



Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
Σχολή Γεωπονικών Επιστημών
Τμήμα Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος

Διπλωματική Εργασία

" Τα μελανομακροφάγα κέντρα ως δείκτης υγείας σε άγριους πληθυσμούς σαργών
(*Diplodus sargus* L.)"

Γεώργιος Ντε Βρις

Βόλος 2020

Τα μελανομακροφάγα κέντρα ως δείκτης υγείας σε άγριους πληθυσμούς σαργών (*Diplodus sargus* L.)

(Melanomacrophage centers as health index in wild population of *Diplodus sargus* L.)

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια:

Ε. Γκολομάζου, Επίκουρη Καθηγήτρια Π.Θ.

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

1. Γκολομάζου Ελένη, Προστασία-Ευζωία Ιχθύων, Επ. Καθηγήτρια ΠΘ, Επιβλέπουσα
2. Παναγιωτάκη Π., Υδατοκαλλιέργειες, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΠΘ, Μέλος
3. Πούλος Κωνσταντίνος, Ιχθυοπαθολογία, Επ. Καθηγητή, Τμήμα Ζωικής Παραγωγής, Αλιείας και Υδατοκαλλιεργειών, Παν. Πατρών, Μέλος

.....

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην επιβλέπουσά μου, Δρ Ε. Γκολομάζου, η οποία μου έδωσε την δυνατότητα να ξεκινήσω μαζί της αυτή τη Διπλωματική Εργασία. Μου πρόσφερε μια προοπτική, καθορίζοντας έτσι την μελλοντική μου πορεία και τις μελλοντικές μου επιλογές. Την ευχαριστώ επίσης για την άριστη καθοδήγησή της καθ' όλη τη διάρκεια της διεξαγωγής της πειραματικής διαδικασίας και της συγγραφής της εργασίας, τις εύστοχες παρατηρήσεις και τις υποδείξεις.

Ευχαριστώ θερμά τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής, για την πρόθυμη συνδρομή τους τόσο σε επιστημονικά όσο και σε τεχνικά θέματα που με απασχολούσαν. Ευχαριστώ επίσης την κα Ε. Αντωνιάδου, για την συμβολή της στη διεξαγωγή των απαραίτητων πειραμάτων και μετρήσεων.

Επιθυμώ τέλος να ευχαριστήσω από καρδιάς την οικογένειά μου, που στάθηκε το στήριγμά μου σε όλη την πορεία των σπουδών μου. Τους γονείς μου, Ρέινολντ και Σωτηρία, που με την αμέριστη αγάπη, φροντίδα και συμπαράστασή τους ήταν δίπλα σε κάθε βήμα μου. Ιδιαίτερα ευχαριστώ την μητέρα μου, που δεν με άφησε ποτέ να απογοητευτώ και με την εμπειρία της συνέβαλλε επιστημονικά στην εργασία αυτή. Επίσης, τον αδελφό μου, Αλέξανδρο, που με παρότρυνε και με ενθάρρυνε κάθε στιγμή.

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	4
1. Εισαγωγή.....	5
1.1. Τί είναι τα μελανομακροφάγα κέντρα.....	7
1.2. Αιτίες εμφάνισης.....	8
1.3. Σε ποιά όργανα εμφανίζονται.....	11
1.4 Σε ποια είδη εμφανίζονται.....	12
1.5 Τα μελανομακροφάγα κέντρα ως δείκτες περιβαλλοντικού στρες.....	13
1.6 Τα μελανομακροφάγα κέντρα και μολυσματικές ασθένειες.....	14
1.7 Περιγραφή του είδους <i>Diplodus annularis</i>	15
Σκοπός.....	17
2. Υλικά και Μέθοδοι.....	18
2.1 Εργαλεία που χρησιμοποιήθηκαν:.....	18
2.2 Πειραματικά ψάρια.....	19
2.3 Παρασιτολογική εξέταση.....	20
2.4 Εξωτερική παρασιτολογική εξέταση.....	20
2.5 Εσωτερική παρασιτολογική εξέταση.....	20
3. Αποτελέσματα.....	22
3.1 Αποτελέσματα για χειμερινά είδη.....	23
3.2 Αποτελέσματα για ανοιξιότικα είδη.....	23
3.3 Παρατήρηση μελανομακροφάγων στο μικροσκόπιο.....	24
4. Συζήτηση.....	28
Βιβλιογραφία.....	32

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα μελανομακροφάγα κέντρα (MMC) είναι διακεκριμένες ομάδες κυττάρων που περιέχουν χρωστικές και απαντώνται γενικά εντός της ενδοθηλιακής μήτρας υποστήριξης των αιμοποιητικών ιστών. Εντοπίζονται σε διάφορα όργανα όπως στον σπλήνα, στο νεφρό, στο ήπαρ και σε πολλά άλλα σημεία, όπως στις γονάδες, στον θυρεοειδή και στον θύμο αδένα. Η γενική λειτουργία των MMC είναι η καταστροφή, η αποτοξίνωση ή η ανακύκλωση ενδογενών και εξωγενών ουσιών καθώς επίσης διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο ως απάντηση σε ξένα σώματα, συμπεριλαμβανομένων των μολυσματικών παραγόντων. Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν η μελέτη των μελανομακροφάγων κέντρων του άγριου σπάρου *Diplodus annularis*, δείγματα του οποίου αλιεύθηκαν από την περιοχή του Παγασητικού κόλπου. Χρησιμοποιήθηκαν χειμερινά και εαρινά δείγματα και στόχος ήταν η καταγραφή μελανομακροφάγων κέντρων που ανιχνεύτηκαν στα εξεταζόμενα ψάρια, καθώς επίσης ο υπολογισμός του ποσοστού προσβολής, της έντασης και της συχνότητας εμφάνισής τους. Τα αποτελέσματα έδειξαν αύξηση της συχνότητας εμφάνισης των μελανομακροφάγων κέντρων στα εαρινά δείγματα σε σύγκριση με τα χειμερινά. Αν και η έρευνα πραγματοποιήθηκε σε άγρια ψάρια, η συγκεκριμένη μελέτη σχετίζεται άμεσα με τα εντατικά εκτρεφόμενα ψάρια του ίδιου είδους, δεδομένου του ότι ο σπάρος είναι εμπορικό είδος και εκτρέφεται εντατικά σε ιχθυοκαλλιέργειες.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΑΓΓΛΙΚΑ

Melanomacrophage centers (MMC) are distinct cell groups containing pigments, that are found inside the supportive endothelial womb of the

haematopoietic tissue. They are located in different organs like the spleen, the kidney, the liver but also in many others like the gonads, the thyroid and the thymus gland. The general function of the MMC is the elimination, detoxification or the recycling of endogenous and exogenous substances while they also perform an important role as a response to foreign organisms, including the infectious types. The goal of this thesis was the study of melanomacrophage centers of the wild bream *Diplodus annularis*, samples of which were taken from the Pagasitic gulf in Greece. Winter and spring samples have been used and the goal was the documentation of melanomacrophage centers that have been found in fish samples, the calculation of the damage percentage as well as the intensity and frequency of their occurrence. The results have shown an increase of the MMC's frequency occurrence in spring samples in comparison to the winter samples. Even though the research focused solely on bream fish living in the wild, this particular study is directly relevant for the intensive production of fish in aquacultures of the same species, given that bream is a commercial species and is being produced intensively in aquacultures.

1. Εισαγωγή

Στη διάρκεια του προηγούμενου αιώνα η επιστήμη της ιχθυοπαθολογίας γνώρισε μεγάλη ανάπτυξη κυρίως λόγω της παράλληλης ανάπτυξης και εντατικοποίησης των ιχθυοκαλλιεργειών. Σκοπός της επιστήμης αυτής είναι η προστασία όχι μόνο των ιχθυοπληθυσμών αλλά και της διασφάλισης της υγείας των καταναλωτών. Μεταξύ των διαφόρων κλάδων της πολύπλευρης

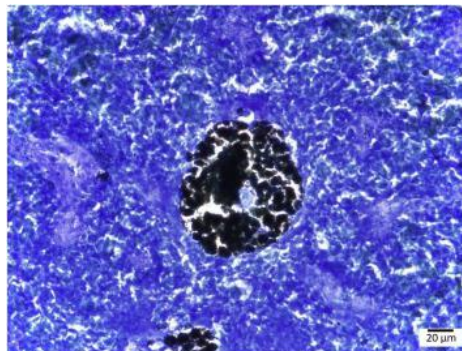
αυτής επιστήμης η παρασιτολογία κατέχει σημαντικότερη θέση και προσελκύει έντονα τους ερευνητές λόγω της σημαντικότητας των παρασίτων ως ιχθυοπαθογόνα. Η επιστήμη της παρασιτολογίας ως κλάδος της ιχθυοπαθολογίας έχει ως σκοπό την αναγνώριση και λεπτομερή καταγραφή των παρασίτων των ιχθύων με απώτερο στόχο την προστασία των εκτρεφόμενων αλλά και ελεύθερων ιχθυοαποθεμάτων και τη μείωση των οικονομικών απωλειών.

Οι ιστοί των ποικιλόθερμων διακρίνονται ιδιαιτέρως από τους ιστούς ανώτερων ζώων με την ευρεία κατανομή των κυττάρων που περιέχουν χρωστικές ουσίες εντός αυτών. Εκτός από τα κύτταρα χρωστικής του δέρματος, τα οποία είναι κατά κύριο λόγο δερματικά, περιέχουν κύτταρα που περιέχουν χρωστικές στο περιτόναιο, γύρω από τα αιμοφόρα αγγεία και τα λεμφικά, στο στρώμα του αιμοποιητικού ιστού και στις πληγές που θεραπεύουν.

Τα μελανομακροφάγα κέντρα (MMC) είναι διακεκριμένες ομάδες κυττάρων που περιέχουν χρωστικές, που απαντώνται γενικά εντός της ενδοθηλιακής μήτρας υποστήριξης των αιμοποιητικών ιστών (Εικόνα 1). Στους τελεόστεους, η αιμοποίηση γίνεται κυρίως μέσα στο στρώμα του σπλήνα και στο ενδιάμεσο του νεφρού. Σε μικρότερο βαθμό υπάρχει και ένα στοιχείο της αιμοποίησης στις περιοχές γύρω από την πύλη του ήπατος, στον εντερικό υποβλεννογόνο και στον θύμο, όπου μπορούν επίσης να εμφανιστούν μελανομακροφάγα κέντρα. Υπάρχουν επίσης αναφορές για περιστασιακή εμφάνισή τους σε βράγχια, εγκέφαλο και γονάδες. Τα τυχαία κέντρα μελανο-μακροφάγου μπορεί επίσης να αναπτυχθούν μέσα σε περιοχές χρόνιων φλεγμονωδών βλαβών (Agius and Roberts, 2003).

1.1. Τί είναι τα μελανομακροφάγα κέντρα

Τα μελανομακροφάγα κέντρα, τα οποία είναι γνωστά και ως μακροφάγα συσσωματώματα, είναι χαρακτηριστικές ομάδες κυττάρων που περιέχουν χρωστική ουσία μέσα στους ιστούς των ποικιλόθερμων σπονδυλωτών καθώς και στα εσωτερικά όργανα των ψαριών, των αμφιβίων και των ερπετών. Πρόκειται για φαγοκύτταρα που περιέχουν ποικίλη ποσότητα χρωστικής, όπως μελανίνη, αιμοσιδερίνη ή λιποφουσκίνη, μέσα σε κενοτόπια. Στους περισσότερους τελεόστεους ιχθύες, τα μελανομακροφάγα κύτταρα, σχηματίζουν ευδιάκριτες, κλεισμένες σε κάψα (θήκη) εστίες, που καλούνται μελανομακροφάγα κέντρα και τα οποία συχνά εντοπίζονται κοντά σε αγγεία αίματος (Εικόνα 1) (Agius and Roberts, 2003).



Εικόνα 1 Μελανομακροφάγο κέντρο (MMCs)

Τα μακροφάγα των μελανομακροφάγων κέντρων φέρουν διαφορετικούς τύπους χρωστικών ουσιών. Παρά το όνομά τους, η κυρίαρχη χρωστική ουσία στα κύτταρα αυτά είναι η λιποφουσκίνη (Agius and Roberts, 2003), ένας μη αποικοδομήσιμος μεταβολίτης της υπεροξειδωσης των ακόρεστων λιπαρών οξέων που συσσωρεύεται σε μη διαιρούμενα κύτταρα απουσία επαρκούς ποσότητας βιταμίνης E. Η δεύτερη πιο συχνή χρωστική ουσία είναι μελανίνη, η

οποία θεωρείται ότι προέρχεται από εξωγενείς πηγές και / ή μπορεί να δημιουργηθεί μέσα στα κύτταρα. Η αιμοσιδρίνη, η λιγότερο κοινή από τις χρωστικές ουσίες, είναι μια μορφή ενδοκυτταρικής αποθήκευσης σιδήρου που σχηματίζεται κατά τη διάρκεια της διάσπασης της αιμοσφαιρίνης και χρησιμεύει ως ενδιάμεσο στάδιο στην ανακύκλωση του σιδήρου (WilsonGó Manrique et al., 2019).

Η μορφολογική εμφάνιση των MMC μπορεί να ποικίλει ανάλογα με τα είδη. Η εμφάνισή τους μπορεί επίσης να διαφέρει στο ίδιο είδος, ανάλογα με το όργανο και τις φυσιολογικές συνθήκες όπως η ηλικία, η διατροφική κατάσταση και ο τύπος ιστού (WilsonGó Manrique et al., 2019).

1.2. Αιτίες εμφάνισης

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η γενική λειτουργία των MMC είναι η καταστροφή, η αποτοξίνωση ή η ανακύκλωση ενδογενών και εξωγενών ουσιών, όπως το απορριφθέν υλικό που προέρχεται από την ερυθροκυτταρική και την κυτταρική μεταβολική δραστηριότητα. Επιπλέον, οι MMC διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο ως απάντηση σε ξένα σώματα, συμπεριλαμβανομένων των μολυσματικών παραγόντων ή της ανοσοποιητικής κατάστασης (WilsonGó Manrique et al., 2019).

Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι μικρά κυκλοφορούντα λεμφοκύτταρα μεταναστεύουν σε MMCs στα οποία αλληλεπιδρούν με αντιγόνα, πράγμα που υποδηλώνει ότι υπάρχει τοπική αλληλεπίδραση μεταξύ των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος και των αντιγόνων κατά την ανοσοαπόκριση. Υπάρχουν στοιχεία που υποδηλώνουν ότι οι MMCs είναι οι κύριες τοποθεσίες

για μακροπρόθεσμη κατακράτηση αντιγόνου, γεγονός που ευνοεί την αλληλεπίδραση μεταξύ αυτών και των λεμφοειδών κυττάρων. Άλλες μελέτες έχουν δείξει μια συσχέτιση μεταξύ της εμφάνισης MMC και υψηλού αριθμού ανθεκτικών ενδοκυτταρικών βακτηρίων, όπως μυκοβακτηρίδια και παράσιτα όπως *Mycobolus* spp. (Wilson Gó Manrique et al., 2019).

Αυξημένος αριθμός MMC παρατηρήθηκε στον σπλήνα και στους νεφρούς δεκαέξι εβδομάδες μετά την ενδοπεριτοναϊκή έγχυση ενός εμβολίου κατά του *Aeromonas salmonicida* στον σολομό Ατλαντικού (*Salmo salar*), μαζί με την παρουσία ανοσοσυμπλεγμάτων και την παραγωγή υψηλών επιπέδων αντισωμάτων. Αυτό υποδηλώνει ότι η συγκράτηση αντιγόνου και η συνακόλουθη ενεργοποίηση μακροφάγων σε MMCs είναι σημαντικές για την ανοσολογική μνήμη που λειτουργεί ως ένα είδος ισοδύναμου με τα βλαστικά κέντρα (Gómez Manrique et al., 2019).

1.2.1 Αιτίες εμφάνισης των χρωστικών των μελανομακροφάγων κέντρων

Εντός των μακροφάγων, η πιο άφθονη χρωστική ουσία είναι η λιποφουσκίνη. Ακολουθεί η μελανίνη και η αιμοσιδιρίνη εντοπίζεται σε μικρές ποσοότητες, ωστόσο, μπορεί να αυξηθεί υπό ορισμένες συνθήκες, όπως η αιμολυτική αναιμία.

Λιποφουσκίνη

Η λιποφουσκίνη προκύπτει από τον οξειδωτικό πολυμερισμό πολυακόρεστων λιπαρών οξέων. Αυτή η χρωστική μπορεί να συσσωρευτεί σε ψάρια ως αποτέλεσμα διατροφικών ελλείψεων. Αυξημένη εναπόθεση της λιποφουσκίνης κατά τη διάρκεια της καχεξίας παρατηρείται σε όργανα άλλων

ζωικών ειδών συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου. Ο σχηματισμός της χρωστικής λιποφουσκίνης φαίνεται να συνεπάγεται υπεροξειδωση πολυακόρεστων λιπιδίων των κυτταρικών μεμβρανών. Τα ψάρια, με την υψηλή τους περιεκτικότητα σε ακόρεστα λιπαρά οξέα και τα σχετικά χαμηλά επίπεδα ιστού της βιταμίνης E, είναι ιδιαίτερα επιρρεπή στον σχηματισμό λιποφουσκίνης. Η απόθεση λιποφουσκίνης στα ψάρια έχει επίσης παρατηρηθεί σε ποικιλία παθολογικών καταστάσεων, συμπεριλαμβανομένων διατροφικών ελλείψεων, βακτηριακών και ιικών ασθενειών και διαταραχών που προκαλούνται από τοξικά υλικά (Agius and Roberts, 2003).

Μελανίνη

Οι μελανίνες είναι πολύπλοκα πολυμερή που μπορούν να απορροφήσουν και να εξουδετερώσουν τις ελεύθερες ρίζες, τα κατιόντα και άλλους δυνητικά τοξικούς παράγοντες, που προέρχονται από την αποικοδόμηση του φαγοκυτταροποιημένου κυτταρικού υλικού. Μία υπόθεση είναι ότι ένας σημαντικός ρόλος για το πολυμερές εντός των μακροφάγων είναι να εξουδετερωθούν οι ελεύθερες ρίζες που απελευθερώνονται ως αποτέλεσμα του καταβολισμού των λιπαρών οξέων που προέρχονται από τη φαγοκυττάρωση των κυτταρικών μεμβρανών σε χαμηλές θερμοκρασίες (Agius and Roberts, 2003).

1.2.2 Ο ρόλος των MMCs στη μη ειδική άμυνα

Τα MMCs, όπως και τα άλλα μακροφάγα, συμμετέχουν στη διαδικασία της φαγοκυττάρωσης. Αποτελούν χώρους αποθήκευσης ουσιών που δεν μπορούν να μεταβολιστούν, γεγονός που τους προσδίδει το χαρακτηριστικό

τους χρώμα. Οι ουσίες αυτές μπορεί να είναι ενδογενούς ή εξωγενούς προέλευσης. Οι ενδογενείς ουσίες προέρχονται μέσω φαγοκυττάρωσης. Ιδιαίτερα έχει βρεθεί ότι η φαγοκυττάρωση ερυθροκυττάρων μπορεί να συμβάλει στην ανακύκλωση του σιδήρου. Οι εξωγενείς ουσίες μπορεί να είναι φυσικής ή πειραματικής προέλευσης, οι οποίες συλλέγονται επίσης μέσα σε MMCs. Οι μεταλλικές αποθέσεις και οι πειραματικά εγχυμένες αδρανείς ουσίες συσσωρεύονται μέσα στα MMCs. Αυτά τα ευρήματα υπογραμμίζουν τη σημασία των MMC για την εκκαθάριση και τη μακροπρόθεσμη αποθήκευση άπεπτων και / ή τοξικών υλικών (Steinel, 2017).

1.2.3 Ο ρόλος των MMCs στην ειδική άμυνα

Τα MMCs συμμετέχουν στους μηχανισμούς μη ειδικής και ειδικής άμυνας. Στα θηλαστικά, τα βλαστικά κέντρα στο σπλήνα έχουν πρωταρχικό ρόλο στη διαφοροποίηση και την κλωνική επέκταση των B-λεμφοκυττάρων μνήμης. Ωστόσο, στους τελεόστεους δεν παρατηρούνται τέτοια κέντρα. Μελέτες έχουν δείξει ότι υπάρχουν αρκετές ομοιότητες των βλαστικών κέντρων των θηλαστικών με τα MMCs που παρατηρούνται στους τελεόστεους, ενισχύοντας την άποψη ότι αποτελούν περιοχές της προσαρμοστικής ανοσοαπόκρισης. Μελέτες που έγιναν σε ψάρια που μολύνθηκαν ή τους χορηγήθηκε κάποιο αντιγόνο, παρουσίασαν MMCs με αυξημένο μέγεθος ή/και σε αριθμό και έδειξαν ότι αποτελούν θέσεις δέσμευσης του αντιγόνου (Steinel, 2017).

1.3. Σε ποια όργανα εμφανίζονται

Μελανομακροφάγα κύτταρα και μελανομακροφάγα κέντρα, απαντώνται στον σπλήνα, στο νεφρό, στο ήπαρ και σε πολλά άλλα σημεία, όπως οι

γονάδες, ο θυρεοειδής και ο θύμος αδένας. Εμφανίζονται σε διάφορα όργανα όπως στον σπλήνα, στο νεφρό, στο συκώτι, στο πάγκρεας. Τα κέντρα μελανο-μακροφάγου είναι διακεκριμένες ομάδες κυττάρων που περιέχουν χρωστικές, που απαντώνται γενικά εντός της δικτυωτού-ενδοθηλιακής μήτρας υποστήριξης των αιμοποιητικών ιστών. Στους τελεόστεους, η αιμοποίηση εντοπίζεται μέσα στο στρώμα της σπλήνας και στο ενδιάμεσο του νεφρού. Σε μικρότερο βαθμό υπάρχει αιμοποίηση στις περιοχές γύρω από την πύλη του ήπατος, στον εντερικό υποβλεννογόνο και στον θύμο, όπου μπορούν επίσης να εμφανιστούν μελανομακροφάγα κέντρα. Υπάρχουν επίσης αναφορές της περιστασιακής εμφάνισής τους σε βράγχια, εγκέφαλο και γονάδες. Τα τυχαία μελανομακροφάγα κέντρα μπορεί επίσης να αναπτυχθούν μέσα σε περιοχές χρόνιων φλεγμονωδών βλαβών (Agius and Roberts, 2003; Tjahjaningsih et al., 2016).

1.4 Σε ποια είδη εμφανίζονται

Ο όρος μελανομακροφάγα περιγράφηκε για πρώτη φορά ως χαρακτηριστικό των τελεόστεων, ωστόσο αντίστοιχες δομές έχουν περιγραφεί και στα χονδροειδή και πρωτόγονα οστεώδη ψάρια, όπου παρατηρήθηκαν κυρίως στο συκώτι. Στα εξελιγμένα οστεώδη ψάρια, σχηματίζουν διακριτά κέντρα στα οποία εντοπίζονται και τα λευκοκύτταρα, αλλά στα σολομοειδή και χονδροειδή ψάρια δεν είναι διακριτά, φέρουν σκούρες χρωστικές και κατανέμονται τυχαία στους ιστούς.

Παρόμοιες δομές έχουν περιγραφεί σε αμφίβια και ερπετά. Μελέτες έδειξαν ότι η σύνθεση μελανίνης γίνεται κατά παρόμοιο τρόπο μέσα στα μακροφάγα με αυτό των ψαριών ωστόσο το μελανογόνο σύστημα διαφέρει (Agius and Roberts, 2003).

Τα μελανομακροφάγα κέντρα έχουν παρατηρηθεί σε πολλά είδη ψαριών όπως είναι στο *Myoxocephalus scorpius*, στο *Rutilus rutilus*, στο *Clarias gariepinus*, στο *Oreochromis niloticus*, στο *Gilthead seabream*, στο *Salmo letnica*, στο *Ictalurus punctatus*, στο *Xiphophorus maculatus*, στο *Diplodus annularis*, στο *Carassius auratus* και στο *Gymnocephalus cernuus*.

1.5 Τα μελανομακροφάγα κέντρα ως δείκτες περιβαλλοντικού στρες

Το στρες είναι υπεύθυνο για την εμφάνιση πολλών ασθενειών στα ψάρια. Σε συνθήκες στρες οι αλλαγές που συμβαίνουν οδηγούν σε μείωση των λεμφοκυττάρων, αύξηση του αριθμού των κοκκιοκυττάρων, αύξηση των μακροφάγων και αυξημένη αποικοδόμηση των ερυθροκυττάρων.

Τα ψάρια που κατοικούν σε ρυπασμένο περιβάλλον μπορούν να αντικατοπτρίζουν τις υποβαθμισμένες περιβαλλοντικές συνθήκες μέσω αλλοιωμένης δραστηριότητας του ανοσοποιητικού συστήματος ή της μη ειδικής άμυνας. Οι μεταβολές στο μέγεθος των MMCs μπορούν να συμβούν φυσιολογικά, σε συνδυασμό με τη γήρανση, αλλά υπάρχουν και πολλές περιπτώσεις όπου παρουσία ρύπων μπορεί να προκληθεί αύξηση του μεγέθους τους ή σε ορισμένες περιπτώσεις μείωση της συχνότητας ή του μεγέθους τους στον σπλήνα ή στους νεφρούς (Agius and Roberts, 2003). Ήδη από το 1995 οι Wolke, George & Blazer (1995) υποστήριξαν πειστικά τη

χρήση τους ως βιοδείκτες για τη μέτρηση των επιδράσεων της περιβαλλοντικής έκθεσης σε ρυπογόνες χημικές ουσίες.

Υπάρχουν πολλές μελέτες που δείχνουν την επίδραση διαφόρων ρύπων στο μέγεθος και στη συχνότητα των MMCs σε διάφορα είδη ψαριών. Ο Suresh (2009) έδειξε ότι η επίδραση με χλωριούχο κάδμιο στο ψάρι *Tilapia mossambica* προκάλεσε αύξηση του αριθμού και του μεγέθους των MMCs στο ήπαρ, στο σπλήνα και στο νεφρό. Πρόσφατη μελέτη προτείνει τα MMCs ως ένα ανοσολογικό βιοδείκτη της τοξικότητας νανοσφαιριδίων ασημιού στο ψάρι *Clarias gariepinus* καθώς ο αριθμός των MMCs αυξήθηκε στο ήπαρ και στο σπλήνα (Sayed et al., 2017). Ακόμη μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι επίδραση χλωριούχου υδραργύρου στο είδος *Cyprinus carpio* προκάλεσε αυξημένη συσσώρευση MMCs στο ήπαρ, στο σπλήνα και στο νεφρό προτείνοντάς τα σαν ένα βιοδείκτη περιβαλλοντικής ρύπανσης (Tjahjaningsih et al., 2016).

1.6 Τα μελανομακροφάγα κέντρα και μολυσματικές ασθένειες

Τα μελανομακροφάγα κέντρα αναπτύσσονται με επίκεντρο τον συνδυασμό με τα τελευταία στάδια της χρόνιας φλεγμονώδους αντίδρασης σε σοβαρή βλάβη ιστού και σε συνδυασμό με την κυτταρική απόκριση σε μια ποικιλία λοιμώξεων. Τα μακροφάγα του νεφρού παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο ως θέσεις για τον ενδοκυτταρικό πολλαπλασιασμό των βακτηρίων, στην παθογένεση ορισμένων χρόνιων καταστάσεων όπως η φυματίωση, και στη βακτηριακή νεφρική νόσο. Με τον ενδοκυτταρικό πολλαπλασιασμό των ιδιαίτερα ανθεκτικών βακτηρίων στα μακροφάγα, αυτά αναπτύσσονται για να

γίνουν τα χαρακτηριστικά σπληνικών και νεφρικών κοκκιωμάτων από τέτοιες χρόνιες παθήσεις (Agius and Roberts, 2003).

Όπως οι βακτηριακές λοιμώξεις, πολλές λοιμώξεις από ιούς έχουν μια προτίμηση για τους αιμοποιητικούς ιστούς των ψαριών και γενικά προκαλούν εστίες ή πιο εκτεταμένες ζώνες οξείας νέκρωσης. Αυτά περιλαμβάνουν πάντα μελανομακροφάγα στοιχεία, αλλά αυτό συνήθως φαίνεται να έχει ως αποτέλεσμα την καταστροφή τέτοιων κέντρων μαζί με τα άλλα αιμοποιητικά στοιχεία. Σε τέτοιες περιπτώσεις, υπάρχει συνήθως μια έντονη παρουσία χρωστικής μελανίνης στα μακροφάγα του κυκλοφορούντος αίματος, η οποία παρατηρείται εύκολα σε τμήματα.

Παρόμοια νέκρωση μελανομακροφάγων κέντρων μαζί με άλλα στοιχεία ιστού επίσης εμφανίζεται σε μυκητιακές μολύνσεις, ιδιαίτερα του νεφρού, όπου τα μεγάλα μυκητιακά κοκκιώματα μετατοπίζονται ή καταστρέφονται τόσο στους νεφρούς όσο και στους αιμοποιητικούς ιστούς (Agius and Roberts, 2003).

1.7 Περιγραφή του είδους *Diplodus annularis*

Ο σπάρος *Diplodus annularis* (Εικόνα 2) έχει σώμα οβάλ, με γυαλιστερό χρώμα και το μήκος του φθάνει τα είκοσι εκατοστά, ενώ, το πλάτος του είναι αρκετά μεγάλο. Υπάρχει μια μαύρη γραμμή στην ουρά και δίπλα στο κεφάλι και κιτρινωπό χρώμα στα κάτω πτερύγια και πάνω από τα μάτια του. Σε κάθε γνάθο υπάρχουν 8 ισχυρά δόντια από τα οποία τα πλευρικά είναι πιο μικρά.



Εικόνα 2 Ο σπάρος *Diplodus annularis*

Τα θωρακικά πτερύγια έχουν μήκος περίπου όσο αυτό του κεφαλιού ενώ τα κοιλιακά πτερύγια είναι πολύ μικρά. Το ρύγχος του είναι δυνατό και έχει λεπτά χείλη. Σε κάθε σιαγώνα υπάρχουν 8 ανισομεγέθεις κοπτήρες καστανού χρώματος με κλίση προς τα έξω, οι οποίοι ακολουθούνται από μια ή δύο σειρές από μικρά μασητικά, πολύ στοιχειώδη, που μεγαλώνουν με την ηλικία.

Το πέρασμα από την ανήλικη στην ενήλικη φάση σημειοδοτείται από έντονες μορφολογικές αλλαγές. Παρατηρείται ενδυνάμωση του ρύγχους. Το σώμα επιμηκύνεται, ενώ ταυτόχρονα παραμένει σταθερό το ύψος του. Η σκούρα ταινία στον ουραίο μίσχο γίνεται έντονη.

Ο σπάρος ζει σε πετρώδεις ή αμμώδεις βυθούς, ανάμεσα σε βράχους καλυμμένους με φύκη ή σε θαλάσσια λιβάδια, μέχρι το βάθος των 150 μέτρων, αλλά απαντάται συνηθέστερα σε βάθος έως 60 μέτρα. Είναι είδος ευρύαλο καθότι τα νεαρά άτομα ζουν σε παράκτια τέλματα και διεισδύουν σε νερά

υφάλμυρα, ενώ τα ενήλικα κατευθύνονται στη ζώνη των βράχων. Είναι παμφάγο· τρέφεται με φύκη, σκώληκες, διάτομα, καρκινοειδή και μαλάκια.

Ο σπάρρος εμφανίζει ερμαφροδιτισμό και η περίοδος αναπαραγωγής είναι τον Απρίλιο ως και Αύγουστο. Τα αυγά που γεννιούνται, είναι επιπλέοντα. Μέχρι την επόμενη άνοιξη τα μικρά έχουν φτάσει τα 5 εκατοστά. Τα βρίσκουμε στις ακτές ή σε υφάλμυρα νερά.

Ψαρεύεται κυρίως από το Μάρτιο έως τον Οκτώβριο. Το ψάρεμά του είναι ημιβιομηχανικό - ημιεντατικό (στη Σικελία), βιομηχανικό και ερασιτεχνικό. Τα εργαλεία που χρησιμοποιούνται είναι δίχτυ μηχανότρατας, λεπτά δίχτυα, δίχτυα παράκτια, με νήμα, καθώς και παραγάδια βυθού, συρόμενα, με πετονιές χειροκίνητες και τέλος παγίδες. Ευκαιριακά παρουσιάζεται στις περισσότερες αγορές, αλλά σπάνια εμπορεύεται φρέσκο στη Γαλλία, στο Ισραήλ και στη Μαύρη Θάλασσα.

Σκοπός

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν η μελέτη των μελανομακροφάγων κέντρων του άγριου σπάρου *Diplodus annularis*, δείγματα του οποίου αλιεύθηκαν από την περιοχή του Παγασητικού κόλπου. Κύριος στόχος ήταν η καταγραφή μελανομακροφάγων κέντρων που ανιχνεύτηκαν στα εξεταζόμενα ψάρια, ο υπολογισμός του ποσοστού προσβολής, της έντασης

και της συχνότητας εμφάνισής τους. Αν και η έρευνα πραγματοποιήθηκε σε άγρια ψάρια, η συγκεκριμένη μελέτη σχετίζεται άμεσα με τα εντατικά εκτρεφόμενα ψάρια του ίδιου είδους, δεδομένου του ότι ο σπάρρος είναι εμπορικό είδος και εκτρέφεται εντατικά σε ιχθυοκαλλιέργειες. Η γνώση λοιπόν των ειδών που απαρτίζουν το παρασιτικό φορτίο καθώς και τα μορφολογικά και βιολογικά τους χαρακτηριστικά, κρίνονται απαραίτητα για την αποφυγή δυσμενών επιπτώσεων από την προσβολή των εντατικά εκτρεφόμενων ψαριών.

2. Υλικά και Μέθοδοι

Εργαλεία

2.1 Εργαλεία που χρησιμοποιήθηκαν:

- Νηστέρι

- Ψαλίδι
- Λαβίδες
- Ιχθυόμετρο
- Ζυγαριά ακριβείας
- Πιπέτες
- Απιονισμένο νερό
- Αντικειμενοφόρος πλάκες
- Επικαλιπτρίδες
- Μικροσκόπιο
- Η/Υ

2.2 Πειραματικά ψάρια

Στο παρόν πείραμα μελετήθηκαν 56 χειμερινά δείγματα και 29 ανοιξιάτικα δείγματα του άγριου σπάρου *Diplodus annularis*, που αλιεύθηκαν στον Παγασητικό κόλπο. Τα ψάρια μετά την αλίευσή τους τοποθετήθηκαν σε κατάψυξη στους -20°C όπου και διατηρήθηκαν μέχρι να γίνει η μικροσκοπική παρατήρηση. Κάθε ψάρι μετά την πλήρη απόψυξη ζυγίζονταν και καταγράφονταν το βάρος του, ενώ παράλληλα μετρούνταν και καταγράφονταν το ολικό και σταθερό του μήκος.

2.3 Παρασιτολογική εξέταση

Αρχικά στα ψάρια πραγματοποιήθηκε παρασιτολογική εξέταση για την ανίχνευση παρασίτων. Τα ψάρια μετά τη διαδοχική εξαγωγή τους από την κατάψυξη υπέστησαν μαζική σταδιακή απόψυξη με σκοπό τη διατήρηση της ποιότητας των δειγμάτων. Η παραπάνω διαδικασία ακολουθήθηκε πιστά για όλα τα ψάρια. Στα ψάρια πραγματοποιήθηκε εξωτερική και εσωτερική παρασιτολογική εξέταση για την ανίχνευση εξωπαρασίτων και ενδοπαρασίτων αντίστοιχα.

2.4. Εξωτερική παρασιτολογική εξέταση

Βράγχια: Τα πρώτα δεξιά και αριστερά βραγχιακά τόξα απομακρύνθηκαν από το σώμα κάθε ψαριού και ξέσματα και των δύο επιφανειών των βραγχιακών τόξων ελήφθησαν σε αντικειμενοφόρες πλάκες, στις οποίες είχε ήδη τοποθετηθεί μια σταγόνα φυσιολογικού ορού και καλύφθηκαν με καλυπτρίδα.

Δέρμα: Στη βάση του ραχιαίου, του κοιλιακού, των πλευρικών και του ουραίου πτερυγίου απομακρύνθηκαν τα λέπια προσεκτικά και με νυστέρι λαμβάνονταν ξέσματα δέρματος παίρνοντας μια μικρή ποσότητα επιθηλιακού ιστού το οποίο τοποθετούνταν στην αντικειμενοφόρο πλάκα, στην οποία είχε ήδη τοποθετηθεί μία σταγόνα φυσιολογικού ορού. Στη συνέχεια καλύφθηκαν με καλυπτρίδα.

2.5. Εσωτερική παρασιτολογική εξέταση

Για την ανίχνευση των ενδοπαρασίτων πραγματοποιήθηκε σε κάθε ψάρι αρχικά μια κάθετη τομή μπροστά από την έδρα, στη συνέχεια ομαλή τομή με

γωνία 45° έως το πάνω άκρο των βραγχιακών τόξων και τομή κατά μήκος του σώματος στο κοιλιακό μέρος έως το ύψος των βραγχίων έτσι ώστε να αποκοπεί ο περιβαλλόμενος από τις τομές μυϊκός ιστός. Με εκτεθειμένα πλέον τα εσωτερικά όργανα ακολούθησε η εσωτερική παρασιτολογική εξέταση. Η εσωτερική παρασιτολογική εξέταση περιλάμβανε λήψη δειγμάτων από εσωτερικά όργανα όπως έντερο, νεφρό, ήπαρ.

Εντερικός σωλήνας: Απομακρύνθηκε όλος ο εντερικός σωλήνας από το στόμαχο μέχρι το απευθυσμένο. Ο εντερικός σωλήνας χωρίστηκε σε δύο ίσα μέρη. Ξέσματα του επιθηλίου του στομάχου, του πρόσθιου και του τελευταίου μισού τμήματος του εντερικού σωλήνα ελήφθησαν σε αντικειμενοφόρες πλάκες, στις οποίες είχε ήδη τοποθετηθεί μία σταγόνα φυσιολογικού ορού και καλύφθηκαν με καλυπτρίδα.

Χοληδόχος κύστη: Η χοληδόχος κύστη απομακρύνθηκε προσεχτικά, έτσι ώστε να μη σπάσει και 3-4 σταγόνες τοποθετήθηκαν σε αντικειμενοφόρο πλάκα και καλύφθηκαν με καλυπτρίδα. Ξέσματα επίσης από το βλεννογόνο εξετάστηκαν με μικροσκοπική παρατήρηση.

Νεφρός: Λήψη κομματιών από τον οπίσθιο νεφρό υπέστησαν λυοτρίβηση σε αντικειμενοφόρες πλάκες και αφού το επίχρισμα καλύφθηκε με ακολούθησε η μικροσκοπική τους εξέταση.

Ανάμεσα στις διαδοχικές λήψεις δειγμάτων τα εργαλεία αποστειρώνονταν με αιθυλική αλκοόλη με σκοπό να αποφευχθεί η μεταφορά παρασίτων από το ένα δείγμα στο άλλο.

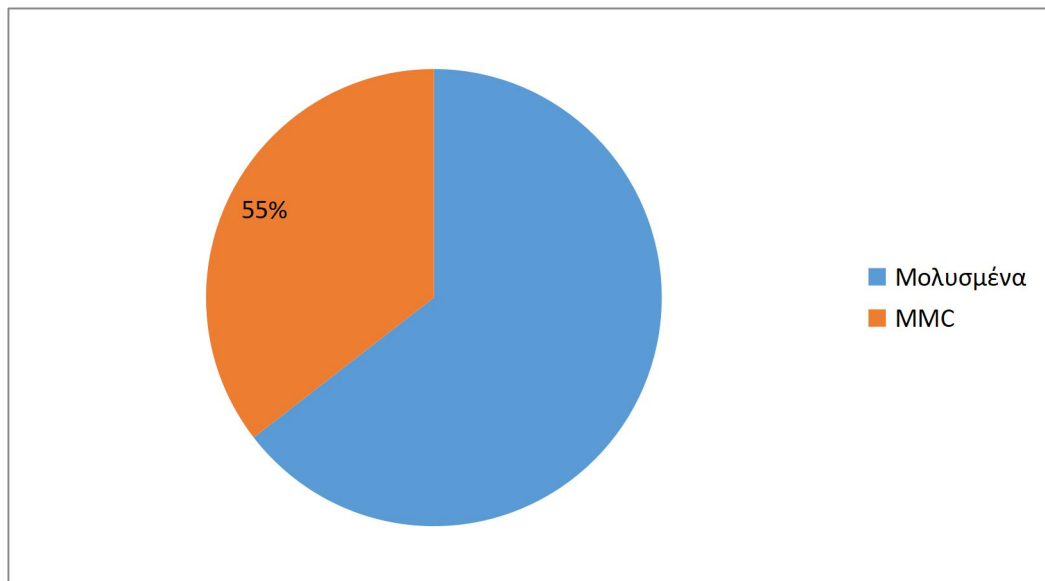
Ήπαρ: Με τη λαβίδα έγινε λήψη δείγματος ήπατος το οποίο στη συνέχεια τοποθετήθηκε σε αντικειμενοφόρο πλάκα με μια σταγόνα νερού και λυοτριβήθηκε με την τοποθέτηση μιας δεύτερης αντικειμενοφόρου πάνω στο δείγμα και την άσκηση πίεσης στην τελευταία.

3. Αποτελέσματα

Μετά την εξέταση των δειγμάτων στο οπτικό μικροσκόπιο εντοπίστηκαν κυρίως μελανομακροφάγα κέντρα (MMCs) στο νεφρό, ενώ πολύ μικρός αριθμός παρασίτων διαφόρων ειδών εντοπίστηκε σε άλλα όργανα, ο οποίος δε θεωρήθηκε σημαντικός.

3.1 Αποτελέσματα για χειμερινά είδη

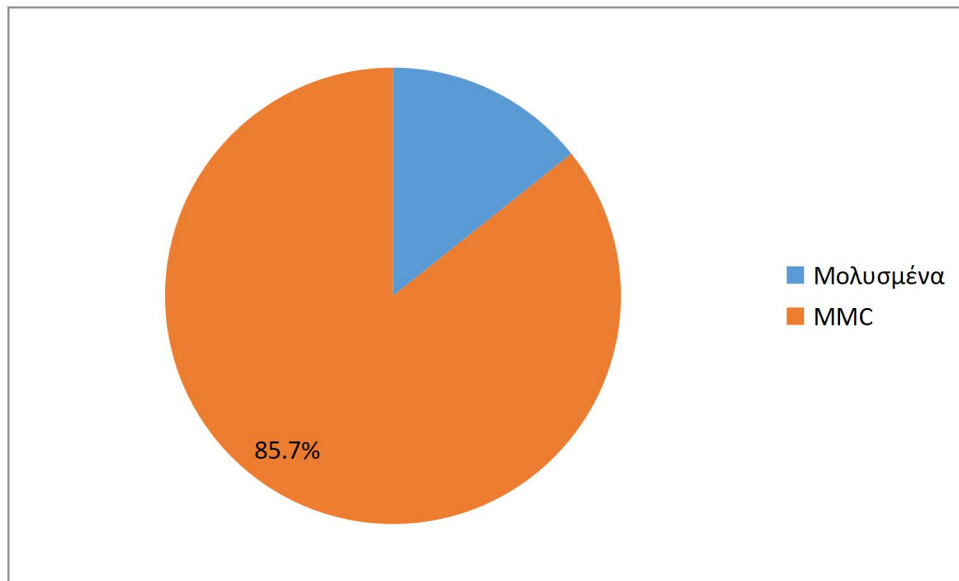
Ο κυριότερος τύπος μόλυνσης ήταν η παρατήρηση MMCs που αντιστοιχεί στο 55% των συνολικών μολυσμένων δειγμάτων (Εικόνα 3).



Εικόνα 3 Ποσοστό εμφάνισης MMCs στο σύνολο των ψαριών

3.2 Αποτελέσματα για ανοιξιόατα είδη

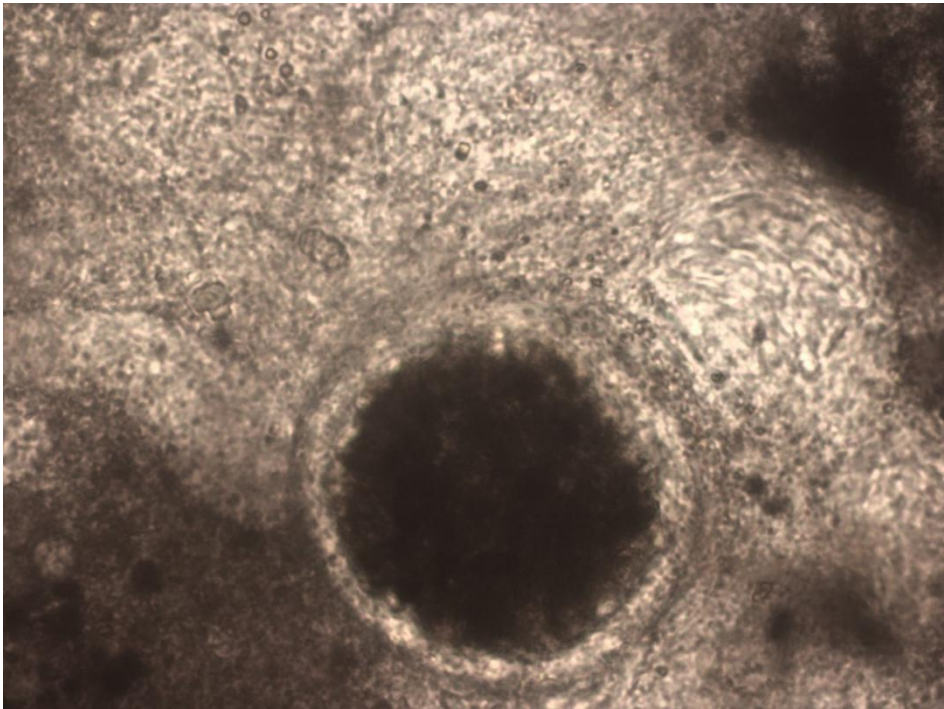
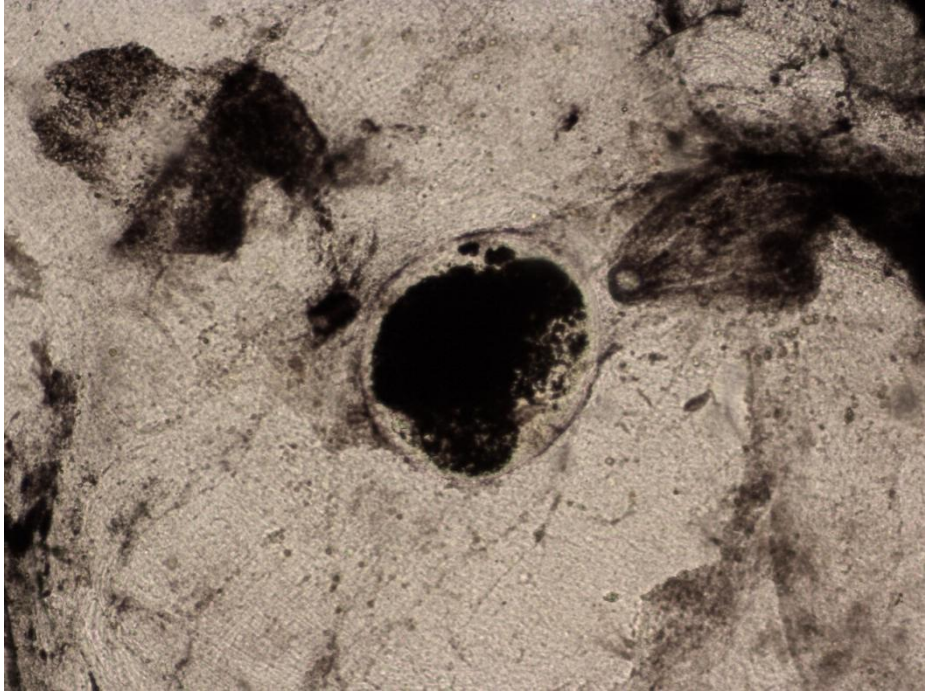
Όπως φαίνεται στην εικόνα 4, η συντριπτική πλειοψηφία των μολυσμένων ψαριών την άνοιξη παρουσίαζαν MMC που αντιστοιχεί στο 85.7%.

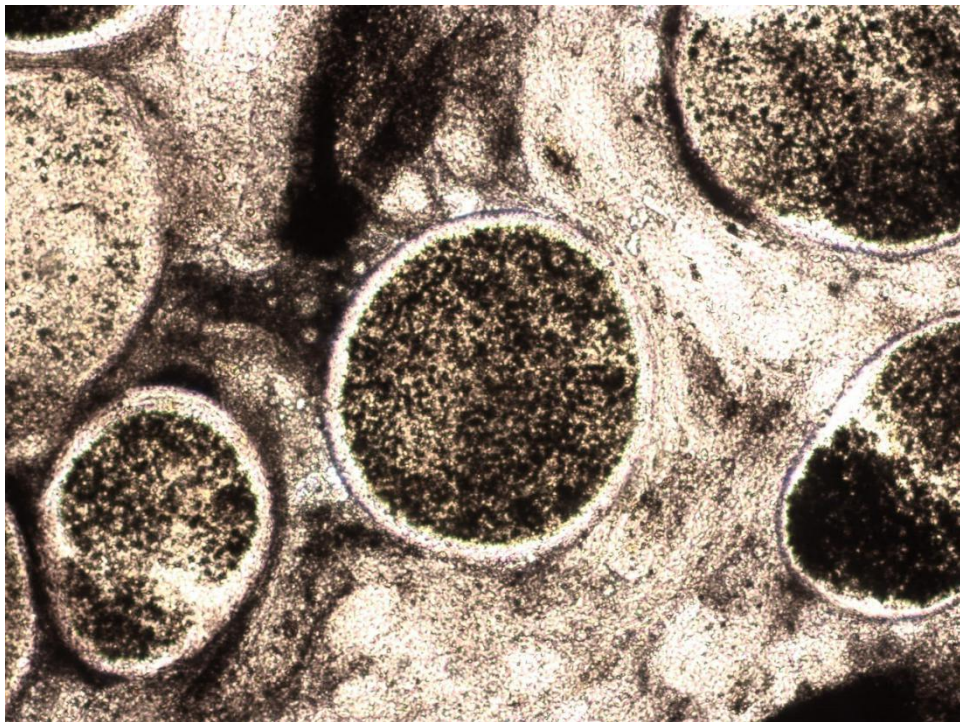
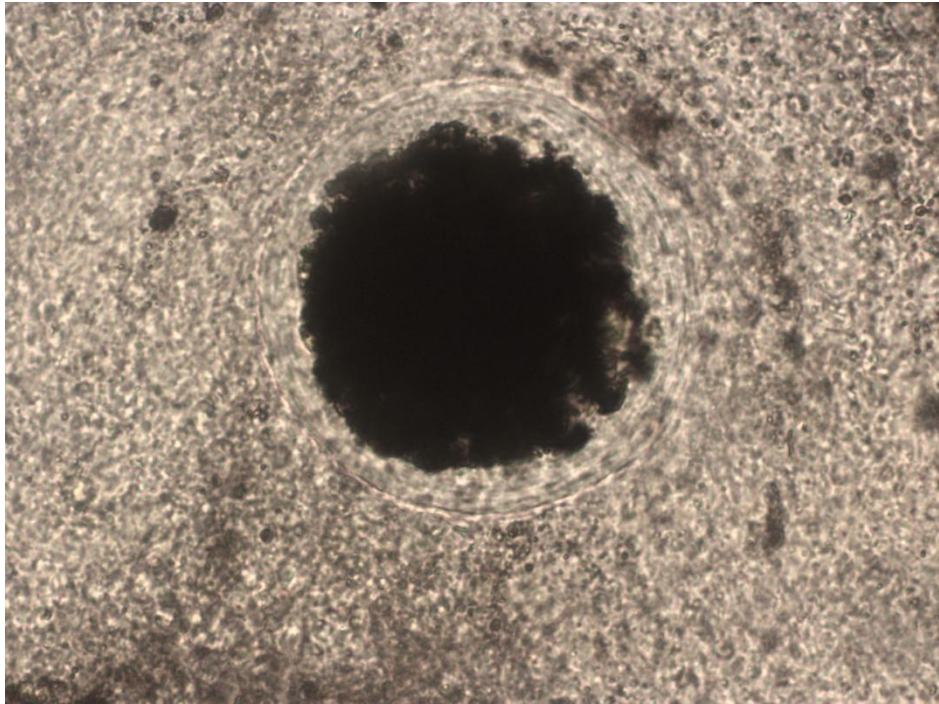


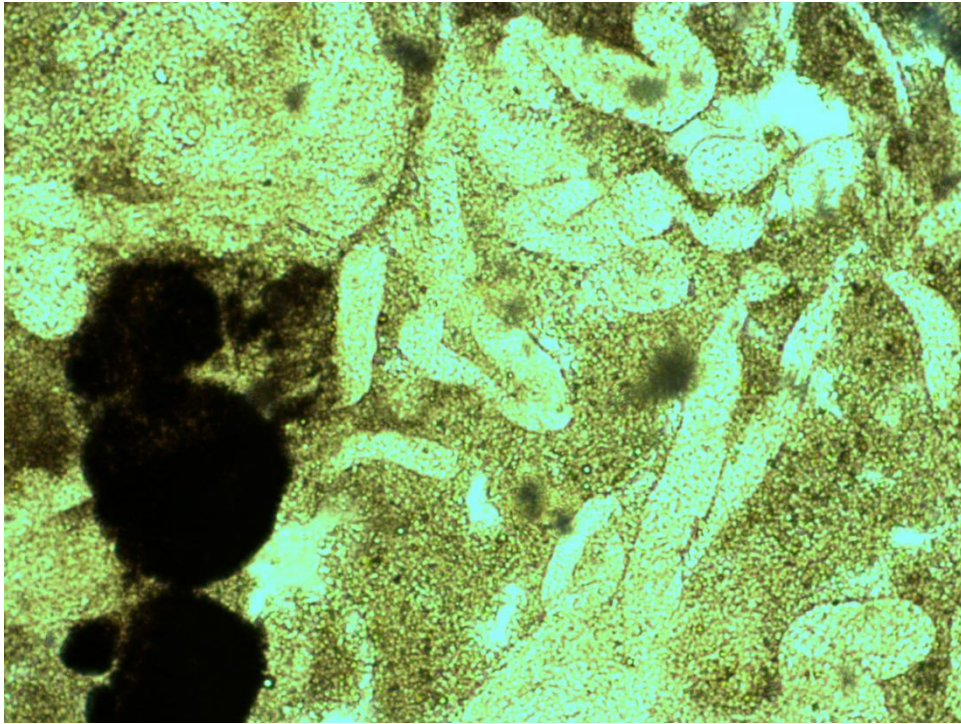
Εικόνα 4 Ποσοστό εμφάνισης MMCs στο σύνολο των μολυσμένων ψαριών

3.3 Παρατήρηση μελανομακροφάγων στο μικροσκόπιο

Μετά την εξέταση των δειγμάτων στο οπτικό μικροσκόπιο μελανομακροφάγα ανιχνεύθηκαν στο νεφρό. Παρακάτω παρουσιάζονται εικόνες από μελανομακροφάγα σε τομές νεφρού στα ψάρια *Diplodus annularis* που αλιεύθηκαν στον Παγασητικό κόλπο, που φαίνονται ως σκουρόχρωμες κηλίδες.







Εικόνα 8. Μικροσκοπική παρατήρηση των MMCs στους νεφρούς του είδους *Diplodus annularis*

4. Συζήτηση

Τα μελανομακροφάγα είναι φαγοκύτταρα με υψηλές ποσότητες χρωστικών, συμπεριλαμβανομένης της μελανίνης, τα οποία μπορούν να βρεθούν σε έναν αριθμό ψυχρόαιμων ειδών. Στους οστεϊχθύες, αυτά τα κύτταρα συσσωρεύονται για να σχηματίσουν τα λεγόμενα μελανομακροφάγα κέντρα (melanomacrophage), τα οποία υπάρχουν κυρίως στο στρώμα των αιματοποιητικών και λεμφοειδών ιστών, δηλαδή στο νεφρό και το σπλήνα. Ο ρόλος τους είναι η συμμετοχή στις αμυντικές αντιδράσεις, που σχετίζονται τόσο με τους έμφυτους όσο και με τους προσαρμοστικούς ανοσοποιητικούς μηχανισμούς, καθώς και σε διαδικασίες που δεν σχετίζονται με τις αμυντικές λειτουργίες.

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας έδειξαν ότι τα MMCs παρατηρήθηκαν τόσο στα χειμερινά όσο και στα ανοιξιάτικα δείγματα σπάρου *Diplodus annularis*, που αλιεύθηκαν από την περιοχή του Παγασητικού κόλπου. Πιο συγκεκριμένα, στα χειμερινά είδη η παρατήρηση MMCs ήταν το κύριο εύρημα με το ποσοστό των MMCs να είναι 55% στο σύνολο των μολυσμένων δειγμάτων. Στα εαρινά δείγματα τα MMCs παρατηρήθηκαν στα 12 (ποσοστό 86%) από τα 14 μολυσμένα ψάρια.

Όπως αναφέρθηκε στην εισαγωγή, τα MMCs αποτελούν εστίες συσσώρευσης μακροφάγων ή μακροφάγων που περιέχουν χρωστική ως αποτέλεσμα φλεγμονής. Επιπλέον, τα MMCs παίζουν ρόλο στον καθαρισμό και την εξάλειψη ξένων σωματιδίων και ως μηχανισμός που συμμετέχει στην έμφυτη ανοσιακή απάντηση, τα MMC χρησιμοποιούνται για αποθήκευση, καταστροφή και αποτοξίνωση εξωγενών και ενδογενών ουσιών.

Επιπλέον, τα μελανομακροφάγα κέντρα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ευαίσθητος δείκτης για επικράτηση συνθηκών στρες εντός του υδάτινου περιβάλλοντος (Ribeiro et al., 2011; Balamurugan. et al., 2012). Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι τα MMCs μπορούν να αποτελέσουν δείκτες μεταβολής των περιβαλλοντικών συνθηκών, και οι μεταβολές τους μπορούν εύκολα να μετρηθούν ως μη ειδικός βιοδείκτης που μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με άλλους ειδικούς βιοδείκτες (Bols et al., 2001). Άλλη μελέτη, προτείνει τα MMCs ως γενικούς δείκτες της έκθεσης των ψαριών σε δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες επιτρέποντας έτσι τη διαμόρφωση των βασικών πληροφοριών που σχετίζονται με σημαντικές περιοχές με διαφορετικά επίπεδα περιβαλλοντικών ζημιών (Furnie et al., 2001). Επιπλέον, πρόσφατη μελέτη (Tjahjaningsih et al., 2016) προτείνει τα MMCs σαν δείκτες επίδρασης χλωριούχου υδράργυρου στο ψάρι *Cyprinus carpio*, καθώς παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση του αριθμού τους σε διάφορα όργανα.

Επιπλέον, βιοδείκτης περιβαλλοντικού στρες μπορεί να αποτελεί και η σύσταση των MMCs σε χρωστικές. Μελέτη στο είδος *Tilapia mossambica* έδειξε ότι τα μελανομακροφάγα κέντρα που παρατηρήθηκαν στο ήπαρ, στο σπλήνα και στους νεφρούς αποτελούνταν από δύο χρωστικές, την αιμοσφαιρίνη και τη μελανίνη ενώ απουσίαζε η λιποφουσκίνη (Suresh, 2009). Ωστόσο, μελέτες σε άλλα είδη και σε διαφορετικές περιοχές έδειξε διαφορετική σύσταση σε χρωστικές γεγονός που υποδηλώνει ότι οι αλλαγές στα MMC και η εμφάνιση διαφορετικών χρωστικών στα MMCs του σπλήνα, των νεφρών και του ήπατος να δείχνουν το είδος του στρες που προκαλείται από τους διάφορους ρύπους ή από τοξικά που υπάρχουν στο υδάτινο περιβάλλον (Suresh, 2009).

Τα MMCs έχουν πολλές δομικές, κυτταρικές και μοριακές ομοιότητες με τα βλαστικά κέντρα των θηλαστικών, υποδηλώνοντας μια εξελικτική σχέση με την προσαρμοστική ανοσία των θηλαστικών. Οι παραλληλισμοί μεταξύ αυτών των δομών οδήγησαν τους ερευνητές να αναγνωρίσουν τις δυνατότητες των MMCs ως ιστολογικού βιοδείκτη ανοσοαπόκρισης των ποικιλόθερμων. Παρά το γεγονός ότι οι περιγραφικές μελέτες έχουν εντοπίσει σημαντικά χαρακτηριστικά των MMCs, απαιτούνται λειτουργικές μελέτες για να επιβεβαιώσουν το ρόλο τους στο προσαρμοστικό ανοσοποιητικό σύστημα. Εάν τέτοιες μελέτες επικυρώσουν αυτό το ανοσολογικό εργαλείο, θα ανοίξουν το δρόμο για συγκριτικές μελέτες της εξελικτικής προέλευσης της ανοσίας των σπονδυλωτών (Steinel and Bolnick , 2017).

Ο ρόλος των MMCs είναι να καταστρέφουν και να αποτοξινώνουν από ενδογενείς και εξωγενείς ουσίες που αναγνωρίζονται ως ξένα σώματα. Αν και τα MMCs χρησιμοποιούνται ως βιοδείκτες υδάτινης ρύπανσης, στρες, περιβαλλοντικών επιπτώσεων και χρόνιας φλεγμονής, οι αλλαγές στα MMCs σχετίζονται με την ηλικία, το φύλο, το είδος, την ορμονική κατάσταση και άλλους παράγοντες. Αύξηση του αριθμού και του μεγέθους των MMCs έχουν παρατηρηθεί μετά από περιβαλλοντική ρύπανση, μόλυνση βαρέων μετάλλων στα ψάρια, ανάλογα με την ποιότητα νερού, μετά από βακτηριακή μόλυνση ψαριών, σε διάφορες ασθένειες ψαριών, έκθεση σε τοξικά φυτικά εκχυλίσματα, μετά την πείνα, μετά από έκθεση σε διχρωμικό κάλιο, σε έλκη ψαριών και παράσιτα ψαριών. Συνήθως, η αύξηση των MMCs σχετίζεται με ιστοπαθολογικές αλλοιώσεις, υποδηλώνοντας το οξειδωτικό στρες που οδηγεί σε συσσώρευση λεμφοκυττάρων, γεγονός που υποδηλώνει τον ρόλο των MMCs στην ανοσοαπόκριση (Sayed and Hala, 2017).

Στην παρούσα μελέτη, υπήρχε μια σημαντική αύξηση του αριθμού των MMC στους νεφρούς. Οπότε, τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας συμφωνούν με την υπάρχουσα βιβλιογραφία καθώς και εδώ παρατηρήθηκε αύξηση του αριθμού των ψαριών με MMCs την άνοιξη σε σύγκριση με τα χειμερινά δείγματα, εποχή που το υδάτινο περιβάλλον επιβαρύνεται με περισσότερους ρύπους που διοχετεύονται στον Παγασητικό κόλπο οπότε ευνοείται και η ανάπτυξη πολλών παθογόνων. Οπότε τα MMCs θα μπορούσαν να αποτελέσουν μη ειδικούς δείκτες ανάπτυξης στρεσογόνων συνθηκών.

Αν και η έρευνα πραγματοποιήθηκε σε άγρια ψάρια, η συγκεκριμένη μελέτη σχετίζεται άμεσα με τα εντατικά εκτρεφόμενα ψάρια του ίδιου είδους, δεδομένου του ότι ο σπάρρος είναι εμπορικό είδος και εκτρέφεται εντατικά σε ιχθυοκαλλιέργειες. Επομένως, η γνώση του ποσοστού εμφάνισης MMCs των ελεύθερων σπάρρων θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για την πρόληψη ή την έγκαιρη διάγνωση μιας παθολογικής κατάστασης σε εκτρεφόμενα ψάρια του ίδιου είδους, έτσι ώστε η τελευταία να αντιμετωπιστεί με όσο το δυνατόν λιγότερες απώλειες.

Βιβλιογραφία

- Agius C., R.J. Roberts, Melano-macrophage centres and their role in fish pathology. *J. 248 Fish Dis.* 26 (2003) 499–509.
- Balamurugan S., Deivasigamani B., Kumaran S., Sakthivel M., Rajsekar T., Priyadharsini, P. Melanomacrophage centers aggregation in *P. lineatus* spleen as bio-indicator of environmental change, *Asian Pac J Trop Dis* 2:S635-S638 (2012).
- Bols N.C., Brubacher J.L., Ganassin, R.C., Lee, L.E. Ecotoxicology and innate immunity in fish, *Dev Comp Immunol* 25:853-873 (2001).
- Fournie J.W., Summers J.K., Courtney L.A., Engle V.D., Blazer V.S. Utility of splenic macrophage aggregates as an indicator of fish exposure to degraded environments, *J Aquat Anim Health* 13:105-116(2001).
- Ribeiro H., Procópio M., Gomes J., Vieira F., Russo R., Balzuweit K., Chiarini-Garcia H., Castro A.C.S. Rizzo E., Corrêa Jr J. D. Functional dissimilarity of melanomacrophage centres in the liver and spleen from females of the teleost fish *Prochilodus argenteus*, *Cell Tissue Res* 346:417-425 (2011).
- Sayed A.H., Hala A.M. Younes Melanomacrophage centers in *Clarias gariepinus* as an immunological biomarker for toxicity of silver nanoparticles Younes / *Journal of Microscopy and Ultrastructure* 5 (2017) 97–104

- Steinel NC and Bolnick DI (2017) Melanomacrophage Centers As a Histological Indicator of Immune Function in Fish and Other Poikilotherms. *Front. Immunol.* 8:827.
- Suresh N. Effect of cadmium chloride on liver, spleen and kidney melano macrophage centres in *Tilapia mossambica* (2009) *Journal of Environmental Biology* 30(4):505-8
- Terman A., U.T. Brunk, Lipofuscin, *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 36 (2004) 1400–1404.
- Tjahjaningsih W., Kustiawan Tri Pursetyo, and Laksmi Sulmartiwi melanomacrophage centers in kidney, spleen and liver: A toxic response in carp fish (*Cyprinus carpio*) exposed to mercury chloride AIP Conference Proceedings 1813, 020012 (2017)
- WilsonGó Manrique, Pereira Figueiredo MA, Charlie-Silva I, Antonio de Andrade Belo M, Dib CC, Spleen melanomacrophage centers response of Nile tilapia during *Aeromonas hydrophila* and *Mycobacterium marinum* infections, *Fish and Shellfish Immunology* (2019),
- Wolke R.E., George C.J. & Blazer V.S. (1995) Pigmented macrophage accumulations (MMC; PMB): possible monitors of fish health. In: *Parasitology and Pathology of the World Oceans* (ed. by W.J. Hargis). NOAA Technical Report, NMFS 25; 27–33. National Marine Fishery Service, Washington, DC.