

## AUTOREFERAT

### 1. Dane personalne

Imię i nazwisko: **Krzysztof Pawlak**

Miejsce pracy: Instytut Nauk Weterynaryjnych, Zakład Weterynarii, Rozrodu i Dobrostanu Zwierząt, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

### 2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytuł rozprawy doktorskiej

- 1993 – magister inżynier zootechnik, Akademia Rolnicza im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Zootechniczny. Tytuł pracy: *Udział wcześniej zamarłych zarodków w czasie inkubacji w jajach kwalifikowanych przez Zakład Wylęgowy jako nie zapłodnione* (promotor dr hab. Jerzy Niedziółka)
- 2002 – doktor nauk rolniczych w zakresie zootechniki, specjalności: embriokardiologia, higiena zwierząt, Akademia Rolnicza im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt. Tytuł pracy: *Wzorcowe bezkontaktowe balistokardiogramy zarodków kurzych w okresie inkubacji* (promotor dr hab. Jerzy Niedziółka).

### 3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

31.04.1993 – 31.07.1993: Akademia Rolnicza im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska Wiejskiego (student stażysta).

4.01.1994 – 31.08.2002: Akademia Rolnicza im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska Wiejskiego (asystent naukowo-dydaktyczny).

1.09.2002 – 30.11.2002: Akademia Rolnicza im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Zakład Higieny Zwierząt i Środowiska Hodowlanego (specjalista).

01.12.2002 – 31.08.2014: Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Katedra Hodowli Drobiu, Zwierząt Futerkowych i Zoohigieny (adiunkt naukowo-dydaktyczny).

1.09.2014 – nadal: Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Instytut Nauk Weterynaryjnych, Zakład Weterynarii, Rozrodu i Dobrostanu Zwierząt (adiunkt naukowo-dydaktyczny).

**4. Wskazanie osiągnięcia naukowego wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 ze zm.)**

**a) tytuł osiągnięcia naukowego:**

Cykl jednotematycznych publikacji naukowych przedstawionych pod wspólnym tytułem: *Oddziaływanie wybranych czynników środowiskowych na morfologię i tempo pracy serca zarodka kury domowej (Gallus domesticus).*

**b) Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego:**

1. Non-invasive measurement of chick embryo cardiac work. **Pawlak K.**, Niedziółka J.: Czech J. Anim. Sci., 2004, 49 (1), 8-15. IF 0, 227.

2. Effects of temperature of incubation on chick embryo heart. **Pawlak K.**, Wojtysiak D.: Ann. Anim. Sci., 2004, Suppl., 1, 235-237.

3. Effect of *in ovo* injection of acetylsalicylic acid on morphotic parameters and heart work in chicken embryos exposed to hyperthermia. **Pawlak K.**, Lis M. W., Sechman A., Tombarkiewicz B., Niedziółka J.: Bull. Vet. Inst. Pulawy, 2011, 55, 95-100. IF 0, 414.

4. Effect of weak electromagnetic field on cardiac work, concentration of thyroid hormones and blood aminotransferase level in the chick embryo. **Pawlak K.**, Sechman A., Nieckarz Z., Wojtysiak D.: Acta, Vet, Hung., 2013;61 (3), 383-392. IF 0,802

5. Effect of *in ovo* injection of cadmium on chicken embryo heart. **Pawlak K.**, Dżugan M., Wojtysiak D., Lis M., Niedziółka J.: Afr. J. Agric. Res., 2013, . 8 (16), 1534-1539.

## Wstęp

Serce jest jednym z ważniejszych organów niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania całego organizmu. Ze względu na to, że rozwój embrionu ptasiego odbywa się w jaju, którego skorupa zbudowana jest z węglanu wapnia, rejestracja pracy serca w okresie zarodkowym okazuje się bardzo trudna. Dotychczas stosowane metody pomiaru pracy serca zarodków ptasich (elektrokardiografia, przepuszczanie wiązki światła przez jaja z zarodkami, kontaktowe balistokardiografy) są inwazyjne i/lub obciążone pewnymi błędami pomiarowymi. Dlatego w prezentowanych badaniach po raz pierwszy wykorzystano bezinwazyjną metodę balistokardiografii bezkontaktowej. Wstępne badania nad pomiarami pracy serca zarodków kurzych metodą balistokardiografii bezkontaktowej prowadzili Janowski i Szymański (1987, 2000) oraz Pawlak i in. (1998, 2001a, 2001b), jednak odbierany przez nich sygnał pracy serca często ginął w szumach, co nie pozwalało na bezzakłócenową rejestrację balistokardiogramów. Modyfikacje w konstrukcji urządzenia wprowadzone przez Szymańskiego i in. (2002) (ze znacznym udziałem autora niniejszego autoreferatu) poprawiły czułość aparatury i wartość uzyskiwanych wyników. Zastosowanie w prezentowanych badaniach tak zmodyfikowanego urządzenia pozwoliło na rejestrację pracy serca zarodka kurzego w kolejnych dniach embriogenezy, co umożliwiło określenie wpływu różnorodnych czynników środowiskowych na jego pracę.

Jednym z czynników środowiskowych mających duże znaczenie w produkcji drobiu jest temperatura. U dorosłych osobników narażonych na zbyt wysoką temperaturę obserwuje się spadek tempa przyrostu masy ciała, a nawet zwiększoną śmiertelność (Lin i in. 2006). Jednak problemem zdecydowanie większym od stresu cieplnego mogącego wystąpić u osobników dorosłych jest narażenie na hipertermię zarodków kurzych podczas procesu inkubacji. Błędne dozowanie temperatury inkubacji może powodować zaburzenia w procesie embriogenezy, negatywnie wpływać na funkcjonowanie poszczególnych narządów oraz zwiększać śmiertelność zarodków (Yahav i in. 2004).

Następujący wraz z rozwojem cywilizacji gwałtowny wzrost poziomu „sztucznego” pola elektromagnetycznego (PEM) o częstotliwości 50-60 Hz w środowisku naturalnym skłonił naukowców do podjęcia badań nad skutkami oddziaływań tego pola na organizmy żywe (Anselmo i in. 2009). Prowadzane badania nie dają jednak jednoznacznej odpowiedzi na pytanie o wpływ słabego PEM na organizmy żywe. Niektórzy autorzy wskazują na

korelacje pomiędzy tego typu polami a zmianami zachodzącymi w organizmach zwierząt i ludzi. Saito i in. (2010) wskazują wpływ słabego pola elektromagnetycznego na powstawanie nowotworów mózgu, Portier i Wolf (1998) na wzrost zachorowalności na białaczkę, Wood i in. (1998) na zmianę stężenia melatoniny we krwi, Al-Akhras (2008) oraz Kim i in. (2009) na zaburzenia czynności układu rozrodczego, a Lin i Lu (2010) oraz Chang i in. (2010) na zmiany w układzie kostnym. Zdają się temu zaprzeczać prace innych autorów, którzy prowadzili podobne badania (Savitz, Loomis 1995; Day 1999; Ryan i in. 1999; Kurokawa i in. 2003). Jak wiadomo, serce zarówno u zwierząt, jak i u ludzi zbudowane jest z tkanek elektrycznie pobudliwych. Jest ono źródłem zmiennego pola elektrycznego, które obejmuje cały organizm i zmienia się w zależności od rytmu jego pracy. Uwzględniając ten fakt, można więc przypuszczać, że działanie dodatkowym zewnętrznym polem elektromagnetycznym będzie zakłócać pracę tego organu (Jeong i in. 2005).

Na stan zdrowotny i pracę serca znaczny wpływ wywierają również substancje toksyczne, w tym metale ciężkie, które wraz z postępem cywilizacyjnym w coraz większym stopniu zanieczyszczają środowisko naturalne. Jednym z takich metali jest kadm. Tworzy on związki na +2 stopniu utlenienia, jego jony łatwo się wchłaniają, a następnie akumulują w tkankach roślin i zwierząt (Satarug i in. 2003). Ta właściwość w połączeniu z wyjątkowo długim (10-30 lat) biologicznym okresem półtrwania w organizmie powoduje, że toksyczne działanie jonów tego pierwiastka narasta w trakcie życia i może się utrzymywać jeszcze po zakończeniu bezpośredniej ekspozycji (Nordberg 2009).

U zwierząt narażonych na ekspozycję związkami kadmu szczególnie wysoką zawartość jonów tego metalu stwierdza się w nerkach, sercu i wątrobie oraz w mniejszym stopniu w trzustce i mózgu (Jarüp, Åkesson 2009). Jednym z mechanizmów toksycznego działania kadmu jest indukowanie reakcji zapalnej. Prozapalne działanie kadmu obserwowano w obrębie nerek, wątroby i układu oddechowego. Kadm może również powodować reakcję zapalną w układzie sercowo-naczyniowym. W przewlekłym, doświadczalnym zatruciu kadmem u szczurów obserwowano częstsze występowanie nacieków lipidowych w aorcie oraz stwardnienie małych tętnic i tętniczek w sercu, płucach, nerkach i nadnerczach (Mlynek, Skoczyńska 2005). Jak wiadomo, organizmy młodociane są szczególnie wrażliwe na negatywne działanie metali ciężkich (Wonga i in. 1980; Yasuda i in. 2012). Wydaje się więc, że badanie wpływu kadmu na rozwijające się serca zarodków może mieć duże znaczenie,

szczególnie że w niskich dawkach, niemających negatywnego działania na inne organy, kadm wykazuje właściwości kardi toksyczne (Limaye, Shaikh 1999).

Badania stanowiące osiągnięcie naukowe wnioskodawcy miały następujące cele:

**1) Ocena przydatności metody balistokardiografii bezkontaktowej do badania tempa pracy serca zarodków kurzych – praca 1.**

**2) Ocena wpływu hipo- i hipertermii na parametry morfologiczne i pracę serca zarodków kurzych w okresie inkubacji – praca 2 i 3.**

**3) Badanie wpływu pól elektromagnetycznych o częstotliwości 50 Hz na parametry morfologiczne oraz tempo pracy serca zarodków kurzych – praca 4.**

**4) Ocena wpływu kadmu (Cd) podawanego metodą *in ovo* na parametry morfologiczne oraz tempo pracy serca zarodków kurzych – praca 5.**

**ad 1** W celu oceny przydatności metody balistokardiografii bezkontaktowej do badań nad pracą serca zarodków ptasich użyto 100 jaj kurzych pochodzących od zestawu rodzicielskiego Rossa. Lęgi przeprowadzono w inkubatorach laboratoryjnych Masaless 1200-0090 TYPE 65 DIGIT (praca 1).

W bezkontaktowej metodzie rejestracji pracy serca zarodka kurzego skorupa jaja, na której znajdują się ładunki elektryczne, jest jedną z okładek kondensatora. Drugą okładkę stanowi antena odbiorcza aparatury pomiarowej. Praca serca zarodka kurzego powoduje minimalne ruchy całego jaja, w wyniku czego następuje zmiana odległości między okładkami kondensatora, a tym samym zmiana różnicy potencjałów między skorupą a anteną odbiorczą, co jest rejestrowane przez urządzenie pomiarowe (Szymański i in. 2002, Pawlak i in. 2002). Praca serca każdego badanego zarodka była rejestrowana przez półtorej minuty. Otrzymany sygnał pracy serca był zapisywany, a następnie poddany cyfrowej obróbce za pomocą programu stworzonego do tego celu.

Pierwsze sygnały pracy serca udało się zarejestrować w 7 dobie inkubacji (4 zarodki). Począwszy od 9 dnia inkubacji, sygnał pracy serca rejestrowano już od wszystkich żywych zarodków.

W badaniach własnych stwierdzono, że najwyższa częstotliwość pracy serca występuje w 9 dniu inkubacji i wynosi średnio 248 skurczów na minutę, a najniższa w ostatnim dniu inkubacji – 161 skurczów na minutę. Analizując tendencje średniej liczby skurczów serca w poszczególnych dniach inkubacji, stwierdzono, że od 9 do 12 dnia nastąpił spadek częstotliwości pracy serca z 248 do 218 skurczów na minutę. Pomiary pracy serca w tym samym okresie inkubacji prowadzili również Antoni i Diliger (1981). Wykorzystując w badaniach optyczną metodę pomiaru pracy serca, autorzy ci stwierdzili, że w tym okresie inkubacji występuje tzw. faza płaska, czyli okres kiedy częstotliwość pracy serca jest względnie stała i waha się między 264-277 skurczów na minutę. Analizując wyniki badań własnych stwierdzono, że od 12 do 16 doby inkubacji nastąpiło ustabilizowanie pracy serca na poziomie 218 skurczów na minutę. Podobne wyniki dla tego okresu inkubacji uzyskali Antoni i Diliger (1981), natomiast Laughlin i in. (1975) oraz Cain i in. (1967) w prowadzonych przez siebie badaniach zarejestrowali spadek liczby uderzeń serca.

Od 17 dnia inkubacji stwierdzono obniżanie się tempa pracy serca z poziomu 215 aż do 161 uderzeń na minutę w ostatnim dniu inkubacji, gdy naklute były już wszystkie zarodki. Wyniki te były zgodne z uzyskanymi przez Cain i in. (1967) oraz Laughlin i in. (1975). Gwałtowny spadek częstotliwości pracy serca w końcowym okresie inkubacji zaobserwowali również Antoni i Diliger (1981). Autorzy ci donoszą, że tempo pracy serca naklutej zarodków może się zmniejszyć nawet do poziomu 93 skurczów na minutę. Natomiast całkiem odmienne wyniki uzyskali Laughlin i in. (1975), według których w okresie nakluwania skorupy następuje wzrost częstotliwości pracy serca zarodków kurzych do 270 skurczów na minutę. Uzyskane wyniki potwierdzają przydatność metody balistokardiografii bezkontaktowej do badań pracy serca zarodka kurzego.

**ad 2** Lęgi przeprowadzono w inkubatorach laboratoryjnych Masaless 1200-0090 TYPE 65 DIGIT. Do badań użyto 120 jaj kurzych pochodzących od zestawu rodzicielskiego Rossa (praca 2) oraz 420 jaj pochodzących od kur stada rodzicielskiego linii Ross 308 (praca 3).

W doświadczeniu opisanym w pracy drugiej jaja zostały podzielone na 3 równoliczebne grupy: grupa I kontrolna – inkubacja w warunkach standardowych (1-18 doba inkubacji:  $T = 37,8^{\circ}\text{C}$ ; 19-21doba:  $T = 37,2^{\circ}\text{C}$ ); grupa II – inkubacja w warunkach hipotermii (1-18 doba:  $T = 36,3^{\circ}\text{C}$ ; 19-21doba:  $T = 35,7^{\circ}\text{C}$ ); grupa III – inkubacja w hipertermii (1-18 doba:  $T = 39,3^{\circ}\text{C}$ ; 19-21doba:  $T = 38,7^{\circ}\text{C}$ ).

W doświadczeniu opisanym w pracy 3 od 1 do 18 doby jaja były inkubowane w warunkach standartowych ( $T = 37,8^{\circ}\text{C}$ ). W 18 dobie inkubacji 420 jaj z żywymi zarodkami podzielono na 6 równoliczebnych grup: jedną grupę kontrolną i pięć grup doświadczalnych, w których jako czynnik eksperymentalny zastosowano podwyższoną temperaturę ( $38,5^{\circ}\text{C}$ ) i/lub iniekcję *in ovo* 5 mg kwasu acetylosalicylowego (Polpharma Ltd, Poland) wg następującego schematu:

	Warunki standardowe	Hipertermia
Iniekcja	$T = 37,2^{\circ}\text{C}$	$T = 38,5^{\circ}\text{C}$
Brak iniekcji	I grupa – kontrolna	IV grupa
50 $\mu\text{l}$ 0,9% NaCl/jajo	II grupa – ślepa	V grupa
5 mg ASA 50 $\mu\text{l}$ / 0,9% NaCl/jajo	III grupa	VI grupa

Grupa II – ślepa, została utworzona w celu sprawdzenia, czy sama procedura eksperymentu (iniekcja *in ovo* roztworu soli fizjologicznej) może mieć wpływ na uzyskane wyniki. Identyczną zasadę dotyczącą grupy ślepej zastosowano w pracy 5, natomiast w pracy 4 w ramach grupy ślepej sprawdzano, czy sam montaż w inkubatorze generatora pól elektromagnetycznych może mieć wpływ na wyniki badań.

W doświadczeniu opisanym w pracy 3 kwas acetylosalicylowy podawany był do białka jaja metodą *in ovo* zgodnie z procedurą opisaną przez Ohta i Kidd (2001), tak by mógł on być w całości pobrany przez zarodek przed wylęciem. Jako rozpuszczalnik kwasu acetylosalicylowego został zastosowany 0,9% roztwór soli fizjologicznej. Odstęp czasowy między podaniem ASA a pomiarem pracy serca wynosił 12 godzin.

Pomiary tempa pracy serca (począwszy od 18 doby inkubacji) wykonano zgodnie z metodą opisaną w pracy 1.

Do badań parametrów morfologicznych serca użyto po 10 osobników z każdej grupy (praca 2 – zarodki dwudziestodniowe; praca 3 – pisklęta zaraz po wykluciu). Pobrane od zarodków/piskląt serca ważono, a następnie wykonano z nich preparaty histologiczne, na których przy użyciu programu komputerowego Multi Scan Base 98 przeprowadzono pomiar

grubości lewej i prawej ściany komory serca. Pomiarów wykonywano począwszy od zastawki przedsionkowo-komorowej, przesuwając się w kierunku koniuszka serca.

W pracy 3 uzyskane wyniki poddano dwuczynnikowej analizie wariancji. Natomiast w pracy 4 przy wykorzystaniu testu t-Studenta sprawdzano istotność różnic między średnimi badanych grup (I, II, III, IV, V, VI). Testowanie poprzedzono zbadaniem normalności rozkładu za pomocą testu Shapiro-Wilka. Zarówno w pracy 3 i 4 posłużono się programem STATISTICA 9.

W toku badań stwierdzono, że zaburzenie warunków termicznych procesu inkubacji wpływa na tempo pracy serca oraz wartość jego parametrów morfologicznych. Obniżenie temperatury przez cały okres inkubacji o  $1,5^{\circ}\text{C}$  w stosunku do warunków standardowych spowodowało statystycznie istotny wzrost masy serca, względnej masy serca, jak i grubości ściany lewej i prawej komory serca. Natomiast przegrzanie zarodków zarówno o  $1,5^{\circ}\text{C}$  przez cały okres inkubacji, jak i o  $1,3^{\circ}\text{C}$  tylko między 18 a 21 dobą inkubacji skutkowało statystycznie istotnym zmniejszeniem masy serca, względnej masy serca oraz grubości ściany lewej i prawej komory serca. Oprócz zmian wartości parametrów morfologicznych serca, przegrzanie zarodków kurzych wpłynęło również na tempo jego pracy. Jak wykazały badania opisane w pracy 3, ilość uderzeń serca na minutę u zarodków narażonych na hipertermię (grupa IV) była istotnie wyższa ( $P < 0,01$ ) niż u embrionów z grupy kontrolnej inkubowanych w warunkach standardowych. Zależność ta była obserwowana w ciągu całego okresu badawczego. Zwiększone tempo pracy serca zarodków poddanych hipertermii jest prawdopodobnie związane z czynnością tarczycy. Jak pokazują badania Lisa i in. (2009), podwyższenie temperatury w końcowym etapie inkubacji zwiększa uwalnianie tyroksyny z gruczołu tarczycowego embrionu do krwi. Hormon metabolizowany jest do aktywnej trijodotyroniny, która za pośrednictwem receptorów jądrowych ( $\text{TR}\alpha$ ) reguluje transkrypcje genów uczestniczących w procesie termoregulacji. Wykazano, że ekspresja mRNA  $\text{TR}\alpha$  zwiększa się gwałtownie w sercu zarodka kurzego podczas końcowego etapu embriogenezy. Receptory te są czynnikami transkrypcyjnymi pośredniczącymi w wewnątrzkomórkowej transdukcji sygnału pochodzącego od hormonów tarczycy (Forrest i in. 1990). Ponadto zwiększone tempo pracy serca podczas obciążenia termicznego może być wynikiem aktywacji osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (HPA) i osi sympatyczno-chromochłonnej, co prowadzi do zwiększenia syntezy kortykosteronu i katecholamin (Harvey i in. 1984; Jenkins, Porter 2004). U ptaków pobudzenie osi HPA prowadzi również do wzrostu syntezy



katecholamin. Wykazano, że ACTH może bezpośrednio wpływać na hydroksylazę tyrozynową, enzym limitujący szybkość syntezy katecholamin (Dillmann, Gloss 2008). Ponadto ACTH poprzez stymulację syntezy glikokortykoidów zwiększa aktywność N-metylotransferazy fenyloetanolaminy i w ten sposób wpływa na przemianę noradrenaliny w adrenalinę (Zachariassen, Newcomer 1975). Blumröder i Tönhardt (2002) wykazali, że podwyższenie temperatury od 37,5°C do 38,5°C począwszy od 14 doby inkubacji, zwiększa stężenie noradrenaliny we krwi zarodka kurzego. Ponieważ katecholaminy są głównymi regulatorami funkcji skurczowej kardiomiocytów (Crossley 2000), możliwe jest, że zwiększenie tempa pracy serca u zarodków narażonych na hipertermię wiąże się z działaniem tych hormonów. Dodatkowo dla wegetatywnego układu nerwowego głównymi regulatorami metabolizmu i tempa pracy serca u ssaków i ptaków są hormony tarczycy (Dillmann, Gloss 2008) i nadnerczy (Blumröder, Tönhardt 2002; Crossley 2000).

Obserwowany wzrost tempa pracy serca miał prawdopodobnie znaczący wpływ na zmiany w budowie tego narządu. Zwiększona ilość wprowadzanej do tętnic krwi, związana z przyspieszeniem tempa pracy serca, mogła wpłynąć na spadek ilości krwi wpompowywanej do układu krwionośnego w czasie pojedynczego skurczu. Zmniejszająca się objętość wyrzutowa krwi prawdopodobnie wpłynęła na zmniejszanie przyrostu masy mięśnia sercowego u rozwijającego się zarodka kurzego. Hipoteza ta jest poparta faktem, że w warunkach hipertermii zarodki wykazały spadek masy serca, względnej masy serca oraz grubości ścian komór serca.

W toku badań stwierdzono również, że podanie *in ovo* zarodkom narażonym na przegrzanie kwasu acetylosalicylowego ogranicza negatywne działanie hipertermii. U zarodków inkubowanych w warunkach hipertermii, iniekowanych ASA nie stwierdzono w porównaniu do grupy kontrolnej i ślepej statystycznie istotnych zmian w masie serca, parametrach morfologicznych ani w tempie pracy serca. Można przypuszczać, że podanie kwasu acetylosalicylowego zmniejszyło syntezę i/lub wydzielanie jodotyroniny, co spowodowało zmniejszenie częstotliwości pracy serca do poziomu porównywalnego z tempem pracy tego organu zarodków z grupy kontrolnej i ślepej. Prawdziwość takiej tezy potwierdzają badania Lis i in. (2009).

**ad 3** W doświadczeniu użyto 120 jaj pochodzących od stada rodzicielskiego ISA 215, które były inkubowane zgodnie z obowiązującymi normami. Lęgi przeprowadzono w inkubatorach laboratoryjnych Masaless 1200-0090 TYPE 65 DIGIT (praca 4). Jaja zostały podzielone na 4 równoliczebne grupy: grupa I (kontrolna) – rozwój zarodków w standardowo wyposażonym inkubatorze, grupa II (ślepa) – rozwój w inkubatorze wyposażonym w wyłączony generator pola elektromagnetycznego, grupa III i IV (eksperymentalne) – rozwój w inkubatorze wyposażonym we włączony generator pola elektromagnetycznego.

Dla grupy III wartość indukcji magnetycznej emitowanego PEM wynosiła  $50 \pm 5 \mu\text{T}$ , natomiast natężenie pola elektrycznego wynosiło  $173 \pm 5 \text{ V/m}$ . W grupie IV indukcja magnetyczna wynosiła  $100 \pm 10 \mu\text{T}$ , zaś natężenie pola elektrycznego  $180 \pm 1 \text{ V/m}$  przy częstotliwości dla obu tych grup równej 50 Hz. Zarodki z grup eksperymentalnych poddane były działaniu dodatkowego pola elektromagnetycznego przez cały okres inkubacji.

Dla zbadania wpływu PEM na tempo pracy serca embrionów kurzych począwszy od 10 doby inkubacji, u wszystkich zarodków wykonywane były pomiary balistokardiograficzne. W celu oznaczenia parametrów morfologicznych serca (masa i względna masa serca oraz grubość lewej i prawej komory serca) bezpośrednio po wylęgu pobrano serca od dziesięciu losowo wybranych piskląt z każdej grupy.

Ponieważ komórki mięśnia sercowego są tkanką docelową dla hormonów tarczycy, gdyż posiadają receptory TR, dlatego też wydawało się uzasadnione zbadanie wpływu PEM na stężenie hormonów tarczycy: tyroksyny ( $T_4$ ) i trijodotyroniny ( $T_3$ ) we krwi embrionów. Stężenie  $T_4$  i  $T_3$  w osoczu krwi 10 losowo wybranych embrionów kontrolnych i eksponowanych na działanie PEM oznaczano metodą radioimmunologiczną (RIA) w 15, 18 i 20 dniu inkubacji. Ponadto w 20 dniu inkubacji w osoczu krwi embrionów zmierzono aktywność aminotransferaz: alaninowej (ALT) i asparaginowej (AST) (metodą kinetyczną). Oznaczenie aktywności tych enzymów miało dać odpowiedź na pytanie, czy PEM może powodować uszkodzenie komórek mięśnia sercowego.

Za pomocą testu t-Studenta sprawdzano istotność różnic między średnimi badanych grup, tj. grupy I, II, III, IV (STATISTICA 9). Testowanie poprzedzono zbadaniem normalności rozkładu za pomocą testu Shapiro-Wilka.

W niniejszej pracy po raz pierwszy wykazano wpływ pola elektromagnetycznego o indukcji 50 i 100  $\mu\text{T}$  na tempo pracy serca zarodków kurzych. Na uwagę zasługuje również fakt, że istotne różnice pomiędzy grupą kontrolną a grupami doświadczalnymi zanotowano dopiero w 17 dobie inkubacji. Takie wyniki mogą wskazywać na to, że ekspozycja zarodków kurzych na słabe pole elektromagnetyczne wywołuje stopniowe zmiany funkcji i metabolizmu mięśnia sercowego, czego wynikiem jest istotny wzrost tempa pracy tego narządu w końcowej fazie embriogenezy. Nie można wykluczyć, że wzrost tempa pracy serca obserwowany w badaniach własnych (szczególnie od 17 dnia inkubacji) jest związany z oddziaływaniem hormonów tarczycy, które obok wegetatywnego układu nerwowego są głównymi regulatorami tempa pracy serca u ssaków i ptaków (Dillmann, Gloss 2008). W doświadczeniu prezentowanym w niniejszej pracy w obu grupach doświadczalnych zarówno w 18, jak i 20 dobie inkubacji zanotowano istotny wzrost stężenia  $T_4$  i  $T_3$  w krwi embrionów. Podobny efekt wpływu dodatkowego pola elektromagnetycznego o częstotliwości 50 Hz i indukcji 10  $\mu\text{T}$  na stężenie hormonów tarczycy we krwi embrionów kurzych został wykazany przez Sechmana i in. (2006). Efekt ten może być związany z bezpośrednim wpływem PEM na funkcję osi tarczycowej, powodując wzrost stężenia  $T_4$  i  $T_3$  we krwi. Nie można również wykluczyć, że podwyższenie poziomu  $T_3$  w osoczu krwi jest wynikiem hamującego działania PEM na aktywność dejodynazy D3, która jest odpowiedzialna za konwersję w wątrobie  $T_3$  do 3,5-T2 (Decuypere i in. 2005).

Przeprowadzone badania wykazały, że u embrionów narażonych na działanie dodatkowego pola elektromagnetycznego względna masa serca była większa niż u zarodków inkubowanych w warunkach standardowych. Zwiększenie względnej masy serca zarodków z grup doświadczalnych (grupa III i IV) jest prawdopodobnie związane z wpływem badanego pola elektromagnetycznego na tempo pracy tego narządu, który – stymulowany przez hormony tarczycy, zwiększa swoją aktywność metaboliczną. Wzrost aktywności miocytów pod wpływem jodotyronin związany jest z aktywacją receptorów tarczycowych TR, których wysoką ekspresję stwierdzono w mięśniu sercowym w końcowej fazie embriogenezy (Forrest i in. 1990).

Przeprowadzone badania nie wykazały różnic w grubości ścian prawej ani lewej komory serca zarodków z grup kontrolnych oraz doświadczalnych.

Aminotransferazy (szczególnie AST) są specyficznymi wskaźnikami uszkodzenia mięśnia sercowego (Schindhelm i in. 2007). Wcześniejsze badania Rajendra i in. (2004) wykazały brak bezpośredniego wpływu pola elektromagnetycznego na stężenie aminotransferazy alaninowej i asparaginowej we krwi embrionów kurzych. Przeprowadzone badania wykazały, że u zarodków narażonych na działanie dodatkowego pola elektromagnetycznego o indukcji 100  $\mu$ T następuje statystycznie istotny ( $p < 0,05$ ) wzrost poziomu aminotransferazy asparaginowej. Uzyskanie takich wyników może więc wskazywać na bezpośredni wpływ PEM o tej indukcji na proces uszkodzenia komórek mięśnia sercowego lub innych narządów (takich jak wątroba).

**ad 4** Jaja wylęgowe pochodzące od stada reprodukcyjnego kur linii Ross 308 inkubowane były w warunkach standardowych w inkubatorach laboratoryjnych Masaless 1200-0090 TYPE 65 DIGIT (praca 5). Czwartego dnia inkubacji jaja z żywymi zarodkami zostały podzielone na 4 równoliczebne grupy (po 40 sztuk każda): grupa I (kontrolna) – inkubacja bez żadnej zewnętrznej ingerencji, grupa II (ślepa) – podanie metodą *in ovo* do białka jaja 50  $\mu$ l 0,7% roztworu chlorku sodu, grupa III i IV podanie metodą *in ovo* do białka jaja 50  $\mu$ l 0,7% roztworu chlorku sodu zawierającego jony Cd (w postaci chlorku kadmu  $\text{CdCl}_2$ ): grupa III – 1  $\mu$ g Cd/jajo, a grupa IV-5  $\mu$ g Cd/jajo.

Począwszy od 9 doby inkubacji, u wszystkich zarodków wykonywane były balistokardiograficzne pomiary pracy serca (powtarzalne sygnały udało się zarejestrować od 10 doby inkubacji). Bezpośrednio po wylęgu od 10 wybranych losowo piskląt z każdej grupy pobrano serce w celu oznaczenia jego masy, względnej masy oraz grubości lewej i prawej ściany komory serca. Ponadto w krwi badanych embrionów (10 osobników z każdej grupy) oznaczono aktywność aminotransferaz: alaninowej (ALT) i asparaginianowej (ASP) (20 doba inkubacji) – metoda kinetyczna.

Podobnie jak we wcześniejszym doświadczeniu przy pomocy testu t-Studenta sprawdzano, czy istnieją statystycznie istotne różnice między średnimi badanych grup, tj. grupą I, II, III, IV (STATISTICA 9). Testowanie poprzedzono zbadaniem normalności rozkładu za pomocą testu Shapiro-Wilka.

Wyniki doświadczenia wskazują, że kadm podawany *in ovo* istotnie zmniejsza tempo pracy serca zarodków kurzych. Spowolnienie pracy serca było bardziej widoczne w końcowym okresie inkubacji. Prawdopodobnie wraz z upływem czasu kadm pobierany przez

zarodek z białka jaja kumuluje się w jego organizmie, coraz mocniej spowalniając pracę serca. Jednym z pierwiastków odpowiedzialnych za prawidłową pracę mięśnia sercowego jest wapń. Jak wiadomo, kadm charakteryzuje się zdolnością do zakłócania przemian wapnia, powodując usuwanie go z ustroju (Czeczot, Skrzycki 2010). Ponadto kadm jest zaliczany do blokerów kanałów wapniowych (Bridges, Zalups 2005; Martelli i in. 2006). Działając przez różne szlaki metaboliczne, kadm wpływa na aktywność układu renina-angiotensyna (Martynowicz, Skoczyńska 2003). Kadm może powodować obniżenie stężenia angiotensyny II w komórkach mięśnia sercowego. Niższe stężenie tego hormonu wpływa hamująco na pobudzenie receptora AT-1, który jest odpowiedzialny za wzmożony przepływ wapnia do wnętrza komórek mięśnia sercowego, a także uwalniania go z siateczki sarkoplazmatycznej (Martynowicz, Skoczyńska 2003).

Przeprowadzone badania wykazały również negatywny wpływ kadmu na parametry morfologiczne serca. U piskląt, którym w trakcie inkubacji został podany kadm, obserwowano spadek zarówno masy serca, jak i względnej masy serca, przy czym różnica między grupami kontrolnymi a iniekowanymi kadmem była o wiele większa przy dawce Cd równej 5 µg (grupa IV). W prezentowanych badaniach wykazano, że u zarodków poddanych działaniu kadmu następuje zmniejszenie grubości ściany prawej komory serca. Różnice między grupą kontrolną (grupa I) i ślepą (grupa II) a grupami narażonymi na działanie kadmu były statystycznie istotne na poziomie 0,05 przy dawce Cd równej 1 µg i na poziomie 0,01 przy dawce Cd 5 µg. Pomiar grubości ściany lewej komory serca nie wykazały istotnych różnic wartości tego wskaźnika pomiędzy grupami.

Analizując mikrostrukturę mięśnia sercowego w obrazie mikroskopowym, w sercach zarodków z grupy kontrolnej, ślepej i iniekowanej 1 µg Cd/jajo nie stwierdzono zmian o charakterze patologicznym. Natomiast w grupie iniekowanej 5 µg Cd/jajo obserwowano zmiany o cechach zapalnych – znamionujących wytwórcze śródmiąższowe zapalenie mięśnia sercowego (*myocarditis interstitialis productiva*). Włókna mięśniowe były porzysuwane, a pomiędzy nimi stwierdzono obfity nacieki zapalny złożony z jednojądrowych komórek, głównie limfocytów. Tego rodzaju zmiany obserwowano u wszystkich osobników z grup doświadczalnych zarówno w mięśniówce komór serca, jak i w przegrodzie międzykomorowej.

O wystąpieniu procesu zapalnego w sercach zarodków iniekowanych 5  $\mu\text{g}$  Cd/jajo może też świadczyć prawie czterokrotnie wyższe stężenie w ich krwi aminotransferazy asparaginowej w stosunku do grupy kontrolnej.

## Podsumowanie

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że zaburzenie homeostazy rozwijającego się zarodka kurzego poprzez poddanie go oddziaływaniu różnorodnych czynników środowiskowych wpływa na morfologię oraz tempo pracy jego serca. Zastosowana w badaniach własnych bezinwazyjna metoda balistokardiografii bezkontaktowej pozwala na określenie wpływu stosowanego czynnika na pracę serca rozwijającego się zarodka.

Pod wpływem działania na embrión takich czynników jak pole elektromagnetyczne o częstotliwości 50 Hz i indukcji magnetycznej 50 i 100  $\mu\text{T}$  oraz podwyższona temperatura inkubacji następowało statystycznie istotne przyspieszenie tempa pracy serca zarodków kurzych. Natomiast podanie *in ovo* kadmu powodowało spowolnienie tempa pracy serca. Podanie kadmu w czwartym dniu inkubacji spowodowało również obniżenie względnej masy serca, spadek grubości ściany prawej komory serca oraz pojawienie się zmian o cechach zapalnych, znamionujących wytwórcze śródmiąższowe zapalenie mięśnia sercowego (*myocarditis interstitialis productiva*). O wystąpieniu zmian zapalnych może również świadczyć podwyższony poziom aminotransferazy asparaginowej w osoczu krwi zarodków poddanych działaniu kadmu o stężeniu 5  $\mu\text{g}$  Cd/jajo.

Podwyższenie stężenia aminotransferazy asparaginowej stwierdzono również w osoczu krwi zarodków poddanych oddziaływaniu dodatkowego pola elektromagnetycznego o wartości indukcji magnetycznej 100  $\mu\text{T}$ . Działanie na rozwijający się zarodek dodatkowym polem elektromagnetycznym spowodowało ponadto wzrost względnej masy serca embriónu.

U badanych zarodków stwierdzono również istotny wpływ czynnika termicznego na parametry morfologiczne serca. U zarodków narażonych na hipertermię zaobserwowano zmniejszenie względnej masy serca oraz spadek grubości ścian komór serca, natomiast w przypadku hipotermii – wzrost zarówno względnej masy serca, jak i grubości ścian komór.

Reasumując można stwierdzić, że prezentowane badania, przeprowadzone z zastosowaniem metody bezkontaktowej balistokardiografii, wykazały istotny wpływ zastosowanych czynników środowiskowych, tj. temperatury inkubacji, pola elektromagnetycznego o częstotliwości 50 Hz oraz kadmu, na pracę i morfologię serca zarodka kurzego. Uzyskane wyniki sugerują również, że hormony tarczycy oraz aminotransferazy pośredniczą w oddziaływaniu badanych czynników środowiskowych na pracę oraz parametry morfologiczne serca badanych zarodków.

## Literatura

Al-Akhras M. A. (2008): Influence of 50 Hz magnetic field on sex hormones and body, uterine, and ovarian weights of adult female rats. *Electromagn. Biol. Med.* 27, 155-163.

Anselmo C. W., Pereira P. B., Catanho M. T., Medeiros M. C. (2009): Effects of the electromagnetic field, 60 Hz, 3 microT, on the hormonal and metabolic regulation of undernourished pregnant rats. *Braz. J. Biol.* 69, 397-404.

Antoni H., Diliger W. (1981): Methodische Möglichkeiten zur Registrierung der Herzaktion am intakten bebrüteten Hühnerei. *Arzneim.-Forsch.*, 31, 1436-1445.

Blumröder von D., Tönhardt H. (2002): Influence of long-term changes in incubation temperature on catecholamine levels in plasma of chicken embryos (*Gallus gallus f. domestica*). *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*, 131, 701-711.

Bridges C. C., Zalups R. K. (2005): Molecular and ionic mimicry and the transport of toxic metals. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 204, 274-308.

Cain J. R., Abbott U. K., Rogallo V. L. (1967): Heart rate of developing chick embryo. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 126, 507.

Chang C. H., Loo S. T., Liu H. L., Fang H. W., Lin H. Y. (2010): Can low frequency electromagnetic field help cartilage tissue engineering? *J. Biomed. Mater. Res. A* 92, 843-851.

Crossley D. 2nd, Altimiras J. (2000): Ontogeny of cholinergic and adrenergic cardiovascular regulation in the domestic chicken (*Gallus gallus*). *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 279, R 1091-R1098.

Czeczot H., Skrzycki M. (2010): Cadmium – element completely unnecessary for the organism (in Polish). *Postepy. Hig. Med. Dosw.*, 64, 38-49.

- Day N. (1999): Exposure to power – frequency magnetic fields and the risk of childhood cancer. UK Childhood Cancer Study Investigators. *Lancet.*, 4, 354 (9194), 1925-1931.
- Decuypere E., Van As P., Van der Geyten S., Darras V. M. (2005): Thyroid hormone availability and activity in avian species: A review. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 29, 63-77.
- Dillmann W., Gloss B. (2008): The role of thyroid hormone receptors in the heart. *Methods Mol Biol*, 202, 55-70.
- Forrest D., Sjöberg M., Vennström B. (1990): Contracting developmental and tissue-specific expression of  $\alpha$  and  $\beta$  thyroid hormone receptor genes. *EMBO J*, 9, 1519-1528.
- Harvey S., Phillips J. G., Rees A., Hall T. R. (1984): Stress and adrenal function. *J Exp Zool*, 232, 633-645.
- Janowski T. M., Szymański A. J. (1987): Wstępne badania pola elektrycznego w rozwoju embrionalnym kury. *Mat. VIII Kong. Pol. Tow. Nauk Wet. SGGW-AR, Warszawa*, 254.
- Janowski T. M., Szymański A. J. (2000): Non-invasive testing of chicken embryo for electric field. *Acta Agric. et Silv. Ser. Zoot.*, 338, 109-115.
- Jarüp L., Åkesson A. (2009): Current status of cadmium as an environmental health problem. *Toxicol. Appl. Pharm.*, 238 (3), 201-208.
- Jenkins S. A., Porter T. E. (2004): Ontogeny of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis in the chicken embryo: a review. *Dom Animal Endocrinol*, 26, 267-275.
- Jeong J. H., Kim J. S., Lee B. C., Min Y. S., Kim D. S., Ryu J. S., Soh K. S., Seo K. M., Sohn U. D. (2005): Influence of exposure to electromagnetic field on the cardiovascular system. *Auton. Autacoid Pharmacol.*, 25, 17-22.
- Kim, Y. W., Kim, H. S., Lee, J. S., Kim, Y. J., Lee, S. K., Seo, J. N., Jung, K. C., Kim, N. and Gimm, Y. M. (2009): Effects of 60 Hz 14 microT magnetic field on the apoptosis of testicular germ cell in mice. *Bioelectromagnetics.*, 30, 66–72.;
- Kurokawa Y., Nitta H., Imai H., Kabuto M. (2003): Acute exposure to 50 Hz magnetic fields with harmonics and transient components: lack of effects on nighttime hormonal secretion in men. *Bioelectromagnetics.*, 24 (1), 12-20.
- Laughlin K. F., Lundy H., Tait J. A. (1975): Chick embryo heart rate during the last week of incubation: Population studies. *Brit. Poultry Sci.*, 17, 293-301.
- Limaye D. A., Shaikh Z. A. (1999): Cytotoxicity of cadmium and characteristics of its transport in cardiomyocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 154, 59-66.



- Lin H.,Ciao H. C., Buyse J., Decuyper E. (2006): Strategies for preventing heat stress in poultry. *World's Poultry Sci. J.* 62, 71-85.
- Lin H. Y., Lu K. H. (2010): Repairing large bone fractures with low frequency electromagnetic fields. *J. Orthop. Res.* 28, 265-270.
- Lis M. W., Sechman A., Pawlak K., Tombarkiewicz B., Niedziółka J. W., Rząsa J. (2009): Effects of *in ovo* exposure to acetylsalicylic acid and hyperthermia on hatchability and thyroid hormone concentrations in newly-hatched chicks. *Bull Vet Inst Pulawy*, 53, 527-534.
- Martelli A., Rousselet E., Dycke C., Bouron A., Moulis J. M. (2006): Cadmium toxicity in animal cells by interference with essential metals. *Biochimie* 88, 1807-1814.
- Martynowicz H., Skoczyńska A. (2003): Effects of cadmium on the vascular endothelium function (in Polish). *Med. Pr.*, 54 (4), 383-388.
- Mlynek V., Skoczyńska A. (2005): Proinflammatory effects of cadmium (in Polish). *Postepy. Hig. Med. Dosw.*, 59, 1-8.
- Nordberg G. F. (2009): Historical perspectives on cadmium toxicology. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 238, 192-200.
- Ohta Y., Kidd M. T. (2001): Optimum site for *in ovo* amino acid injection in broiler breeder eggs. *Poult Sci* 2001, 80, 1425-1429.
- Pawlak K., Niedziółka J., Tombarkiewicz B. (1998): Metody pomiaru pola elektrycznego zarodka kurzego. In: *Mat. Symp. Nauka w Polskiej Zootechnice XXI wieku*. AR Lublin, 303.
- Pawlak K., Niedziółka J., Tombarkiewicz B. (2001a): Urządzenie do pomiaru balistokardiogramu zarodków kurzych. In: *Proceedings of 9th International Symposium Current Problems of Breeding, Health and Production of Poultry*, České Budějovice, 128.
- Pawlak K., Niedziółka J., Tombarkiewicz B., Lis M. (2001b): Wpływ zakłóceń akustycznych na wyniki pomiaru balistokardiogramu zarodka kurzego. *Rocz. Nauk. Zoot.*, 12, 409-413.
- Pawlak K., Niedziółka J., Szymański J. A. (2002): An attempt to use ballistocardiography to monitor the cardiac work of developing chick embryo. *Ann. Anim. Sci.*, 2, 59-65.
- Portier C. J., Wolf M. S. (1998): Assessment of health effects from exposure to power – line frequency electric and magnetic fields (NIEHS working group report). NIECHS EMFRAPID, Research Triangle Park, NC.
- Rajendra P., Sujatha H. N., Devendranath D., Gunasekaran B., Sashidhar R. B., Subramanyam C. (2004): Biological effects of power frequency magnetic fields. Neurochemical and toxicological changes in developing chick embryos. *BioMagnetic Res. Technol.* 2, 1. doi:10.1186/1477-044X-2-1.

Ryan B. M., Symanski R. R., Pomeranz L. E., Johnson T. R., Gauger J. R., Mc Cormick D. L. (1999): Multigeneration reproductive toxicity assessment of 60-Hz magnetic fields using a continuous breeding protocol in rats. *Teratology*, 59 (3), 156-162.

Saito T., Nitta H., Kubo O., Yamamoto S., Yamaguchi N., Akiba S., Honda Y., Hagihara J., Isaka K., Ojima T., Nakamura Y., Mizoue T., Ito S., Eboshida A., Yamazaki S., Sokejima S., Kurokawa Y., Kabuto M. J. (2010): Power- frequency magnetic fields and childhood brain tumors: a case-control study in Japan. *Epidemiol.*, 20 (1), 54-61.

Satarug S., Baker J. R., Urbenjapol S., Haswell-Elkins M., Reilly E. B., Williams D. J., Moore M. R. (2003): A global perspective on cadmium pollution and toxicity in nonoccupationally exposed population. *Toxicol. Lett.*, 137, 65-83.

Savitz D. A., Loomis D. P. (1995): Magnetic field exposure in relation to leukemia and brain cancer mortality among electric utility workers. *Am. J. Epidemiol.*, 15, 141 (2), 123-134.

Schindhelm R. K., Dekker J. M., Nijpels G., Bouter L. M., Stehouwer C. D., Heine R. J., Diamant M. (2007): Alanine aminotransferase predicts coronary heart disease events: a 10-year follow-up of the Hoorn Study. *Atherosclerosis*, 191, 391-396.

Sechman A., Niedziółka J., Lis M., Rzasca J. (2006): Changes in thyroid hormone levels in chicken embryos exposed to extremely low frequency electromagnetic field. *Arch. Geflügelk.* 70, 41-47.

Szymański J. A., Pawlak K., Wasowicz P., Mościcki J. M (2002): Capacitive detection of micromotions: Monitoring ballistics of developing avian embryo. *Rev. Sci. Instrum.*, 73, 3313-3317.

Wonga K. L., Cachia R., Klaassena C. D. (1980): Comparison of the toxicity and tissue distribution of cadmium in newborn and adult rats after repeated administration. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 56, 3, 317-325.

Wood A. W., Armstrong S. M., Sait M. L., Devine L., Martin M. J. (1998): Changes in human plasma melatonin profiles in response to 50 Hz magnetic field exposure. *J. Pineal Res.*, 25, 116-127.

Yahav S., Collin A., Shinder D., Picard M. (2004): Thermal manipulations during broiler chick embryogenesis: effects of timing and temperature. *Poult Sci*, 83, 1959-1963.

Yasuda H. A., Yoshida K. A., Yasuda Y. B., Tsutsui T. A. (2012): Two age-related accumulation profiles of toxic metals. *Curr. Aging Sci.*, 5 (2), 105-111.

Zachariassen R. D., Newcomer W. S. (1975): Influence of corticosterone on the stress-induced elevation of phenylethanolamine- N-methyl transferase in the avian adrenal. *Gen Comp Endocrinol*, 25, 332-338.

## **5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych**

### **a) Pozostałe obszary badań**

Badania nad wpływem pól elektromagnetycznych na organizmy zwierząt.

W wyniku prowadzonych badań stwierdzono:

a) Pole elektromagnetyczne o częstotliwości 50 Hz (170 mV i 1600 nT) emitowane w trakcie procesu inkubacji piskląt kurzych powoduje 24-godzinne opóźnienie procesu wylęgu, nie wpływając jednocześnie na procent wylęgowości i występowanie wad rozwojowych.

*Effect of artificial electromagnetic fields of chicken embryo and chicks.* Niedziółka J., Borzemska W., Malec H., **Pawlak K.**, *Arch. Geflügelk.*, 1998, 62 (5), 234-236.

b) Emisja pola magnetycznego o częstotliwości 50 Hz i indukcji 10  $\mu$ T w trakcie procesu inkubacji powoduje u zarodków kurzych wzrost synchronizacji procesu wykluwania, natomiast u zarodków przepiórczych następuje rozsynchronizowanie procesu wykluwania się piskląt.

*Różnice w przebiegu klucia się piskląt przepiórki japońskiej (Coturnix coturnix japonica) i kury domowej (Galus Galus) w polu magnetycznym.* Lis M., Niedziółka J., Tombarkiewicz B., **Pawlak K.**, *Rocz. Nauk. Zoot.*, 2003, 17, 747-750.

c) U zarodków przepiórczych rozwijających się w jajach, które były przechowywane w magazynie przez okres 6 dni, w grupie poddanej działaniu PEM o częstotliwości 50 Hz i indukcji 10  $\mu$ T, stwierdzono wyższą wylęgowość niż w grupie embrionów inkubowanych w warunkach standardowych. Nie stwierdzono wpływu badanego pola na ilość występowania wad rozwojowych embrionów przepiórczych.

*Wrażliwość zarodków przepiórki japońskiej (Coturnix coturnix japonica) na dodatkowe pole magnetyczne (50 Hz) w zależności od czasu przechowywania jaj. 1. Wpływ na wylęgowość i uszkodzenia zarodków.* Lis M. W., Niedziółka J. W. **Pawlak K.**, Roman T., *Zesz. Nauk. AR Wroc. Seria Zoot.*, 2004, L II, Nr 505, 155-161.

d) Stosując geomagnetometr do pomiarów pola magnetycznego Ziemi (PGM) nad siedliskami jeleni, dzików, borsuków, wydr i lisów stwierdzono, że zwierzęta wolno żyjące przy wyborze miejsc legowiskowych czy zakładaniu nor kierują się również stanem PGM. Uzyskane wyniki wykazały, że jelenie, dziki i wydry na miejsca legowiskowe i nory preferują tereny wolne od zaburzeń PGM, natomiast borsuki zakładają nory na terenach o niejednorodnym polu geomagnetycznym.

***Wpływ zaburzeń pola geomagnetycznego na lokalizację nor i miejsc legowiskowych wybranych gatunków zwierząt wolno żyjących.*** Tombarkiewicz B., Pawlak K., Lis M., Niedziółka J., Act. Sc. Pol. 2010. 239-250

e) Stwierdzono, że u zarodków oraz u piskląt kurzych, które w okresie embriogenezy były poddane działaniu PEM o częstotliwości 1800 MHz i gęstości mocy  $0,1 \text{ W/m}^2$ , następuje znaczący spadek stężenia tyroksyny (T4), trójiodotyroniny (T3) oraz wzrost stężenia kortykosteronu (CORT). Największy spadek stężenia T4, T3 oraz wzrost stężenia CORT zaobserwowano w grupie piskląt będących bezpośrednio po wylęgu. Może to świadczyć o akumulacyjnym działaniu pola elektromagnetycznego na oś podwzgórze-przysadka-tarczyca. Natomiast nie stwierdzono zmian w poziomie badanych hormonów u ptaków dojrzałych ubojowo, które w trakcie embriogenezy poddane były działaniu PEM.

***Plasma thyroid hormones and corticosterone levels in blood of chicken embryos and post hatch chickens exposed during incubation to 1800 MHz electromagnetic field.*** Pawlak K., Sechman A., Nieckarz Z., Int. J. Occup. Med. Environ. Health., 2014, 27 (1), 114-122.

Tematyka wpływu pól elektromagnetycznych na zwierzęta była realizowana również w ramach dwóch projektów badawczych:

**Zarodek kurzy jako model w badaniach nad wpływem pól elektromagnetycznych o częstotliwościach radiowych na proces embriogenezy** NN 311536340 – kierownik projektu.

**Wpływ zaburzeń pola geomagnetycznego wywołanych metalowymi elementami konstrukcji i wyposażenia budynku na organizmy zwierząt** Nr 2 P06Z 047 28 – wykonawca projektu.

Prowadzenie badań z zakresu pól elektromagnetycznych zaowocowało również przyznaniem mi stypendium Rektora Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie.

Pawlak