

Περιεχόμενα

Πρόλογος xvii

Μέρος 1

Κεφάλαιο 1: Επιστήμη των Ζώων Εργαστηρίου- Η αρχή των 3Rs 1

1.1 Ιστορική Εξέλιξη της Επιστήμης των Ζώων Εργαστηρίου 1

1.2 Ο Ρόλος και η σημασία της Χρήσης Ζώων στη Βιοϊατρική Έρευνα 5

1.3 Βασικές Ηθικές Αρχές 7

1.4 Η αρχή των 3Rs (Replacement, Reduction, Refinement) 8

1.4.1 Αντικατάσταση, Μείωση, Βελτίωση (3Rs) 9

1.4.1.1 Αντικατάσταση-(Replacement) 9

1.4.1.2 Μείωση (Reduction) 11

1.4.1.3 Βελτίωση-Εκλέπτυνση (Refinement) 11

1.5 3Vs: Πλαίσιο Επιστημονικής Εγκυρότητας για την Έρευνα σε Ζώα ... 14

1.6 Οδηγία 2010/63/ΕΕ 16

1.6.1 Αξιολόγηση Έργων που Περιλαμβάνουν Πειράματα σε Ζώα 17

1.6.2 Καλή Μεταχείριση των Ζώων 17

1.6.3 Διαδικασίες σε Ζώα κατά τη Διάρκεια του Πειραματισμού 18

1.6.4 Αδειοδότηση 19

1.6.5 Επιθεωρήσεις 19

1.6.7 Διαφάνεια- Υποβολή Εκθέσεων 19

1.6.8 Τροποποιήσεις 20

Κεφάλαιο 2: Ζωικά Μοντέλα στην Βιοϊατρική έρευνα 21

2.1 Ορισμός και σκοπός 21

2.2 Κριτήρια και παράγοντες επιλογής ζωικών μοντέλων 23

2.2.1 Πιστότητα(Fidelity), Ομολογία(Homology), Αναλογία
(Analogy) 24

2.2.2 Βιολογική και Παθοφυσιολογική Ομοιότητα.....	24
2.2.3 Παράγοντες επιλογής	25
2.2.3.1 Γενετική ομολογία και σύνθεση.....	25
2.2.3.2 Ανατομικές ομοιότητες	26
2.2.3.3 Συγκριτική Φυσιολογία	26
2.2.3.4 Ανοσολογική απόκριση.....	27
2.2.4 Ηθικές και πρακτικές θεωρήσεις.....	29
2.2.5 Διαθεσιμότητα ερευνητικών εργαλείων και πόρων	30
2.2.6 Ασφάλεια για το Ερευνητικό Προσωπικό	31
2.2.7 Ισχύς Πρόβλεψης και Μεταφραστικής Συνάφειας	31
2.3 Εννοιολογική κατάταξη και ερευνητική χρήση	32
2.3.1 Κατάταξη	32
2.3.1.1 Ομόλογα μοντέλα	32
2.3.1.2 Ισομορφικά Μοντέλα	33
2.3.1.3 Προγνωστικά Μοντέλα	34
2.3.1.4 Γενετικά τροποποιημένα μοντέλα	34
2.3.1.5 Αυθόρμητα Μοντέλα	35
2.3.1.6 Χειρουργικά ή επαγόμενα μοντέλα.....	36
2.3.1.7 Ανθρωποποιημένα ζωικά μοντέλα.....	36
2.3.1.8 Ορφανά μοντέλα	37
2.3.1.9 Αρνητικά (Nonreactive) Μοντέλα	37
2.3.2 Ερευνητική Χρήση	37
2.3.2.1 Ζωικά Μοντέλα Γενετικής έρευνας.....	37
2.3.2.2 Ζωικά Μοντέλα Καρκίνου	38
2.3.2.3 Ζωικά Μοντέλα Λοιμωδών νοσημάτων.....	39
2.3.2.4 Ζωικά Μοντέλα Μεταβολικών Νοσημάτων	39
2.3.2.5 Ζωικά Μοντέλα στις Νευροεπιστήμες.....	41
2.3.2.6 Ζωικά Μοντέλα Φαρμακολογικής Έρευνας	41
2.3.2.7 Ζωικά Μοντέλα στην Αναγεννητική Ιατρική	42
2.3.2.8 Ζωικά Μοντέλα Κτηνιατρικής έρευνας	43
2.3.3 Ζώα Εργαστηρίου με ελεγχόμενο μικροβίωμα (Gnotobiotic)	45
2.3.3.1 SPF (Specific Pathogen Free) ζώα	46
2.3.3.2 Altered Schaedler Flora (ASF)	47
2.3.3.3 Axenic ή germ-free ζώα	47

Κεφάλαιο 3: Σχεδιασμός, Κατασκευή και Εξοπλισμός Μονάδων	
Εκτροφής Ζώων Εργαστηρίου	49
3.1 Αρχές σχεδιασμού μονάδας εκτροφής	49
3.2 Τύποι Εγκαταστάσεων και Χώρων Στέγασης Ζώων	50
3.2.1 Συμβατική μονάδα στέγασης μονού διαδρόμου	51
3.2.2 Συμβατική μονάδα στέγασης διπλού διαδρόμου	52
3.2.3 Θάλαμοι φραγμού	53
3.2.4 Θάλαμοι περιορισμού	54
3.2.5 Θάλαμοι νηματοειδούς ροής αέρος με ηθμούς HEPA	55
3.2.6 Χώρος καραντίνας	56
3.2.7 Χώρος απομόνωσης	57
3.2.8 Χώρος εγκλιματισμού	57
3.2.9 Χώρος αποθήκευσης τροφής	58
3.2.10 Χώρος αποθήκευσης στρωμνής	59
3.2.11 Χώρος αποθήκευσης καθαρών αντικειμένων	60
3.2.12 Χώρος καθαρισμού (πλυντηρίων)-αποστείρωσης	61
3.2.13 Χώροι διαγνωστικής-εργαστηριακής υποστήριξης	62
3.2.14 Χώροι προσωπικού	63
3.2.15 Χώρος ασφαλείας	64
3.2.16 Χώρος κλιματιστικών μηχανημάτων	65
3.2.17 Χώρος αποθήκευσης υλικών καθαρισμού	66
3.2.18 Χώρος νεκροψίας - ανατομικής και κλινικής παθολογίας	67
3.2.19 Χώρος αποτεφρωτήρων	67
3.2.20 Χώρος πειραματισμού, εργαστηρίων και χειρουργικών παρεμβάσεων	68
3.2.21 Χώρος γεννητριών	70
3.3 Περιβαλλοντικές συνθήκες Μονάδων εκτροφής	70
3.3.1 Υλικά κατασκευής	72
3.3.2 Κλωβοί και συστήματα στέγασης	73
3.3.2.1 Τύποι και υλικά κλωβών	74
3.3.3 Στρωμνή (ξηραντικό υλικό)	75
3.3.4 Διατροφή	76
3.3.5 Θερμοκρασία	78

3.3.6 Υγρασία	80
3.3.7 Πίεση του αέρα	81
3.3.8 Θόρυβος.....	82
3.3.9 Φωτισμός	83
3.3.10 Πληθυσμιακή πυκνότητα των ζώων	84
3.3.11 Εξαερισμός του χώρου - Αλλαγή του όγκου του αέρα	85
3.4 Αποστείρωση & απολύμανση μονάδων εκτροφής ζώων εργαστηρίου ..	86
3.4.1 Μέθοδοι αποστείρωσης.....	86
3.4.1.1 Φυσικές μέθοδοι	87
3.4.1.2 Χημικές μέθοδοι.....	88
3.4.2 Έλεγχος της αποστείρωσης	89
3.4.3 Παράγοντες αποτυχίας της αποστείρωσης.....	89
3.5 Βιοασφάλεια-Βιοπροστασία και Ζώα Εργαστηρίου.....	90
3.5.1 Πιστοποιητικό Υγειονομικής Επιτήρησης (Health report).....	92
3.5.2 Επίπεδα Βιοασφάλειας θαλάμων Εκτροφής Ζώων Εργαστηρίου (ABSL)	94
3.6 Βιωσιμότητα- Παρακολούθηση Περιβάλλοντος και Συντήρηση Εγκαταστάσεων	101
3.7 Τυποποιημένες Διαδικασίες Λειτουργίας (SOPs)	102
3.8 Διαχείριση Ποιότητας Μονάδας Ζώων Εργαστηρίου.....	106
Κεφάλαιο 4: Διαχείριση και Φροντίδα Ζώων Εργαστηρίου	109
4.1 Οι "Πέντε Ελευθερίες των Ζώων"	111
4.2 Διαχείριση Συμπεριφοράς και Ευζωίας των Ζώων Εργαστηρίου	113
4.2.1.1 Αξιολόγηση συμπεριφοράς και δείκτες ευζωίας	114
4.2.2 Εμπλουτισμός Περιβάλλοντος για την προώθηση φυσικών συμπεριφορών	117
4.2.2.1 Φυσικός εμπλουτισμός.....	119
4.2.2.2 Κοινωνικός εμπλουτισμός.....	120
4.2.2.3 Αισθητηριακός εμπλουτισμός	121
4.3 Τήρηση αρχείων.....	122
4.3.1 Αναγνώριση-Σήμανση Ζώων.....	123
4.3.1.1 Κάρτες κλουβιών	124
4.3.1.2 Σήμανση μικρής διάρκειας.....	124
4.3.1.3 Περιλαίμια	124

4.3.1.4 Μόνιμοι μέθοδοι σήμανσης	125
4.3.1.5 Ταυτοποίηση με Βιομετρικά Χαρακτηριστικά.....	126
4.3.2 Μεταφορά Ζώων Εργαστηρίου.....	127
4.3.3 Κιβώτια μεταφοράς (containers)	128
4.3.3.1 Αερισμός	129
4.3.3.2 Στρωμνή (ξηραντικό υλικό)	130
4.3.3.3 Τροφή και Νερό	131
4.3.3.4 Πληθυσμός μεταφερόμενων ζώων	132
4.3.3.5 Ετικέτες - Επιγραφές	133
4.3.4 Εισαγωγή και Εξαγωγή Ζώων Εργαστηρίου-Διαδικασίες και κανονιστικό πλαίσιο-	134
Κεφάλαιο 5: Αναπαραγωγή ζώων εργαστηρίου	135
5.1.1.1 Μέθοδοι ζευγαρώματος σε ζώα εργαστηρίου	135
5.1.1.2 Γενετικό υπόβαθρο	137
5.1.1.2.1 <i>Outbred</i>	138
5.1.1.2.2 <i>Inbred</i>	140
5.1.1.2.3 <i>Hybrid</i>	141
5.1.1.3 Τεχνολογίες υποβοηθούμενης αναπαραγωγής	143
5.1.1.3.1 <i>Υπερωρηξία</i>	144
5.1.1.3.2 <i>Εμβρυομεταφορά</i>	145
5.1.1.3.3 <i>IVF</i>	146
5.1.1.3.4 <i>ICSI</i>	148
5.1.1.3.5 <i>Μεθοδολογία Κρυοσυντήρησης</i>	149
Κεφάλαιο 6: Τεχνικές Χειρισμού και Συγκράτησης Ζώων Εργαστηρίου	151
6.1 Μυς, Επίμυς, Κρικητός (χάμστερ)	152
6.2 Ινδόχοιρος	156
6.3 Κουνέλι	157
6.4 Γάτα	158
6.5 Σκύλος	159
6.6 Πίθηκος.....	160
6.7 Όρνια.....	161
Κεφάλαιο 7: Οδοί χορήγησης ουσιών και λήψη βιολογικών υγρών	162
7.1 Οδοί χορήγησης.....	162

7.1.1	Χορήγηση από το στόμα (per os, p.o.)	162
7.1.2	Ενδογαστρική οδός (gavage)	163
7.1.3	Ενδοδερμική έγχυση (i.d.)	164
7.1.4	Υποδόρια έγχυση (s.c.)	165
7.1.5	Ενδομυϊκή έγχυση (i.m.)	166
7.1.6	Ενδοπεριτοναϊκή έγχυση (i.p.)	167
7.1.7	Ενδοφλέβια έγχυση (i.v.)	168
7.2	Λήψη βιολογικών υγρών	169
7.2.1	Αίμα	170
7.2.2	Ούρα	173
7.2.3	Κόπρανα	173
7.3	Λήψη θερμοκρασίας σώματος	176
Κεφάλαιο 8: Κτηνιατρική Φροντίδα και Παρακολούθηση Υγείας Ζώων Εργαστηρίου		
		177
8.1.1.1	Επείγουσα περίθαλψη και φροντίδα	179
Κεφάλαιο 9: Διαχείριση Πόνου- Αναλγησία, Αναισθησία, και Χειρουργική Φροντίδα		
		180
9.1	Αναλγησία	181
9.2	Αναισθησία	183
9.3	Χειρουργική φροντίδα	184
9.4	Ευθανασία	186
Κεφάλαιο 10: Εναλλακτικές και Μη επεμβατικές Μέθοδοι Πειραματισμού		
		187
10.1	In vitro μοντέλα πειραματισμού	187
10.2	Μικρορευστονικές συσκευές (Organs on a chip)	189
10.3	Υπολογιστικά (in silico) μοντέλα πειραματισμού-Ανάλυση δεδομένων	192
10.4	Τεχνικές απεικόνισης (Imaging) & Τηλεμετρία	194
Μέρος 2		
Κεφάλαιο 11: Εισαγωγή στον Πειραματικό Σχεδιασμό (Experimental Design)-Ηθική Αξιολόγηση		
		195
11.1	Σχεδιασμός μελέτης	196

11.1.1 Σχεδιασμός Έρευνας και Πειραματικών Διαδικασιών σε Ζώα(PREPARE)	196
11.1.2 Βοηθός Πειραματικού Σχεδιασμού (EDA).....	200
11.1.3 Έρευνα σε ζώα: Αναφορά πειραμάτων in vivo (ARRIVE).....	202
11.2 Διατύπωση ερευνητικού ερωτήματος και υποθέσεων	205
11.3 Επιλογή Ζωικού προτύπου	206
11.4 Ενσωμάτωση της αρχής των 3Rs-Ηθική Αξιολόγηση.....	207
11.5 Σχηματισμός Ομάδων Μελέτης	208
11.5.1 Τυχαιοποίηση (Randomization) ή/και Στρωματοποίηση (Stratification)	208
11.5.2 Τυφλοποίηση (Blinding)	209
11.5.3 Ομάδες ελέγχου	209
11.5.3.1 Ομάδες θετικού ελέγχου.....	210
11.5.3.2 Ομάδες αρνητικού ελέγχου.....	211
11.5.3.3 Ομάδες ελέγχου προσομοίωσης (sham)	211
11.5.3.4 Ομάδες ελέγχου εκδόχου	212
11.5.3.5 Συγκριτικές ομάδες ελέγχου	212
11.6 Καθορισμός μεγέθους δείγματος	213
11.7 Πραγματοποίηση πιλοτικής μελέτης.....	215
11.8 Διακύμανση	216
11.9 Τελικά Σημεία και Ανθρωπιστικά Κριτήρια Διακοπής Πειραμάτων	217
11.10 Αξιολόγηση πόνου-δυσφορίας	218
11.10.1 Δείκτες πόνου και δυσφορίας.....	219
11.11 Κατάταξη της δριμύτητας των διαδικασιών.....	220
11.12 Επιτροπές Ηθικής και Δεοντολογίας της Έρευνας	221
11.13 Συμπλήρωση Άδειας Πρωτοκόλλου	222
Κεφάλαιο 12: Σχεδιασμός και Δημιουργία Γενετικά Τροποποιημένων Ζώων	223
12.1 Γενετική μηχανική	224
12.1.1 Διαγονιδιακή τεχνολογία.....	225
12.1.2 Στοχευμένη τροποποίηση: Γονιδιακή στόχευση μέσω ο-μόλογου ανασυνδυασμού	227
12.1.3 Γενετική τροποποίηση μέσω TALENs και CRISPR-Cas9	231

12.2 Δημιουργία Γενετικά Τροποποιημένων Ζώων	233
12.2.1 Κατασκευή διαγονιδίου και φορέων γονιδιακής στόχευσης	
12.2.2 Εισαγωγή διαγονιδίου σε ζωϊκά κύτταρα	237
12.2.2.1 Προπυρηνική μικροέγχυση	238
12.2.2.2 Μεταφορά εμβρυονικών κυττάρων	241
12.2.2.3 Μεταφορά Πυρήνα Σωματικών Κυττάρων (SCNT) (Κλωνοποίηση)	243
12.2.2.4 Ίκκοι φορείς	245
12.2.2.5 Μεταφορά μέσω σπέρματος	247
12.2.2.6 Φυσικοί και χημικοί μέθοδοι	248
12.2.3 Χειρισμοί και εμβρυομεταφορά	249
12.3 Κατηγορίες Γενετικά Τροποποιημένων Ζώων Εργαστηρίου ...	250
12.3.1 Ζωϊκά μοντέλα τυχαίων σημειακών μεταλλάξεων (ENU)	251
12.3.2 Διαγονιδιακά ζώα τυχαίας ενσωμάτωσης	252
12.3.3 Ζωϊκά μοντέλα με στοχευμένες γονιδιακές τροποποιήσεις gene targeted models).....	253
12.3.3.1 Ζωϊκά μοντέλα στοχευμένης γονιδιακής εισαγωγής (Knock-in)	255
12.3.3.2 Ζωϊκά μοντέλα στοχευμένης απενεργοποίησης ενδογενών γονιδίων(Knockout).....	260
12.3.3.3 Ανοσοανεπαρκή διαγονιδιακά ζωϊκά μοντέλα	265
12.3.3.4 Ανθρωποποιημένα ζωϊκά μοντέλα	268
12.3.4 Ζωϊκά μοντέλα με ελεγχόμενη έκφραση γονιδίων (Conditional)	270
12.3.5 Ιστοειδικά μοντέλα	271
12.3.6 Παραδείγματα	272
12.3.6.1 Πειραματικό Ογκολογικό Μοντέλο Oncomouse	272
12.3.6.2 Ελεγχόμενη Γονιδιακή Έκφραση με τα Συστήματα Cre- loxP και Tet-On/Tet-Off	274
12.3.6.3 Ανοσοκατασταλμένα Μοντέλα Ποντικών SCID, NOG και NSG	277
12.4 Τεχνολογικός αντίκτυπος και ηθική προσέγγιση	279
Κεφάλαιο 13: Συμπεριφορική Ανάλυση σε Πειραματικά Μοντέλα	281
13.1 Συμπεριφορικές δοκιμασίες Άγχους.....	283
13.2 Συμπεριφορικές δοκιμασίες Γνωστικής Λειτουργίας	285

13.3 Συμπεριφορικές δοκιμασίες Κοινωνικής αλληλεπίδρασης	289
13.4 Ερμηνεία Δεδομένων	292
Κεφάλαιο 14: Επαγγελματική Υγεία και Ασφάλεια σε Μονάδες Στέγασης Ζώων εργαστηρίου	294
14.1 Εκτίμηση και διαχείριση επαγγελματικού κινδύνου (Risk assessment).....	296
14.1.1 Ζωονόσοι	298
14.1.2 Αλλεργιογόνα	300
14.1.3 Σωματικοί τραυματισμοί.....	302
14.1.4 Εμβολιασμός και ιατρική παρακολούθηση του προσωπικού	303
Κεφάλαιο 15: Ο Ρόλος της FELASA στην Ευρωπαϊκή Πολιτική για τη Χρήση ζώων εργαστηρίου.....	305
Κεφάλαιο 16: Αναδυόμενες τάσεις και μελλοντικές κατευθύνσεις στην επιστήμη των ζώων εργαστηρίου	312
16.1 Νέες Τεχνολογίες ελέγχου ευζωίας - Αυτοματοποιημένες συσκευές παρακολούθησης και εμπλουτισμού.....	314
16.2 Γενετική και μικροβίωμα - Επίδραση στην εγκυρότητα και την αναπαραγωγιμότητα πειραματικών αποτελεσμάτων.....	317
16.3 Ζώα Εργαστηρίου στην Ενιαία υγεία (One Health)	319
16.4 Βιοηθική στην πειραματική χρήση ζώων	321
ΕΝΘΕΤΟ Α	322
1. ΓΝΩΣΤΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΖΩΑ	322
a. Θηλαστικά	325
b. Ταξινόμηση των θηλαστικών	329
c. Συνηθέστερα Χρησιμοποιούμενα Ζώα Εργαστηρίου	332
2. Μυς (Mus musculus)	336
a. CF1 Mouse	340
b. NMRI Mouse	342
c. C 57 BL Mouse	344
d. DBA/2 Mouse	345
e. CBA Mouse	347

f. BALB/C Mouse	349
g. C3H/HeJ mouse	352
h. B6D2F1 Mouse	354
i. Nude Mouse	355
3. Επίμυς (<i>Rattus norvegicus</i>).....	359
a. Επίμυς Sprague – Dawley	362
b. Επίμυς Wistar	366
c. Επίμυς Long Evans.....	370
d. Επίμυς Hairless.....	372
e. Επίμυς SHR.....	374
f. Επίμυς WKY.....	376
4. Ζέρβιλος (<i>Meriones unguiculatus</i>)	379
5. Κρικητός (<i>Mesocricetus auratus</i>)	385
6. Κόνικλος (<i>Oryctolagus cuniculus</i>).....	387
7. Νυφίτσα (<i>Mustela putorius furo</i> L.)	391
8. Ινδόχοιρος (<i>Cavia porcellus</i>)	392
9. Γάτα (<i>Felis catus</i>)	395
10. Σκύλος (<i>Canis familiaris</i>)	401
11. Μη ανθρώπινα πρωτεύοντα	404
a. Πίθηκος Ρέζους Μακάκος (<i>Macaca mulatta</i>)	407
12. Άλλα σπονδυλωτά.....	410
a. Πτηνά	411
i. Όρνιθα (<i>Gallus domesticus</i>).....	411
b. Αμφίβια	412
i. Βάτραχος.....	412
1. <i>Rana pipiens</i>	413
2. <i>Xenopus laevis</i>	414
c. Ψάρια	415
i. Ζεβρόψαρο (<i>Danio rerio</i>).....	415
13. Ασπόνδυλα	420

a. Κεφαλόποδα (Cephalopoda)	420
b. Μύγα των Φρούτων (<i>Drosophila melanogaster</i>)	424
c. Νηματώδης σκόληκας- Καينوραβδίτης <i>elegans</i> (<i>Caenorhabditis elegans</i>)	428

ΕΝΘΕΤΟ Β 431

1. ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΒΑΣΕΙΣ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ

ΖΩΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ 431

a. Στοιχεία Φυσιολογίας και Ανατομίας	432
i. Οργάνωση Σώματος	433
ii. Όροι εντοπισμού ανατομικών θέσεων	436

2. Αναφορά επιλεγμένων στοιχείων Ανατομίας 437

a. Δέρμα	438
b. Κινητικό σύστημα	440
c. Μυϊκό σύστημα	448
d. Κυκλοφορικό σύστημα	448
e. Λεμφικό σύστημα	455
f. Αναπνευστικό σύστημα.....	456
g. Πεπτικό σύστημα	460
h. Ουροποιητικό σύστημα	466
i. Γεννητικό σύστημα	470
j. Νευρικό σύστημα	473
k. Ενδοκρινείς αδένες.....	475

3. ΙΔΙΑΙΤΕΡΑ ΑΝΑΤΟΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΖΩΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ

a. Ο μύς (<i>Mus musculus</i>)	479
b. Ο επίμυς (<i>Rattus norvegicus</i>).....	482
c. Ο κρικητός της Συρίας (<i>Mesocricetus auratus</i>)	485
d. Ο ινδόχοιρος (<i>Cavia porcellus</i>)	486
e. Το κουνέλι (κόνικλος, <i>Oryctolagus cuniculus</i>)	487
f. Η γάτα (<i>Felis catus</i>)	489
g. Ο σκύλος (<i>Canis familiaris</i>)	490
h. Μη ανθρώπινα πρωτεύοντα.....	491

ΕΝΘΕΤΟ Γ	492
1. ΛΟΙΜΩΔΗ ΝΟΣΗΜΑΤΑ	492
a. Βακτήρια	493
b. Μύκητες	494
c. Ιοί.....	495
i. DNA – ιοί.....	495
ii. RNA – ιοί	497
d. Παράσιτα	499
e. Πρωτόζωα.....	501
f. Μετάζωα (Metazoa).....	502
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	504