοβολήθηκαν *in ovo*, με αδιαμόρφωτα μικροκύματα παρατηρήθηκαν περισσότερα δυσμενή αποτελέσματα, σε ποσοστό 15,66%, σε σχέση με αυτά που ακτινοβολήθηκαν με παλμικά διαμορφωμένα μικροκύματα. Το γεγονός αυτό πιστοποιήθηκε σε επίπεδο σημαντικότητας 1%. Πέραν αυτού και η φύση των μορφολογικών αυτών ευρημάτων φαίνεται διαφορετική. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκαν 18,53% περισσότερες περιπτώσεις καθυστέρησης ανάπτυξης και 3,33% περισσότεροι όψιμοι εμβρυϊκοί θάνατοι στα ακτινοβοληθέντα με αδιαμόρφωτα μικροκύματα έμβρυα. Ακόμη, παρατηρήθηκε 2,78% περισσότερη μετεκκολαπτική θνησιμότητα, 2,49% περισσότερες σοβαρές διαμαρτίες και 0,92% περισσότεροι προγεννητικοί θάνατοι στα έμβρυα, που εκτέθηκαν σε παλμικά διαμορφωμένα μικροκύματα.

Η ελάττωση του χρόνου επώασης κατά 48 ώρες, που παρατηρήθηκε στην περίπτωση των εμβρύων που εκτέθηκαν σε διαμορφωμένα μικροκύματα, δεν παρατηρήθηκε στα έμβρυα, που εκτέθηκαν σε αδιαμόρφωτα μικροκύματα, ούτε και στα έμβρυα-μάρτυρες. Τα δυσμενή αποτελέσματα, που προέκυψαν μετά από έκθεση σε αδιαμόρφωτα μικροκύματα, φαίνεται ότι είναι πιο σοβαρά από ό,τι μετά από έκθεση σε παλμικά διαμορφωμένα μικροκύματα. Παρά τη 48-ωρη ελάττωση του χρόνου επώασης, που παρατηρήθηκε στην περίπτωση των εκτεθέντων σε παλμικά διαμορφωμένα μικροκύματα, προέκυψαν 52,88% φυσιολογικοί νεοσσοί σε σχέση με 37,22% που προέκυψαν μετά από επώαση σε αδιαμόρφωτα μικροκύματα. Συνεπώς η ελάττωση του χρόνου αυτού δεν φαίνεται να επηρεάζει τη φυσιολογική πρόοδο της προγεννητικής ανάπτυξης. Επιπλέον, μόνο 16,35% των εκτεθέντων εμβρύων σε παλμικά διαμορφωμένα μικροκύματα σε σχέση με 34,88% των ε-

of the microwave transmission (CW and PW).

The power density applied was $8.8 \mu\text{W}/\text{cm}^2$. This ends to a maximum power density of the order of $6.3 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ on the embryos (Xenos and Magras 1999), which is at least 500 times lower than the power density that could possibly cause local or even general temperature rises (CENELEC 1996). Therefore, only non-thermal microwave effects were expected. The frequency of irradiation plays an important role in the spatial distribution of the fields within a non-homogeneous dielectric material, as the fertilised chicken eggs could be considered. The frequency used was 9.152 GHz, whereas Saito and Suzuki (1995) used 428 MHz. The attenuation of the radiowave, penetrating towards the small axis of the fertilised chicken egg, is considerable (13 dB) at 9.152 GHz, whereas at 428 MHz is insignificant. The experimental eggs of this study were placed in the far field of the transmission antennas. The authors referred to above did not give information as to whether their experimental eggs were placed in the near or the far field. This fact plays an important role in the absorbed power (CENELEC 1996).

In the CW-irradiated fetuses 15.66% more adverse effects were observed than in the PW-irradiated fetuses; this was proved to a 1% significance level. The adverse effects of the irradiated fetuses, due to CW-, seem to be different than those due to PW-microwave irradiated fetuses; in the CW-irradiated fetuses 18.53% more developmental retardation and 3.33% more foetal deaths were observed. On the contrary, in the PW-irradiated fetuses 2.79% more post-hatching mortality, 2.49% more severe malformations and 0.92% more pre-hatching deaths were observed.

The decrease of the pre-hatching period, by 48 hours in the PW- microwave irradiated fetuses, was not observed in either the CW-irradiated eggs or in the controls. Furthermore, the adverse effects derived from the CW- seem to be quantitatively more severe than those derived from the PW-microwave exposure experiment. In spite of the 48-hour pre-hatching decrease, 52.88% of normal chicks compared to 37.22%, in the case of the CW-microwave exposure experiment, were found. Therefore, this decrease does not seem to affect the progress of the pre-hatching development. Besides, only 16.35% of the PW-irradiated fetuses in comparison to 34.88% of the CW-irradiated fetuses were hatched with development retardation. This leads to the aspect that modulated microwaves, applied in very low power densities during organogenesis, could decrease the pre-hatching period without affecting the pre-hatching development. This hypothesis requires more detailed investigation.

Finally, it could be concluded that microwaves at very low power densities, when applied to the chicken fetuses during organogenesis, adversely affect the normal pre-hatching development, since they may cause development retardation, post-hatching mortality and severe malfor-

κτεθέντων εμβρύων σε αδιαμόρφωτα παρουσίασαν καθυστέρηση ανάπτυξης. Τούτο οδηγεί στην υπόθεση ότι διαμορφωμένα μικροκύματα, όταν εφαρμόζονται σε πολύ μικρές πυκνότητες ισχύος κατά την οργανογένεση, μπορούν να περιορίσουν το χρόνο επώασης χωρίς, όμως, να επηρεάσουν ταυτόχρονα και την προεκκολαπτική ανάπτυξη. Η υπόθεση αυτή απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση.

Τέλος, είναι δυνατό να συμπεράνουμε, ότι η μικροκυματική ακτινοβολία, όταν εφαρμόζεται σε πολύ χαμηλές πυκνότητες ισχύος, σε έμβρυα όρνιθας, κατά την οργανογένεση, επηρεάζει δυσμενώς την κανονική προεκκολαπτική ανάπτυξη, αφού μπορεί να προκαλέσει καθυστέρηση ανάπτυξης, μετεκκολαπτική θνησιμότητα, σοβαρές διαμαρτίες και προεκκολαπτικούς θανάτους. Τα αίτια της διαφοροποίησης των δυσμενών αποτελεσμάτων μεταξύ αδιαμόρφωτων και παλμικά διαμορφωμένων μικροκυμάτων, που παρατηρήθηκαν στη μελέτη αυτή, απαιτεί περαιτέρω διερεύνηση. □

mations, as well as pre-hatching deaths. The cause of differentiation in adverse effects between CW- and PW-microwave irradiation that was found in this study needs more investigation. □

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ - REFERENCES

- CENELEC ENV50166-2 (1996) Human exposure to electromagnetic fields. High frequency (10 KHz to 300 GHz).
- Clark R and Justesen D (1983) Temperature gradients in the microwave irradiated egg: implications for avian teratogenesis, *J Microw Power*, 18(2): 169-180.
- IEEE Std C95.3.1991 (1991) IEEE recommended practice for the measurement of potentially hazardous electromagnetic fields – RF and microwave.
- Jensh R, Ludlow J, Weinberg I, Vogel W, Rudder T. and Brend R (1977) Teratogenic effects on rat offspring of non-thermal chronic prenatal microwave irradiation, *Teratology*, 15(2): 14A.
- Jensh R, Ludlow J, Weinberg I, Vogel W, Rudder T. and Brend R (1978) Studies concerning the postnatal effects of protracted low-dose prenatal 915 MHz microwave radiation, *Teratology*, 17(2): 21A.
- Larry J, Connover D, Johnson P and JeAnne B (1983) Teratogenicity of 27.12 MHz radiation in rats is related to duration of hyperthermic exposure, *Bioelectromagnetics*, 4: 249-255.
- Larry J and Connover D (1987) Teratogenic effects of radiofrequency radiation, *IEEE Eng Medicine and Biology*, 42-46.
- McRee D and Hamrick Rh (1997) Exposure of Japanese quail embryos to 2.45 GHz microwave radiation during development, *Radiation Res*, 71: 355-366.
- Magras IN, Xenos ThD and Kouris SS (1998) Experimental exposure of embryos to radiowave radiation, *Archives Hellenic Medicine*, 15:6, 560-564 (in Greek).
- Pakhomov A, Akyel Y, Pakhomova O, Stuck B and Murphy M (1998) Current state and implications of research on biological effects of millimeter waves: A review of the literature, *Bioelectromagnetics*, 19: 393-413.
- Saito K, Suzuki K and Motoyoshi S (1991) Lethal and teratogenic effects of long-term low-intensity radio frequency radiation at 428 MHz on developing chick embryos, *Teratology*, 43: 609-614.
- Saito K., and Suzuki K (1995) Maldevelopment of early chick embryos induced by non thermogenic dose radio-frequency radiation at 428 MHz for the first 48 hours, *Conj Anom*, 35:275-283.
- Sisken BF, Fowler I, Mayland C, Ryaby J and Pilla AA (1986) Pulsed E/M fields and normal chick development, *J of Bioelectricity*, 5: 25-34.
- Tanner J. and Rommero-Sierra C (1982) The effects of chronic exposure to very low intensity microwave radiation on domestic fowl, *J of Bioelectricity*, 1(2): 195-205.
- Xenos ThD and Magras IN (1999) An FDTD simulation for very low power density microwave effects on chicken embryos during organogenesis, *URSI XXVI general assembly*, BP1.4.6: 173.
- Xenos ThD and Magras IN (2000) A pulsed microwave power density distribution study on chicken embryos during the prehatching period, *Proc Millenium Int Workshop on Biological Effects of Electromagnetic Fields*, 302-305.