



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

***«Μελέτες διαπερατότητας τοιχωματικού περικαρδίου
προβάτου: Ο ρόλος του μεσοθηλίου.»***

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

**ΖΑΡΟΓΙΑΝΝΗΣ ΣΩΤΗΡΙΟΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ (ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ)**

ΧΡΥΣΗ ΧΑΤΖΟΓΛΟΥ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ

**ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΜΠΟΓΔΑΝΟΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΑΥΤΟΑΝΟΣΩΝ
ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ**

Στεργιοπούλου Ελπινίκη του Ιωάννη

ΛΑΡΙΣΑ, 2025

UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
FACULTY OF MEDICINE

BACHELOR’S THESIS

**“Permeability studies of sheep parietal pericardium: The role
of mesothelium”**

ADVISORY COMMITTEE

ZAROGIANNIS SOTIRIOS, PROFESSOR OF PHYSIOLOGY (THESIS ADVISOR)

HATZOGLOU CHRISSI, PROFESSOR MEDICAL PHYSIOLOGY

BOGDANOS DIMITRIOS, PROFESSOR OF INTERNAL MEDICINE AND
AUTOIMMUNE DISEASES

Stergiopoulou Elpiniki

LARISSA, 2025



Τριμελής εξεταστική επιτροπή

Ζαρογιάννης Σωτήριος

Καθηγητής Φυσιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας (Επιβλέπων)

Χατζόγλου Χρυσή

Καθηγήτρια Φυσιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας (Σύμβουλος)

Μπόγδανος Δημήτρης

Καθηγητής Παθολογίας και Αυτοάνοσων Νοσημάτων, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο

Θεσσαλίας (Μέλος)

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στο τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στο Εργαστήριο της Φυσιολογίας του Τμήματος Ιατρικής, υπό την επίβλεψη του Καθηγητή Φυσιολογίας, κου Ζαρογιάννη Σωτήριου. Για την εκπόνηση της συγκεκριμένης πτυχιακής ήταν απαραίτητη η λήψη δειγμάτων περικαρδίου προβάτων, η οποία πραγματοποιήθηκε στις εγκαταστάσεις των σφαγείων Γυρτώνης. Για αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όλο το προσωπικό των σφαγείων Γυρτώνης για την εξυπηρέτηση και την άψογη συνεργασία, οι οποίοι ήταν πάντα πρόσχαροι και πρόθυμοι να βοηθήσουν. Χωρίς την πολύτιμη βοήθεια τους δεν θα ήταν εφικτό να πραγματοποιηθεί η συγκεκριμένη εργασία.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα μου κύριο Ζαρογιάννη Σωτήριο, χωρίς τον οποίο δε θα είχα καταφέρει τίποτα καθώς είναι ο μέντορας μου τα τελευταία δυο χρόνια και είναι η αιτία που επέλεξα το συγκεκριμένο μεταπτυχιακό. Με έκανε μέλος της ερευνητικής του ομάδας πριν δυο περίπου χρόνια και έκτοτε με στήριξε, με κατεύθυνε, με βοήθησε, μου έδωσε πολύτιμες συμβουλές και με έμαθε πως να λειτουργώ σε ένα εργαστήριο. Παράλληλα, ευχαριστώ πολύ και την κα Χατζόγλου Χρυσή και τον κο Μπόγδανο Δημήτριο που, χωρίς να φείδονται χρόνου, μου προσέφεραν σημαντική βοήθεια, οποτεδήποτε την είχα ανάγκη και με υποστήριζαν με την ιδιότητα τους ως μέλη της τριμελούς επιτροπής της μεταπτυχιακής μου εργασίας. Πολύτιμη υπήρξε η βοήθεια της κας Ιωάννου Μαρίας, καθηγήτριας Παθολογικής Ανατομικής καθώς και της κας Ζαχαρούλη Κωνσταντίνας, Παθολογοανατόμου, Επιστημονικού συνεργάτη του εργαστηρίου Παθολογικής Ανατομικής του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, στην πραγματοποίηση των ιστολογικών πειραμάτων και τις ευχαριστώ ιδιαιτέρως για τη συμβολή τους.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα μέλη του εργαστηρίου Φυσιολογίας για το άψογο κλίμα και την άριστη συνεργασία. Ιδιαίτερα, όμως, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον υποψήφιο διδάκτορα Περικλή Μαρνά, με τον οποίο συνεργαστήκαμε άψογα και ο οποίος μου προσέφερε πολύτιμη βοήθεια, γνώση και συμβουλές όχι μόνο κατά την εκπόνηση της διπλωματικής μου εργασίας αλλά και σε όλη την πορεία του μεταπτυχιακού καθώς και την συμφοιτήτρια και πλέον φίλη μου Καλλιόπη Καλπατσέκα που έκανε όλο το ταξίδι της διπλωματικής πιο ευχάριστο.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου οι οποίοι είναι πάντα δίπλα μου, με στηρίζουν, με συμβουλεύουν, με βοηθούν, μου δίνουν δύναμη και είναι η αιτία που έχω καταφέρει όσα ήθελα μέχρι σήμερα.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το περικάρδιο αποτελεί μέρος των ορογόνων κοιλοτήτων των θηλαστικών και περιβάλλει την καρδιά καθώς και τις ρίζες των μεγάλων αγγείων, παρέχοντας προστασία έναντι λοιμώξεων και μηχανικών κακώσεων. Επιπλέον, απομονώνει την καρδιά από τους παρακείμενους ιστούς, επιτρέποντας την ελεύθερη κίνησή της εντός της περικαρδιακής κοιλότητας, και διαδραματίζει ουσιώδη ρόλο σε διάφορες καρδιακές λειτουργίες. Ανατομικά, το περικάρδιο αποτελείται από δύο κύρια τμήματα: το εξωτερικό ινώδες περικάρδιο (fibrous pericardium), το οποίο αποτελείται από πυκνό συνδετικό ιστό, και το εσωτερικό ορογόνο περικάρδιο (serous pericardium). Το τελευταίο διακρίνεται περαιτέρω σε τοιχωματικό (parietal) και σπλαχνικό (visceral) πέταλο, με το τελευταίο να αναφέρεται και ως επικάρδιο. Μεταξύ αυτών των δύο πετάλων εντοπίζεται η περικαρδιακή κοιλότητα, η οποία υπό φυσιολογικές συνθήκες περιέχει μικρή ποσότητα υγρού, διευκολύνοντας την κίνηση της καρδιάς.

Η μεσοθηλιακή επένδυση του περικαρδίου αποτελείται από εξειδικευμένα κύτταρα που ρυθμίζουν την επιλεκτική διακίνηση μορίων και ιόντων, καθιστώντας τη μεμβράνη ημιπερατή. Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε ο ρόλος της συνοχής της μεσοθηλιακής στιβάδας τοιχωματικού περικαρδίου προβάτου στη διαμόρφωση διαμεμβρανικής αντίστασης. Επιπλέον, μελετήθηκε η επίδραση των ουσιών —θειικό αμμώνιο (ammonium sulfate, AS), ένυδρη χλωράλη (chloral hydrate, CH), χλωριούχο λίθιο (lithium chloride, LC), 2-δεοξυ-D-γλυκόζη (2-deoxy-D-glucose, 2DG), αμιλορίδη, βουμετανίδη, κολχικίνη, φορσκολίνη και ιβουπροφαίνη— στη διαπερατότητα του τοιχωματικού περικαρδίου. Η αξιολόγηση πραγματοποιήθηκε

μετρώντας τη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση (R_{TM}) πριν και μετά την προσθήκη των ουσιών.

Τα αποτελέσματα μας έδειξαν ότι η απουσία μεσοθηλιακών κυττάρων οδηγεί σε απώλεια της λειτουργίας του περικαρδίου ως φραγμού στη διακίνηση ηλεκτρολυτών. Επιπλέον, το θειικό αμμώνιο και το χλωριούχο λίθιο προκάλεσαν στατιστικά σημαντική μείωση της R_{TM} , ενώ η ιβουπροφαίνη και η βουμετανίδη προκάλεσαν στατιστικά σημαντική αύξηση της R_{TM} σε συγκεκριμένες χρονικές στιγμές. Τα ευρήματα αυτά αναδεικνύουν τον κρίσιμο ρόλο του μεσοθηλίου στη διαπερατότητα του περικαρδίου και τη δράση σε αυτό σημαντικών για την καρδιολογία φαρμάκων.

ABSTRACT

The pericardium is part of the serous cavities of mammals and surrounds the heart and the roots of the large blood vessels, providing protection against infections and mechanical injuries. In addition, it isolates the heart from adjacent tissues, allowing it to move freely within the pericardial cavity, and plays an essential role in various cardiac functions. Anatomically, the pericardium consists of two main parts: the outer fibrous pericardium, which consists of dense connective tissue, and the inner serous pericardium. The latter is further divided into the parietal and visceral layers, with the latter also referred to as the epicardium. Between these two layers is the pericardial cavity, which under normal conditions contains a small amount of fluid, facilitating the movement of the heart.

The mesothelial lining of the pericardium consists of specialized cells that regulate the selective transport of molecules and ions, making the membrane semipermeable. This study investigated the role of the cohesion of the mesothelial layer of the sheep pericardial wall in the formation of transmembrane resistance. In addition, the effect of ammonium sulfate (AS), chloral hydrate (CH), lithium chloride (LC), 2-deoxy-D-glucose (2-deoxy-D-glucose, 2DG), amiloride, buvetamide, colchicine, forskolin, and ibuprofen—on the permeability of the pericardial wall. The evaluation was performed by measuring the transmembrane electrical resistance (R_{TM}) before and after the addition of the substances.

Our results showed that the absence of mesothelial cells leads to a loss of pericardial function as a barrier to electrolyte transport. In addition, ammonium sulfate and lithium chloride caused a statistically significant decrease in RTM, while ibuprofen and buemetane caused a statistically significant increase in RTM at specific time points. These findings highlight the critical role of the mesothelium in pericardial permeability and the action of drugs important in cardiology.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1 Περικάρδιο.....	14
1.2 Ιστολογία.....	16
1.3 Νεύρωση.....	18
1.4 Περικαρδιακό υγρό.....	19
1.5 Φυσιολογία περικαρδίου.....	21
1.6 Υδροδυναμική περικαρδιακού υγρού.....	22
1.7 Ροή Λέμφου στο πρικάρδιο.....	26
1.8 Διακίνηση ύδατος, ηλεκτρολυτών και αλβουμίνης.....	26
2 Παθοφυσιολογία.....	28
3.1 Μεσοθήλιο.....	30
3.2 Εμβρυολογία.....	31
3.3 Ιστολογία.....	31
3.4 Φυσιολογία μεσοθηλιακών κυττάρων.....	32
3.5 Διαπερατότητα βιολογικών μεμβρανών.....	34
3.6 Μηχανισμός διακίνησης διαλυμένων ουσιών και νερού.....	34
4.1 Μελέτη διαπερατότητας βιολογικών μεμβρανών με τη μέθοδο Ussing Chamber.....	36
5.1 Σκοπός της μελέτης.....	39

5.2 Συλλογή ιστού και προετοιμασία	39
5.3 Πειραματική διαδικασία	40
5.4 Αφαίρεση μεσοθηλίου από τα ιστοτεμάχια περικαρδίου προβάτου προβάτου.....	42
5.5 Ιστολογική ανάλυση	43
5.6 Ουσίες που μελετήθηκαν	43
5.7 Στατιστική ανάλυση.....	46
6.1 Ιστολογικές αναλύσεις.....	47
6.2 Μηχανική απόξεση μεσοθηλίου και μέτρηση της διαμεσοθηλιακής ηλεκτρικής αντίστασης του τοιχωματικού περικαρδίου προβάτου	52
6.3 Μέτρηση της διαμεσοθηλιακής ηλεκτρικής αντίστασης του τοιχωματικού περικαρδίου προβάτου μετά από μηχανική απόξεση του μεσοθηλίου και έκθεση σε απιονισμένο νερό	53
6.4 Επίδραση της αμιλορίδης στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση του τοιχωματικού περικαρδίου προβάτου.....	54
6.5 Επίδραση της βουμετανίδης στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση του τοιχωματικού περικαρδίου	55
6.6 Επίδραση της φορσκολίνης στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση του τοιχωματικού περικαρδίου	56
6.7 Επίδραση της 2-δεόξυ-D-γλυκόζης στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση του τοιχωματικού περικαρδίου	57

6.8 Επίδραση του θειικού αμμωνίου στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση του τοιχωματικού περικαρδίου	58
6.9 Επίδραση της ένυδρης χλωράλης στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση του τοιχωματικού περικαρδίου	59
6.10 Επίδραση του χλωριούχου λιθίου στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση του τοιχωματικού περικαρδίου	60
6.11 Επίδραση της ιβουπροφαίνης στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση του τοιχωματικού περικαρδίου	61
6.12 Επίδραση της κολχικίνης στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση του τοιχωματικού περικαρδίου	62
7 Συζήτηση.....	63
8 Βιβλιογραφία.....	72

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Περικάρδιο

Το περικάρδιο ανήκει στις ορογόνες κοιλότητες των θηλαστικών και έχει κωνική σακοειδή δομή. (1) Εσωκλείει τόσο την καρδιά όσο και τη ρίζα των μεγάλων αγγείων (αορτή και πνευμονική αρτηρία), συμβάλλοντας στην προστασία τους από λοίμωξη και τραυματισμούς.(1,2)

Στον άνθρωπο, εντοπίζεται εντός του μέσου μεσοθωρακίου, πίσω από το στήρνο και επεκτείνεται μεταξύ των χόνδρων της τρίτης έως έβδομης πλευράς του αριστερού ημιθωρακίου. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, το περικάρδιο απομονώνει τη καρδιά από τους πέριξ ιστούς, επιτρέποντάς της να κινείται «ελεύθερα» εντός των ορίων της περικαρδιακής κοιλότητας. (2)

Το περικάρδιο αποτελείται από μία εξωτερική μεμβράνη, που αποτελείται από ινώδη συνδετικό ιστό κι ονομάζεται ινώδες περικάρδιο (fibrous) και από κι από μία εσωτερική, που ονομάζεται ορογόνο περικάρδιο (serous). Το ορογόνο περικάρδιο διακρίνεται σε δύο πέταλα: το τοιχωματικό πέταλο (parietal) το οποίο επενδύει την εσωτερική επιφάνεια του ινώδους περικαρδίου και το σπλαχνικό πέταλο (visceral) το οποίο ονομάζεται επικάρδιο. Το επικάρδιο καλύπτει την εξωτερική επιφάνεια της καρδιάς και τη ρίζα των μεγάλων αγγείων. Μεταξύ τοιχωματικού περικαρδίου και επικαρδίου σχηματίζεται η περικαρδιακή κοιλότητα η οποία υπό φυσιολογικές συνθήκες περιέχει μικρή ποσότητα υγρού (στον άνθρωπο ~15–30 mL ή $\sim 0,25 \pm 0,15 \text{ mL/Kg}$), που ονομάζεται περικαρδιακό υγρό. (1)

Στον άνθρωπο, το ινώδες περικάρδιο, που έχει πάχος 1-3mm, σχηματίζει ένα σάκο σε σχήμα «φιάλης». Το άνω άκρο του σάκου περιβάλλει, με προσεκβολές, τα μεγάλα αγγεία. Ο υπόλοιπος σάκος προσκολλάται στο αριστερό ημιδιάφραγμα και στην οπίσθια επιφάνεια του στέρνου, για να εξασφαλίσει τον προσανατολισμό της καρδιάς εντός του θώρακα. (2)

Γενικά, η βασική δομή του περικαρδίου είναι κοινή. Ωστόσο, υπάρχουν κάποιες δομικές διαφορές ανάμεσα στα είδη. Πιο συγκεκριμένα, ανάλογα με το μέγεθος της καρδιάς, μεταβάλλεται τόσο το πάχος του περικαρδίου όσο και το μέγεθος της περικαρδιακής κοιλότητας, μεταξύ των ειδών. Εξαίρεση αποτελεί ο άνθρωπος ο οποίος έχει παχύτερο περικάρδιο σε σύγκριση με ζώα που διαθέτουν ίδιο μέγεθος καρδιάς (άνθρωπος 1–3,5 mm, χοίρος $0,20 \pm 0,01$ mm, πρόβατο $0,32 \pm 0,01$ mm). (1) (4)

1.2 Ιστολογία

Το ινώδες περικάρδιο αποτελείται από δεμάτια κολλαγόνου και ινίδια ελαστίνης τα οποία διασταυρώνονται με τη βοήθεια μορίων υδροξυλυσίνης και βρίσκονται διαταγμένα σε πολλαπλές στοιβάδες και προς διάφορες κατευθύνσεις. (5) (1) Πιο συγκεκριμένα, η κατεύθυνσή τους είναι διαγώνια από τις κατώτερες κεντρικές περιοχές προς τις ανώτερες περιοχές κι αριστερά. Η συγκεκριμένη διάταξη συμβάλλει στην καλύτερη λειτουργία του ορογόνου περικαρδίου το οποίο διατείνεται κατά τη διαστολή της καρδιάς περιορίζοντας έτσι τη συγκεκριμένη κίνηση. Στην εξωτερική επιφάνεια του ινώδους περικαρδίου, υπάρχει λιπώδης ιστός. (4)

Το ορογόνο πέταλο του τοιχωματικού περικαρδίου αποτελείται από μια μονή στιβάδα πεπλατυσμένων μεσοθηλιακών κυττάρων τα οποία αναπαύονται πάνω σε ένα στρώμα συνδετικού ιστού. Το τελευταίο αποτελείται από μικρές ελαστικές ίνες και δεμάτια κολλαγόνου τα οποία είναι τοποθετημένα σε διάφορες κατευθύνσεις. (6,7)

Τα μεσοθηλιακά κύτταρα διαθέτουν μικρολάχνες και κροσσούς, που αυξάνουν την επιφάνεια διακίνησης υγρών και παράλληλα περιορίζουν την τριβή. (6) Επιπλέον, μεταξύ των μεσοθηλιακών κυττάρων υπάρχουν δεσμοσώματα, που αυξάνουν την μεσοκυττάρια προσκόλληση και στεγανές συνδέσεις (Tight Junctions). Όλα αυτά τα μορφολογικά χαρακτηριστικά συμβάλλουν στον σχηματισμό ενός φραγμού διαπερατότητας. Εξαιτίας αυτού του φραγμού, το περικάρδιο είναι αδιαπέραστο από σωματίδια μεγέθους 10 – 30nm. Ωστόσο, μπορούν να περάσουν σωματίδια μικρότερα από 6nm, συμπεριλαμβανομένων των μορίων της υπεροξειδάσης. Οι μικρολάχνες και οι άμεσες παρακείμενες περιοχές των κυττάρων περιέχουν νημάτια που μοιάζουν με ακτίνη. Οι μεταβολές στο σχήμα των κυττάρων προκαλούνται από αυτά τα νημάτια.

Τα δεσμοσώματα και τα ενδιάμεσα νημάτια σχηματίζουν δεσμίδες στις περιπυρηνικές περιοχές, οι οποίες παρέχουν δομική υποστήριξη στο κυτταρόπλασμα. (1)

Γαλακτώδεις κηλίδες (milky spots) προεξέχουν προς την περικαρδιακή κοιλότητα μεταξύ των μεσοθηλιακών κυττάρων στο τοιχωματικό περικάρδιο. Οι δομές αυτές περιβάλλονται από μεσοθηλιακά κύτταρα που έχουν κυβοειδή μορφή. Το υπομεσοθηλιακό λεμφικό σύστημα κάτω από αυτές τις δομές είναι άμεσα προσβάσιμο, διευκολύνοντας τη γρήγορη απομάκρυνση κυττάρων και υγρού από την περικαρδιακή κοιλότητα. Υπάρχουν μόνιμα μακροφάγα εντός της περικαρδιακής κοιλότητας και των υπομεσοθηλιακών στιβάδων του περικαρδίου, τα οποία είναι έτοιμα να επιστρατευτούν σε περίπτωση ανοσολογικής απόκρισης. (1,6)

Σύμφωνα με ιστολογικές έρευνες, υπάρχουν «πόροι» με διάμετρο έως 50 μm στο τοιχωματικό περικάρδιο των τρωκτικών. Αυτοί οι πόροι συνδέουν την περικαρδιακή κοιλότητα με τις γειτονικές μεσοθωρακικές υπεζωκοτικές κοιλότητες, με εξαίρεση τις θέσεις που καταλαμβάνονται από λιπώδη ιστό. Τα μεσοθηλιακά κύτταρα καλύπτουν τα στόμια και τον αυλό τους, ενώ κάτω από αυτά βρίσκονται ίνες κολλαγόνου και ελαστίνης. Αν και η λειτουργία των περικαρδιακών «πόρων» είναι ακόμα άγνωστη, έχει αποδειχθεί ότι τα ραδιοσημασμένα ερυθροκύτταρα μετακινούνται από την υπεζωκοτική προς την περικαρδιακή μια κοιλότητα μέσω αυτών. (1)

Παρόλο που και το επικάρδιο και το τοιχωματικό περικάρδιο μοιράζονται ορισμένα μορφολογικά χαρακτηριστικά, διαφέρουν σε πολλές λειτουργικές πτυχές. Πιο συγκεκριμένα, το επικάρδιο διαθέτει μια μονή στιβάδα μεσοθηλιακών κυττάρων που στηρίζεται πάνω σε μια λεπτή βασική μεμβράνη. Σε σύγκριση με το τοιχωματικό περικάρδιο, το επικάρδιο έχει μεγαλύτερη αναλογία κυβοειδών μεσοθηλιακών κυττάρων. Μία παχιά στιβάδα συνδετικού ιστού που δε διηθεί το υποκείμενο

μυοκάρδιο και αποτελείται από παχιά δεμάτια κολλαγόνου και ινίδια ελαστίνης, βρίσκεται κάτω από τη βασική μεμβράνη. Σε αυτή τη στιβάδα τα ινίδια είναι παράλληλα μεταξύ τους, και διατρέχουν την επιφάνεια της καρδιάς με κατεύθυνση διαγώνια έως κάθετα, σε σχέση με τα μυοκαρδιακά κύτταρα. Αυτά τα μορφολογικά χαρακτηριστικά συμβάλουν στις παθητικές μηχανικές ιδιότητες που εμφανίζουν το περικάρδιο και η καρδιά. Το επικάρδιο, λόγω υψηλής περιεκτικότητας του συνδετικού του ιστού σε υδροξυπρολίνη, έχει μεγαλύτερη ακαμψία και αντοχή στον εφελκυσμό σε σύγκριση με τα άλλα στοιχεία του καρδιακού τοιχώματος. (8,9)

Το περικαρδιακό μεσοθήλιο είναι μεταβολικά ενεργό και εκφράζει ενδοθηλίνη, προσταγλανδίνη E2, υποδοχείς εικοσανοειδών και προστακυκλίνη, που ελέγχουν τη συσταλτικότητα του μυοκαρδίου και τη συμπαθητική νευροδιαβίβαση. (10)

Κάτω από το επικάρδιο βρίσκεται ένα στρώμα λιπώδους ιστού, το οποίο περιέχει τα στεφανιαία αγγεία και τα παρασυμπαθητικά γάγγλια. Το πάχος του επικαρδιακού λίπους ποικίλλει ανάλογα με την ανατομική θέση, με υψηλότερη συγκέντρωση στις μεσοκοιλιακές αύλακες, στα στεφανιαία αγγεία, καθώς στο ελεύθερο τοίχωμα της δεξιάς κοιλίας. Με την πρόοδο της ηλικίας, αυξάνεται η ποσότητα του λιπώδους ιστού. Επιπλέον, υπάρχουν ενδείξεις ότι η τελευταία μπορεί να σχετίζεται και με το πάχος του υποδόριου λίπους. (4)

1.3 Νεύρωση

Τα δύο φρενικά νεύρα είναι υπεύθυνα για τη νεύρωση του περικαρδίου, παρέχοντας σε αυτό έναν αισθητικό κλάδο, γνωστό ως περικαρδιακός κλάδος. Οι κλάδοι αυτοί μεταφέρουν αισθητηριακές πληροφορίες από το περικάρδιο στον εγκέφαλο.

Εντός του περικαρδιακού λίπους υπάρχουν συγκεκριμένες θέσεις που φιλοξενούν παρασυμπαθητικά γάγγλια, τα οποία ασκούν ηλεκτροφυσιολογικό έλεγχο στην καρδιά. Συγκεκριμένα, οι περιοχές όπου παρατηρούνται αυτές οι νευρικές διασταυρώσεις περιλαμβάνουν:

- Τη συμβολή της δεξιάς άνω πνευμονικής φλέβας με τον αριστερό κόλπο, η οποία ελέγχει την παρασυμπαθητική ρύθμιση του φλεβόκομβου (11).
- Τη σύζευξη της κάτω κοίλης φλέβας με τον δεξιό κόλπο, η οποία ρυθμίζει την κολποκοιλιακή αγωγή μέσω παρασυμπαθητικής νεύρωσης (12).
- Τη σύνδεση της άνω κοίλης φλέβας με την αορτική ρίζα, άνωθεν της δεξιάς πνευμονικής αρτηρίας, η οποία παρέχει παρασυμπαθητική νεύρωση στους κόλπους (13).

1.4 Περικαρδιακό υγρό

Ο προσδιορισμός της σύστασης του φυσιολογικού περικαρδιακού υγρού στον άνθρωπο, καθώς τα ανθρώπινα δείγματα προέρχονται μόνο από ασθενείς που υποβάλλονται σε καρδιοχειρουργικές επεμβάσεις και το περικάρδιο τους δεν εμφανίζει σημεία προσβολής. Κατά συνέπεια, όλα τα δεδομένα που είναι διαθέσιμα αυτήν τη στιγμή προέρχονται είτε από ζώα είτε από άτομα που υποβλήθηκαν σε καρδιοχειρουργικές επεμβάσεις, γεγονός που πιθανώς μειώνει την εγκυρότητα των δεδομένων. (11)

Το περικαρδιακό υγρό είναι ένα υπερδιήθημα πλάσματος με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά. Οι ογκομετρικές έρευνες έχουν δείξει ότι ο όγκος του περικαρδιακού υγρού

συσχετίζεται άμεσα με το μέγεθος του ζώου: στους ενήλικες ανθρώπους είναι περίπου 20-60 mL, στους σκύλους περίπου 0,5-2,5 mL και στα κουνέλια περίπου 0,4-1,9 mL.

Μελέτες χρώσης του περικαρδιακού υγρού αποκάλυψαν ότι υπάρχει ετερογένεια στην κατανομή του υγρού εντός της περικαρδιακής κοιλότητας. Όταν το άτομο βρίσκεται σε ύπτια θέση, η πλειονότητα του υγρού συγκεντρώνεται μέσα στους άνω και εγκάρσιους κόλπους, στην κολποκοιλιακή και τη μεσοκοιλιακή αύλακα. Ωστόσο, ορισμένες φαρμακοκινητικές μελέτες δείχνουν ότι το περικαρδιακό υγρό αναδεύεται συνεχώς, που υποδεικνύει ότι η σύσταση του υγρού παραμένει σταθερή ανεξάρτητα από τη θέση λήψης του δείγματος.

Μελέτες σε ανθρώπινο φυσιολογικό περικαρδιακό υγρό έχουν αποκαλύψει την παρουσία ετερογενούς κυτταρικού πληθυσμού. Μεσοθηλιακά κύτταρα, βασεόφιλα (1,2%), ηωσινόφιλα (1,7%), ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα (31%), μακροφάγα (12%) και λεμφοκύτταρα (53%) έχουν απομονωθεί από το περικαρδιακό υγρό. Από τα δεδομένα αυτά φαίνεται ότι σε φυσιολογικές συνθήκες, ο αριθμός των λεμφοκυττάρων είναι σχετικά υψηλός. Κατά συνέπεια, η ανεύρεση «λεμφοκυττάρωσης» σε μια περικαρδιακή συλλογή θα πρέπει να χαρακτηρίζεται ως παθολογική μόνο όταν το ποσοστό των λεμφοκυττάρων υπερβαίνει το 60% του συνολικού κυτταρικού πληθυσμού. (1)

Όπως και άλλα υγρά των ορογόνων κοιλοτήτων, το περικαρδιακό υγρό θεωρείται προϊόν υπερδιήθησης του πλάσματος. Μελέτες σε ζώα αποκάλυψαν ότι το περικαρδιακό υγρό είχε χαμηλότερες συγκεντρώσεις ιόντων Na^+ , Cl^- , Ca^{2+} και Mg^{2+} από το πλάσμα. Αντίθετα, η συγκέντρωση K^+ ήταν μεγαλύτερη από αυτή του πλάσματος, γεγονός που εξηγείται από τη διαρροή K^+ κατά την καρδιακή συστολή από το διάμεσο ιστό του μυοκαρδίου προς την περικαρδιακή κοιλότητα. Επιπλέον, στο

περικαρδιακό υγρό η περιεκτικότητα των πρωτεϊνών ήταν μικρότερη σε σχέση με την περιεκτικότητα του πλάσματος, με διαφορετική όμως αναλογία πρωτεϊνικών κλασμάτων. Συγκεκριμένα, η αλβουμίνη, οι σφαιρίνες, οι μακροσφαιρίνες και το ινωδογόνο είχαν τις χαμηλότερες συγκεντρώσεις. Τελικά, η ωσμομοριακότητα του περικαρδιακού υγρού είναι χαμηλότερη από αυτή του πλάσματος. (12)

1.5 Φυσιολογία περικαρδίου

Το φυσιολογικό περικάρδιο επιτελεί μία σειρά κρίσιμων λειτουργιών που είναι απαραίτητες για τη διατήρηση της καρδιακής ομοιόστασης. Λειτουργεί ως λιπαντικός μηχανισμός για τις κινούμενες επιφάνειες της καρδιάς, ενώ παράλληλα συμβάλλει στη σταθεροποίηση της ανατομικής της θέσης. Επιπλέον, απομονώνει την καρδιά από τις παρακείμενες ανατομικές δομές, αποτρέποντας έτσι τον σχηματισμό συμφύσεων, καθώς και την εξάπλωση φλεγμονωδών ή κακοήθων διεργασιών.

Μέσω του περιορισμού της ενδομυοκαρδιακής τάσης, το περικάρδιο προλαμβάνει τη διάταση των καρδιακών κοιλοτήτων και, σε καταστάσεις αυξημένης πίεσης, περιορίζει την ανάπτυξη καρδιακής υπερτροφίας. Παράλληλα, όταν η αριστερή κοιλία βρίσκεται υπό πίεση, περιορίζεται το έργο εξώθησης της δεξιάς κοιλίας, γεγονός που βοηθά στη διατήρηση της λειτουργικής ισορροπίας. Σε συνθήκες αυξημένων τελοδιαστολικών πιέσεων, το περικάρδιο συμβάλλει στην πρόληψη της κολποκοιλιακής παλινδρόμησης του αίματος.

Κατά τη διάρκεια της κοιλιακής συστολής, το περικάρδιο διευκολύνει την πλήρωση των κόλπων, υποστηρίζοντας τη διατήρηση αρνητικών ενδοθωρακικών πιέσεων σε συνεργασία με τους υπόλοιπους ενδοθωρακικούς ιστούς. Επιπλέον, συμμετέχει στη ρύθμιση της καρδιακής συχνότητας και της αρτηριακής πίεσης, ανταποκρινόμενο σε

νευρικά ερεθίσματα. Τέλος, διασφαλίζει τη σταθεροποίηση και την ομοιογενή κατανομή των ενδομυοκαρδιακών τοιχωματικών πιέσεων, διατηρώντας τον μηχανισμό Frank–Starling σε όλα τα επίπεδα φόρτισης, μέσω της λειτουργίας ενός υδροστατικού ρυθμιστικού συστήματος. (13–15)

Οι μηχανικές ιδιότητες του περικαρδίου έχουν τεκμηριωθεί σε πλήθος μελετών, οι οποίες αφορούν τόσο το τοιχωματικό όσο και το σπλαχνικό περικάρδιο σε ανθρώπους, σκύλους και χοίρους, με μικρές μόνο ποσοτικές διαφορές μεταξύ των ειδών. *In vitro* μελέτες στο τοιχωματικό περικάρδιο σκύλων αποκάλυψαν την ύπαρξη ιξώδους/ελαστικής συμπεριφοράς, η οποία αποδίδεται κυρίως στην παρουσία και την οργάνωση των κολλαγόνων και ελαστικών ινών. Οι ιδιότητες αυτές ευθύνονται για τρεις βασικές λειτουργίες: τον περιορισμό των διακυμάνσεων του όγκου των κοιλιών κατά τις απότομες μεταβολές τους, τη διακοιλιακή αλληλεπίδραση, καθώς και τη συμβολή του περικαρδίου στις μεταβολές της διαστολικής καμπύλης πίεσης/όγκου των κοιλιών. (19)

Αντίστοιχες μελέτες *in vitro* στο επικάρδιο ανθρώπων και χοίρων, κατέδειξαν την ύπαρξη ελαστικών ιδιοτήτων, οι οποίες σχετίζονται με τη σύσταση και τον προσανατολισμό του συνδετικού ιστού. Το ανθρώπινο επικάρδιο εμφανίζει χαρακτηριστικά διαμήκη και περιμετρική συστολική βράχυνση, με την ενέργεια που αποθηκεύεται και απελευθερώνεται κατά τη διαστολή να συμβάλλει στις παθητικές μηχανικές ιδιότητες του μυοκαρδίου. Επιπλέον, το επικάρδιο φαίνεται να διαδραματίζει ρόλο στη ρύθμιση του τελοδιαστολικού όγκου των κοιλιών. (8)

1.6 Υδροδυναμική περικαρδιακού υγρού

Η ανθρώπινη περικαρδιακή κοιλότητα περιέχει, υπό φυσιολογικές συνθήκες, περίπου 20-60 ml υγρού. Σε μελέτες σε πρόβατα, έχει παρατηρηθεί ότι το περικαρδιακό υγρό

παροχετεύεται πλήρως μέσω των λεμφαγγείων εντός 5–7 ωρών κατά τη φάση ηρεμίας.

(16). Η διατήρηση σταθερού όγκου περικαρδιακού υγρού προκύπτει από τη δυναμική ισορροπία μεταξύ της παραγωγής και της παροχέτευσής του. Κατά τη διάρκεια του καρδιακού κύκλου, υπάρχουν ενδείξεις ότι το περικαρδιακό υγρό προέρχεται από δύο βασικές πηγές: μια μικρή ποσότητα διάμεσου υγρού που προέρχεται από το υποκείμενο μυοκάρδιο, και ένα υπερδιήθημα πλάσματος που διέρχεται από τα επικαρδιακά τριχοειδή αγγεία — και ενδεχομένως από εκείνα του τοιχωματικού περικαρδίου. Η παροχέτευση του υγρού πραγματοποιείται μέσω των λεμφαγγείων του τοιχωματικού περικαρδίου.

Ωστόσο, η πλήρης κατανόηση της διαδικασίας παραγωγής και παροχέτευσης του περικαρδιακού υγρού παραμένει περιορισμένη, κυρίως εξαιτίας της δυσκολίας μελέτης του υπό φυσιολογικές *in vivo* συνθήκες.

Μεταξύ της μικροκυκλοφορίας και της περικαρδιακής κοιλότητας υπάρχει μια ισορροπία ωσμωτικών και υδροστατικών πιέσεων, η οποία διέπει την κυκλοφορία του υγρού διαμέσου των περικαρδιακών πετάλων. Όπως απεικονίζεται και στην **Εικόνα 1**, η διαδικασία αυτή περιγράφεται από την εξίσωση Starling ως εξής:

$$\text{Διακίνηση Υγρού} = L \times S [(P_{\text{cap}} - P_p) - \sigma \times (\Pi_{\text{cap}} - \Pi_p)]$$

όπου το P συμβολίζει τις υδροστατικές πιέσεις και το Π τις ωσμωτικές πιέσεις εντός των τριχοειδών (cap) και της περικαρδιακής κοιλότητας (p), το L είναι η σταθερά υδραυλικής αγωγιμότητας της μεμβράνης, το σ είναι ο συντελεστής ανάκλασης πρωτεϊνών του συνδυασμένου φραγμού ενδοθηλίου/διάμεσου ιστού και το S είναι το εμβαδόν της επιφάνειας. (1)

Η μέτρηση της P_p (πίεση εντός της περικαρδιακής κοιλότητας) είναι δύσκολη, καθώς επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, όπως οι φάσεις του καρδιακού και του

αναπνευστικού κύκλου, η θέση μέτρησης, καθώς και ο όγκος και η ταχύτητα συσσώρευσης του περικαρδιακού υγρού. Όμως, τα δύο σημαντικότερα προβλήματα είναι η παραμόρφωση του περικαρδιακού σάκου που προκαλείται από την εισαγωγή του καθετήρα μέτρησης και το μικρό μέγεθος της περικαρδιακής κοιλότητας ($<0,34$ mm). Πιο συγκεκριμένα, όταν η συσσώρευση υγρού είναι ταχεία ή όταν ο όγκος του είναι μεγάλος, η Pp αυξάνεται ραγδαία. Αντιθέτως, όταν η συγκέντρωση του υγρού είναι βραδεία, επιτρέπει τη συλλογή μεγαλύτερης ποσότητας χωρίς να προκαλείται αιμοδυναμική αστάθεια. Αυτό το φαινόμενο οφείλεται στις ιξώδο/ελαστικές ιδιότητες του τοιχωματικού περικαρδίου. Κατά τη διάρκεια της διαστολής, η Pp αυξάνεται λόγω της εγγύτητας των περικαρδιακών πετάλων, ενώ κατά τη συστολή μειώνεται αντίστοιχα. (17)

Κατά την εκπνοή, η πίεση στην περικαρδιακή κοιλότητα (Pp) γίνεται λιγότερο αρνητική, ενώ κατά την εισπνοή γίνεται περισσότερο αρνητική. Ενδεικτικά, στον άνθρωπο η τελοεκπνευστική πίεση είναι περίπου -3 mmHg, ενώ η τελοεισπνευστική φτάνει έως και -5 mmHg. Η τελοδιαστολική τιμή της Pp διαφέρει ανάλογα με την ανατομική θέση εντός της περικαρδιακής κοιλότητας. Συγκεκριμένα, στους ευρύτερους ανατομικούς χώρους, όπως η κολποκοιλιακή και μεσοκοιλιακή αύλακα, η τιμή αυτή προσεγγίζει το μηδέν, ενώ στο ελεύθερο τοίχωμα των κοιλιών μπορεί να φτάσει έως και 20 mmHg. Αυτή η κατανομή των πιέσεων εξασφαλίζει τη συνεχή ανάδευση του περικαρδιακού υγρού, συμβάλλοντας στη διατήρηση ομοιογενούς σύστασης, ανεξάρτητα από το σημείο συλλογής του υγρού.

Η μικροκυκλοφορία του περικαρδίου προέρχεται από αγγεία της συστηματικής κυκλοφορίας, ενώ η φλεβική παροχέτευση πραγματοποιείται μέσω της άνω κοίλης φλέβας, η οποία ανήκει σε σύστημα υψηλών πιέσεων. Υπό αυτές τις συνθήκες, η

υδροστατική πίεση των τριχοειδών (P cap) ανέρχεται περίπου στα 25 mmHg, ενώ η οσμωτική πίεση (Πcap) κυμαίνεται μεταξύ 25 και 28 mmH.(11) (Εικόνα 2).

Η θεωρία αυτή υποστηρίζει ότι φυσιολογικά το περικαρδιακό υγρό εισέρχεται στην περικαρδιακή κοιλότητα κυρίως από τα αγγεία της συστηματικής κυκλοφορίας του επικαρδίου, ενώ κατά τη διάρκεια του καρδιακού κύκλου μπορεί να εισέρχεται και μέσω της διήθησης του μεσοκυττάριου υγρού από το υποκείμενο μυοκάρδιο. Από την άλλη, η απομάκρυνση του περικαρδιακού υγρού γίνεται κυρίως μέσω των λεμφαγγείων του τοιχωματικού πετάλου.

	Epicardium	Pericardial Cavity Fluid
Hydrostatic Pressure (P)	25	3 – (-5)
Colloidosmotic Pressure (Π)	25-28	5.9-8
Net Driving Pressure (mmHg)	2-10	

Εικόνα 1: Production of pericardial fluid as a net pressure phenomenon. Η υδροστατική και η κολλοειδής οσμωτική πίεση του επικαρδίου και του υγρού της περικαρδιακής κοιλότητας. Υπάρχει μια καθαρή διαφορά πίεσης 2-10mmHg που ωθεί το υγρό από το επικάρδιο στην περικαρδιακή κοιλότητα.

1.7 Ροή Λέμφου στο Περικάρδιο

Επειδή οι λείες μυϊκές ίνες είναι διατεταγμένες κυλινδρικά γύρω από το τοίχωμα του περικαρδίου, γεγονός που τους προσδίδει ιδιότητες αντλίας και αγωγού, διαθέτουν υψηλή ικανότητα απορρόφησης. (16) Όπως και η καρδιακή αντλία, η διαστολική και η συστολική περίοδος αυτής της αντλίας διέπονται από την εξίσωση Frank-Starling, αυξάνοντας έτσι την ικανότητα απορρόφησης των λεμφαγγείων σε συνθήκες αυξημένου «προφορτίου». Οι πρώιμες μελέτες σχετικά με το ρόλο των λεμφαγγείων στην παροχέτευση του περικαρδιακού υγρού ήταν αμφιλεγόμενες. Τελικά, διαπιστώθηκε όμως ότι τα λεμφαγγεία διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο. (18)

Η ιδέα ότι η παροχέτευση υγρού μέσω των λεμφαγγείων αυξάνεται ανάλογα με την αύξηση της πίεσης ή του όγκου του υγρού, έως και τέσσερις φορές, υποστηρίζεται από *in vivo* έρευνες, που πραγματοποιήθηκαν σε πρόβατα. Το φαινόμενο αυτό έχει αποδοθεί σε μεταβολές των ενδογενών λεμφαγγειακών χαρακτηριστικών, που προκαλούνται από νευροορμονική διέγερση, καθώς και σε επιδράσεις εξωτερικών παραγόντων στη λειτουργία των λεμφαγγείων. Έχει δε ιδιαίτερη κλινική σημασία σε καταστάσεις όπου παρατηρείται συσσώρευση υγρού, όπως στον καρδιακό επιπωματισμό. Επιπλέον, υπάρχουν ενδείξεις επικοινωνίας μεταξύ του περικαρδίου και της υπεζωκοτικής κοιλότητας μέσω πόρων σε ποντίκια και κουνέλια, αλλά όχι σε πρόβατα. Οι πόροι αυτοί έχουν διάμετρο έως και 50 μm και υπό ορισμένες συνθήκες, επιτρέπουν στο υγρό να διαρρέυσει προς την υπεζωκοτική κοιλότητα. (16)

1.8 Διακίνηση ύδατος, ηλεκτρολυτών και αλβουμίνης

Παλαιότερες μελέτες αποκάλυψαν στοιχεία που υποστηρίζουν την παθητική παρακυττάρια διακίνηση μακρομορίων (δεξτράνες, αλβουμίνη) μέσω «μεγάλων» πόρων, οι οποίοι ενδέχεται να λειτουργούν είτε ως πραγματικά κανάλια είτε ως παροδικοί σχηματισμοί κυστιδίων που εγκολπώνουν τις μακρομοριακές ενώσεις. Επίσης, υπάρχουν δεδομένα που υποστηρίζουν την παθητική διάχυση νερού, ιόντων Na^+ , Cl^- και μικρών μορίων (μαννιτόλη, σουκρόζη). Το μεσοθήλιο αναγνωρίστηκε ως ο πρωταρχικός μορφολογικός και λειτουργικός φραγμός σε αυτές τις διαδικασίες. Ωστόσο, η ενεργητική μεταφορά ιόντων μέσω του τοιχωματικού περικαρδίου ήταν περιορισμένη. (19–21)

Πιο συγκεκριμένα στο τοιχωματικό περικάρδιο του κουνελιού η ηλεκτρική αντίσταση μετρήθηκε και αποδίδεται στο μεσοθηλιακό φραγμό, ο οποίος εμφανίζει μεγαλύτερη αντίσταση ($10,1 \pm 0,9 \Omega \times \text{cm}^2$) σε σχέση με τον υποκείμενο συνδετικό ιστό ($1 \pm 0,2 \times \text{cm}^2$). Αυτά τα ευρήματα αποδεικνύουν ότι η διακίνηση των μορίων ελέγχεται κυρίως από το μεσοθήλιο. (20) Μεταγενέστερη μελέτη, υποστήριξε ότι η ενεργός μεταφορά ηλεκτρολυτών μέσω του τοιχωματικού περικαρδίου έχει κατεύθυνση από την βασική προς την κορυφαία επιφάνεια, με πίεση μεταφοράς περίπου $3 \text{ cmH}_2\text{O}$, η οποία είναι πέντε φορές μεγαλύτερη από αυτή του υπεζωκότα. (22) Η ίδια μελέτη ανέδειξε επίσης, ότι η σταθερά διάχυσης της αλβουμίνης ($0,26\text{--}0,96 \times 10^{-8} \text{ cm}^2/\text{s}$) στο τοιχωματικό περικάρδιο του κουνελιού είναι ανεξάρτητη από τη συγκέντρωσή της. Το περικάρδιο παρουσιάζει μεγαλύτερη ακαμψία και λιγότερη διαπερατότητα σε σύγκριση με άλλες ορογόνες μεμβράνες, λόγω της υψηλότερης συγκέντρωσης υαλουρονικού οξέος και του μεγαλύτερου αριθμού ινών κολλαγόνου σε σχέση με τις ελαστικές ίνες. Επιπρόσθετα, οι υψηλότερες τιμές υδραυλικής και ηλεκτρικής αντίστασης του περικαρδίου και ιδιαίτερα της μεσοθηλιακής στοιβάδας συνδέονται με τα προαναφερθέντα χαρακτηριστικά. Σύμφωνα με *in vitro* μελέτη στο τοιχωματικό

περικάρδιο η υδραυλική αγωγιμότητα συσχετίζεται άμεσα με το πάχος της μεμβράνης σε όλα τα είδη και είναι ανεξάρτητη από την οδηγό υδροστατική πίεση, εφόσον αυτή παραμένει εντός των ορίων από 6 έως 15 cmH₂O. (23)

Η διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση, που αποτελεί και δείκτη μεταφοράς ιόντων, μεταβάλλεται στα διάφορα είδη. Το τοιχωματικό περικάρδιο των κουνελιών παρουσίασε τιμές της τάξης των $10,1 \pm 0,9 \Omega \times \text{cm}^2$, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, ενώ στα πρόβατα αυτές οι τιμές ήταν σχεδόν διπλάσιες περί τα $22,83 \pm 0,4 \Omega \times \text{cm}^2$. Παράλληλα, οι επιδράσεις της μορφίνης στο περικάρδιο αξιολογήθηκαν σε παλαιότερες μελέτες, οι οποίες έδειξαν ότι η εφαρμογή μορφίνης αυξάνει την ηλεκτρική αντίσταση του περικαρδίου. Παρόμοια ευρήματα παρατηρήθηκαν στον υπεζωκότα και το περιτόναιο, υποδηλώνοντας ότι η ικανότητα ιοντικής μεταφοράς των τριών ορογόνων μεμβρανών επηρεάζεται από τον ίδιο μηχανισμό δράσης των οπιοειδών. (23,24)

2. Παθοφυσιολογία

Υπάρχουν λίγα στοιχεία που αφορούν στην παθοφυσιολογική διαδικασία συλλογής υγρού, καθώς η παθολογική περικαρδιακή συλλογή είναι μια σπάνια νόσος ενώ συνοδεύεται από υψηλό κίνδυνο κατά την περικαρδιοκέντησης. (25)

Ωστόσο, έπειτα από *in vitro* μελέτες σε ζώα (σκύλος, κουνέλι, ποντίκι, πρόβατο) υπάρχουν ενδείξεις ότι η διαταραχή της ελεύθερης παροχέτευσης της λέμφου από το περικάρδιο ενδέχεται να περιορίσει τον ρυθμό απομάκρυνσης του υγρού και να συμβάλει στη δημιουργία και διατήρηση της περικαρδιακής συλλογής. (26) Η αυξημένη παραγωγή υγρού, είτε από μόνη της είτε συνδυαστικά με διαταραχή της παροχέτευσής του, μπορεί να εξηγήσει τη συλλογή του περικαρδιακού υγρού. (27)

Τα αίτια μιας περικαρδιακής συλλογής είναι ποίκιλα και κατηγοριοποιούνται ανάλογα με την υποκείμενη νόσο. Αρχικά, υπάρχουν λοιμώδη αίτια τα οποία μπορεί να είναι ιογενούς ή βακτηριακής φύσης, ή να οφείλονται σε προσβολή από μύκητες και παράσιτα. Δεύτερον, αυτοάνοσα νοσήματα όπως συστηματικός ερυθηματώδης λύκος, ρευματοειδή αρθρίτιδα, σκληρόδερμα, ρευματικός πυρετός, δερματομυοσίτιδα, αγκυλοποιητική σπονδυλίτιδα, οζώδης πολυαρτηρίτιδα, σύνδρομο Reiter, οικογενής μεσογειακός πυρετός, σύνδρομο Dressler και μετεμφραγματικά συμβάματα. Επιπλέον, η περικαρδίτιδα ενδέχεται να προκληθεί από παθήσεις γειτονικών οργάνων όπως μυοκαρδίτιδα, καρδιακή ανεπάρκεια, ρήξη ανευρύσματος αορτής, πνευμονικό έμφρακτο, πνευμονία, παθήσεις οισοφάγου. Άλλα αίτια της περικαρδιακής συλλογής είναι η κύηση, τραυματισμοί του θώρακα, νεοπλάσματα του πνεύμονα, του μαστού, του πεπτικού, λευχαιμίες καθώς και ιδιοπαθή αίτια. (26)

Η διϋδρωματική περικαρδιακή συλλογή μπορεί να προκληθεί από οποιαδήποτε αιτία που οδηγεί σε αύξηση της υδροστατικής πίεσης ή σε μείωση της τριχοειδούς ωσμωτικής πίεσης. Συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, υποθυρεοειδισμός, νεφρική ανεπάρκεια (ουραιμία), ακτινοβολία, τραύμα και φυσιολογικό περικαρδιακό υγρό είναι μερικά παραδείγματα αυτών των αιτιών. Επιπλέον κακοήθειες, λοιμώξεις, φλεγμονές και η περικαρδιοτομή διαταράσσουν τη διαπερατότητα των περικαρδιακών πετάλων ή τη λεμφική παροχέτευση τα οποία έχουν σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία εξιδρωματικής περικαρδιακής συλλογής. (27)

Τα κριτήρια διαφοροδιάγνωσης διϋδρωματικών και εξιδρωματικών συλλογών είναι πολύ σημαντική. Η υψηλή διαγνωστική επάρκεια στον διαχωρισμό των εξιδρωματικών συλλογών επιτεύχθηκε με τη χρήση των κριτηρίων Light, τα οποία προσαρμόστηκαν κατάλληλα για περικαρδιακές συλλογές (ολική πρωτεΐνη υγρού >3gr/dL, πρωτεΐνη υγρού/πρωτεΐνη ορού >0,5, LDH υγρού >300U/dL, LDH υγρού/LDH ορού >0,6). Η

θετική προγνωστική αξία ήταν περίπου 94%. Το κύριο μειονέκτημά τους είναι η πιθανότητα ένα διΐδρωμα να αναγνωριστεί εσφαλμένα ως εξίδρωμα. (27) Αιτία αυτού του φαινομένου είναι η σχετικά υψηλή συγκέντρωση πρωτεΐνης και LDH του φυσιολογικού περικαρδιακού υγρού. Τέλος, υπάρχουν ενδείξεις ότι τα επίπεδα πρωτεΐνης και LDH του περικαρδιακού υγρού (όπως και του υπεζωκοτικού) μπορεί να αυξηθούν ακόμη περισσότερο κατά τη λήψη διουρητικών, με αποτέλεσμα να προκαλείται μια κατάσταση που χαρακτηρίζεται ως «ψευδοεξίδρωμα». (11)

Κατά περιόδους, εκτιμήθηκε η διαγνωστική αξία κι άλλων κριτηρίων, συμπληρωματικών των κριτηρίων Light (επίπεδα χοληστερόλης και χολερυθρίνης υγρού και οι λόγοι τους με το πλάσμα), που τελικά αποδείχθηκαν υποδεέστερα. (27) Η διαφορά στη συγκέντρωση αλβουμίνης μεταξύ ορού και περικαρδιακού υγρού (SEAG) είναι χρήσιμη όταν υπάρχει διΐδρωματική περικαρδιακή συλλογή η οποία εξαιτίας της χρήσης διουρητικής αγωγής έχει χαρακτηριστικά «ψευδοεξιδρώματος». Η τιμή $<12\text{gr/L}$ αποτελεί το όριο εξιδρώματος, με ευαισθησία και ειδικότητα περίπου 90%. (27,28)

Ο κυτταρικός πληθυσμός της περικαρδιακής συλλογής μπορεί να συμβάλλει στην κατηγοριοποίηση της. Το εξίδρωμα έχει περίπου ίδια αναλογία κυτταρικών υποπληθυσμών και αριθμού ερυθροκυττάρων με το διΐδρωμα, αυτό που το χαρακτηρίζει όμως είναι ο υψηλότερος αριθμός λευκοκυττάρων που ξεπερνάει τα 10.000 λευκοκύτταρα ανά ml. (11)

3.1 Μεσοθήλιο

Ο Xavier Bichat αρχικά περιέγραψε το μεσοθήλιο το 1827 όταν χρησιμοποιώντας ιστολογικές μεθόδους κατάφερε να προσδιορίσει ότι ένα μόνο στρώμα πεπλατυσμένων

κυττάρων που έμοιαζαν με λεμφικά κύτταρα, επένδυε τις ορογόνες κοιλότητες. Ο Charles Sedgwick Minot αναφέρθηκε για πρώτη φορά σε αυτό το στρώμα ως «επιθηλιακή επένδυση των κοιλοτήτων μεσοδερματικής προέλευσης στα θηλαστικά» σε μια ενδελεχή μελέτη της εμβρυολογικής προέλευσης του μεσοθηλίου το 1880. Αργότερα επινόησε τη λέξη «μεσοθήλιο». (29,30)

3.2 Εμβρυολογία

Από εμβρυολογικής άποψης, ανάλογα με το είδος, το μεσοθήλιο αναπτύσσεται από τον μεσοδερματικό ιστό μεταξύ της 8^{ης} και της 18^{ης} ημέρας της κύησης. Στους ανθρώπους, αυτό συμβαίνει την 14^η μέρα της κύησης όπου τα κύτταρα σταδιακά μεταβάλλονται από στρογγυλά ή κυβοειδή σε επιμήκη πεπλατυσμένα κύτταρα που επενδύουν τις ορογόνες κοιλότητες, δηλαδή την υπεζωκοτική, την περιτοναϊκή και την περικαρδιακή, καθώς και ασκό των όρχεων στα αρσενικά άτομα. Το μεσοθήλιο διακρίνεται στο περισπλάχνιο μεσοθήλιο (visceral) το οποίο επενδύει τα εσωτερικά όργανα και στο τοιχωματικό μεσοθήλιο (parietal) το οποίο επενδύει την εσωτερική επιφάνεια του εξωτερικού τοιχώματος. (30)

3.3 Ιστολογία

Το μεσοθήλιο είναι ένα μονόστιβο, κυρίως πλακώδες επιθήλιο το οποίο καλύπτει τα εσωτερικά όργανα και τις ορογόνες κοιλότητες (υπεζωκότα, περικάρδιο και περιτόναιο) του οργανισμού. Ανεξάρτητα από την ανατομική τους θέση, οι μεσοθηλιακές μεμβράνες των θηλαστικών είναι όμοιες τόσο ως προς την ανατομία όσο και ως προς τη λειτουργία τους. Τα επιθηλιακά κύτταρα του μεσοθηλίου ονομάζονται

μεσοθηλιακά. (30,31)

Τα μεσοθηλιακά κύτταρα αναπαύονται πάνω σε μια λεπτή βασική μεμβράνη. Κάτωθεν της βασικής μεμβράνης υπάρχει ένα στρώμα συνδετικού ιστού που ποικίλει σε ποιότητα και ποσότητα ανάλογα με το είδος και τον ιστό στον οποίο βρίσκονται. Τα μεσοθηλιακά κύτταρα είναι κυρίως επιμήκη πλακώδη κύτταρα, με διάμετρο περίπου 25μm στα οποία το κυτταρόπλασμα εκτείνεται γύρω από έναν στρογγυλό ή οβοειδή πυρήνα. Επιπλέον περιέχουν μικροσωληνίσκους και μικρονημάτια, γλυκογόνο, κυστίδια και κενοτόπια, λίγα μιτοχόνδρια, μια ελλιπώς ανεπτυγμένη συσκευή Golgi και ένα μικρό τραχύ ενδοπλαστικό δίκτυο (RER), η ύπαρξη των οποίων υποδεικνύει ότι πρόκειται για μεταβολικά ενεργά κύτταρα. Εκτός από τα πλακώδη κύτταρα, σε πολλές περιοχές ανευρίσκονται και κυβοειδή κύτταρα, (διαφραγματικά πέταλα του μεσοθωράκιου υπεζωκότα, στα “milky spots” του σπλαχνικού περιτόναιου, και στην περιτοναϊκή πλευρά του διαφράγματος). Επιπρόσθετα, κυβοειδή κύτταρα είναι δυνατόν να αναπτυχθούν έπειτα από διέγερση των ορογόνων επιφανειών ή σε περιοχές τραυματισμού. (29)

3.4 Φυσιολογία μεσοθηλιακών κυττάρων

Τα μεσοθηλιακά κύτταρα επιτελούν πολλές λειτουργίες. Αρχικά, συμμετέχουν ενεργά στη διακίνηση υγρού καθώς και διαλυμένων ουσιών. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της ενεργητικής μεταφοράς ηλεκτρολυτών και ύδατος, μεσοκυττάρων συνδέσεων και λεμφαγγειακών στομάτων. (32,33)

Επίσης, συμβάλλουν στη λίπανση και την προστασία της περικαρδιακής μεμβράνης παράγοντας και εκκρίνοντας φωσφατιδυλοχολίνη, η οποία λειτουργεί ως λιπαντικό, ελαχιστοποιώντας με αυτόν τον τρόπο τις δυνάμεις τριβής που αναπτύσσονται μεταξύ

των ορογόνων πετάλων. Έτσι, περιορίζεται η ιστική βλάβη και διευκολύνεται η λειτουργία του εκάστοτε οργάνου. Τα μεσοθηλιακά κύτταρα συνδέονται μέσω δεσμοσωμάτων και στενών συνδέσεων, ενώ εκκρίνουν γλυκοζαμίνες, κυρίως υαλουρονικό συνθέτοντας με αυτό τον τρόπο περιβλήματα γύρω από τις μικρολάχνες. Το παραπάνω συμβάλει στην προστασία των υποκείμενων ιστών. Ταυτόχρονα, το υαλουρονικό συμμετέχει και στην κυτταρική διαφοροποίηση, εμποδίζοντας με αυτό τον τρόπο τον σχηματισμό συμφύσεων και τη διασπορά καρκινικών κυττάρων. (34–40)

Παράλληλα, τα μεσοθηλιακά κύτταρα συνθέτουν ανοσορυθμιστικούς παράγοντες (προσταγλανδίνες, χημειοκίνες, αυξητικούς παράγοντες κ.λπ.) που εμπλέκονται στις φλεγμονώδεις διεργασίες. Οι ανοσορυθμιστικοί παράγοντες εκκρίνονται ως απάντηση σε ενδοτοξίνες που παράγονται από βακτήρια, από ερεθισμό από ίνες, αμίαντο και εγχεόμενες ουσίες και έχουν ως στόχο την αποκατάσταση της δομής και της λειτουργίας της ορογόνου μεμβράνης. Οι παράγοντες αυτοί επίσης συμμετέχουν τόσο στην παρουσίαση του αντιγόνου όσο και στην ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων. Πιο συγκεκριμένα, εκφράζουν το μόριο ενδοκυτταρικής προσκόλλησης -1 (ICAM-1), και διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό των CD4+ βοηθητικών T λεμφοκυττάρων. (41)

Μια άλλη λειτουργία των μεσοθηλιακών κυττάρων είναι ο ρόλος τους στην προσκόλληση και η ανάπτυξη νεοπλασματικών κυττάρων. Παρόλα αυτά ο μηχανισμός με τον οποίο τα δυο αυτά είδη κυττάρων «συνεργάζονται» δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως. Πιθανόν, τα νεοπλασματικά κύτταρα να προσδένονται στο κάλυμμα του υαλουρονικού του μεσοθηλίου. *In vitro* δεδομένα, ωστόσο αποκάλυψαν ότι το υαλουρονικό απέτρεψε την προσκόλληση νεοπλασματικών κυττάρων, λόγω σύνδεσης του με τα μόρια CD44 που βρίσκονται στην επιφάνεια των νεοπλασματικών κυττάρων. (42)

Ταυτόχρονα, είναι πολύ σημαντικό να ρυθμίζονται οι παράγοντες που ήδη αναφέρθηκαν, σε περιπτώσεις τραυματισμών από χειρουργικές επεμβάσεις, θεραπείες ή λοιμώξεις. Η ισορροπία ανάμεσα στους μηχανισμούς έναρξης και λήξης της φλεγμονώδους απόκρισης, προάγει την ιστική ανάπλαση και διατηρεί την φυσιολογική λειτουργία του μεσοθηλίου. Αν δεν υπάρχει ισορροπία, αυξάνεται η διαπερατότητα του μεσοθηλίου και των τριχοειδών, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή εξιδρώματος και τελικά τον σχηματισμό ίνωσης και συμφύσεων.

Τέλος, τα μεσοθηλιακά κύτταρα εμπλέκονται στον σχηματισμό (πήξη) και στην αποδόμηση (ινωδόλυση) του ινώδους μέσα στις ορογόνες κοιλότητες. Η ινωδόλυση συμμετέχει στην μετατραυματική απομάκρυνση εναποθέσεων ινώδους. Σε περίπτωση που ο μηχανισμός αποτύχει, σε συμφύσεις μεταξύ των πετάλων οργανώνεται το ινώδες. Σε νοσήματα του υπεζωκότα αυτό μπορεί να τύχει «εκμετάλλευσης» προκειμένου να επιτευχθεί ο ελεγχόμενος τεχνητός σχηματισμός συμφύσεων (πλευροδεσία). (43)

3.5 Διαπερατότητα ορογόνων μεμβρανών

Η κυτταροπλασματική μεμβράνη λειτουργεί επίσης ως ρυθμιστής διαπερατότητας κι επιτρέπει στο κυτταρόπλασμα να διατηρεί μια διαφορετική σύνθεση από το εξωκυττάριο υγρό. Σε επίπεδο ιστού, η συνολική διαπερατότητα της μεμβράνης (π.χ. περικαρδιακής μεμβράνης) εξαρτάται από τις ιδιότητες των κυττάρων που τη συνθέτουν και υπάρχει ποικιλία μηχανισμών που καθορίζει τη διακίνηση υγρού διαμέσου της. Για παράδειγμα, το υπεζωκοτικό υγρό που απορροφάται κάθε μέρα από τον τοιχωματικό υπεζωκότα ξεπερνά τα 700 mL, ενώ μέσα σε 5-7 ώρες ανακυκλώνεται ολόκληρη η ποσότητα του περικαρδιακού υγρού. (44)

3.6 Μηχανισμοί διακίνησης διαλυμένων ουσιών και ύδατος

Οι μηχανισμοί που έχουν αναγνωρισθεί ως κύριοι υπεύθυνοι για την διακίνηση διαλυμένων ουσιών και ύδατος είναι οι εξής:

Παθητική διάχυση, η οποία αφορά την τυχαία κίνηση ουσιών είτε διαμέσου μεσοκυττάρων χώρων, είτε μορίων της κυτταρικής μεμβράνης, είτε σε «συνεργασία» με μια συγκεκριμένη πρωτεΐνη φορέα. Η θερμική ενέργεια είναι υπεύθυνη για την κίνηση των ουσιών. Η παθητική διάχυση μεταβάλλεται από διαφορές στη συγκέντρωση των ουσιών μεταξύ των δύο πλευρών της μεμβράνης. Δεδομένου ότι η σταθερά διάχυσης ενός σωματιδίου μέσω μιας μεμβράνης είναι αντιστρόφως ανάλογη με το μοριακό βάρος, τα αιωρούμενα κολλοειδή σωματίδια διαχέονται πιο αργά από τα ιόντα. (44)

Ενεργητική μεταφορά, η οποία πέρα από την κινητική του κάθε μορίου απαιτεί και κατανάλωση ενέργειας ενώ διενεργείται αντίθετα από τη βαθμίδωση συγκέντρωσης ή το ηλεκτροχημικό δυναμικό. Η συγκεκριμένη μεταφορά πραγματοποιείται με τη βοήθεια ειδικών μεμβρανικών πρωτεϊνικών φορέων, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για τη διακίνηση ιόντων και άλλων διαλυμένων ουσιών. (44)

Διαπερατότητα επιθηλιακών μεμβρανών: Ένα από τα λειτουργικά χαρακτηριστικά των επιθηλιακών/μεσοθηλιακών κυττάρων είναι η εκλεκτικότητα των μηχανισμών μεταφοράς, οι οποίοι διαφέρουν μεταξύ κορυφαίας και βασικής επιφάνειας της κυτταρικής μεμβράνης. Ο φραγμός των στενών συνδέσεων, που καθορίζει την ανατομική θέση των μεταφορικών πρωτεϊνών, συμβάλλει σε αυτό. (45) Η μεταφορά ύδατος και διαλυμένων ουσιών μπορεί να πραγματοποιηθεί και μέσω των στενών συνδέσεων. Κατά συνέπεια, έχουν εντοπιστεί δύο οδοί διακίνησης στις επιθηλιακές μεμβράνες: πρώτον η διακυττάρια οδός, όπου η διακίνηση γίνεται μέσα από τα κύτταρα και η παρακυττάρια οδός, όπου η διακίνηση γίνεται μεταξύ των κυττάρων. (46) Η

διακυττάρια διακίνηση πραγματοποιείται και με παθητική διάχυση και με ενεργό μεταφορά. Παρόλο που η παρακυττάρια θεωρούνταν ότι πραγματοποιούνταν μόνο με παθητική διάχυση, υπάρχουν πειραματικά δεδομένα που παρουσιάζουν και την ενεργό μεταφορά. (46)

4.1 Μελέτη διαπερατότητας βιολογικών μεμβρανών με τη μέθοδο Ussing System:

Αυτή η μέθοδος, η οποία πήρε το όνομά της από τον Δανό ζωολόγο Dr. Hans H. Ussing, είναι μια καταξιωμένη μέθοδος μελέτης της διαπερατότητας των βιολογικών μεμβρανών. Η συσκευή αποτελείται από δύο λειτουργικά τμήματα. Το πρώτο, είναι ο θάλαμος εντός του οποίου τοποθετείται το προς μελέτη δείγμα και γίνονται οι μετρήσεις και το δεύτερο είναι το ηλεκτρικό κύκλωμα που προσαρμόζεται στο θάλαμο. Στο κέντρο του θαλάμου Ussing, η αντλία συγκρατεί το δείγμα ιστού (T) σαν επίπεδο στρώμα. Λούεται και από τις δύο πλευρές, με τη χρήση υδατικού διαλύματος Krebs, το οποίο έχει σύσταση παρόμοια με το μεσοκυττάριο υγρό και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως διαλύτης για οποιαδήποτε ουσία πρόκειται να μελετηθεί. Ένα βολτόμετρο χρησιμοποιείται για τη μέτρηση της διαφοράς δυναμικού σε millivolt (mV) που αναπτύσσεται εκατέρωθεν της μεμβράνης και την καταγράφει μέσω ενός ζεύγους ηλεκτροδίων (B') που απέχουν 3 mm από την επιφάνεια του ιστού. Επίσης ρεύμα μπορεί να παρασχεθεί στη μεμβράνη μέσω μιας μπαταρίας, ενός διαιρέτη τάσης (μΑ) και ενός επιπλέον ζεύγους ηλεκτροδίων (B) που βρίσκεται 3 cm μακριά από την επιφάνεια του ιστού. (47)

Η διάταξη έχει υποστεί μια σειρά τροποποιήσεων με βάση τις απαιτήσεις της εκάστοτε πειραματικής διαδικασίας. Ως αποτέλεσμα, μπορούν πλέον να μετρηθούν διάφορες παράμετροι, συμπεριλαμβανομένης της διαφοράς δυναμικού, της αντίστασης του συστήματος, της έντασης του ρεύματος, της εμπέδισης και της χωρητικότητας σε

μεγάλη ποικιλία ιστών. Υπάρχουν δύο τύποι συσκευών θαλάμου Ussing, η καθεμία με μοναδικά δομικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά: Πρώτον, οι θάλαμοι συνεχούς διήθησης (Continuously Perfused Chambers) και δεύτερον οι κυκλοφορούντες θάλαμοι (Circulating Chambers) που έχουν επικρατήσει λόγω της απλής τους κατασκευής, λειτουργίας και ερμηνείας των αποτελεσμάτων. Στις μέρες μας, η τεχνική χρησιμοποιείται τόσο για τη διερεύνηση της ακεραιότητας των κυτταρικών μεμβρανών όσο και σε πιο περίπλοκες χρήσεις, όπως η μελέτη της διηθητικής ικανότητας καρκινικών κυττάρων ή σε φαρμακοκινητικές μελέτες. (48)

Υπάρχουν δύο ιδιαίτερα χαρακτηριστικά που παρουσιάζουν οι επιθηλιακές μεμβράνες: η πολικότητα και η ιστική συνοχή. Η μετρούμενη διαφορά δυναμικού, η οποία οφείλεται στην ασύμμετρη κατανομή των πρωτεϊνών μεταξύ κορυφαίας και βασικής επιφάνειας του επιθηλίου, είναι ο τρόπος με τον οποίο εκφράζεται η πολικότητα. Οι μεσοκυττάρειες συνδέσεις και ο δείκτης ιστικής αντοχής στις ηλεκτρικές και μηχανικές καταπονήσεις δημιουργούν τη συνοχή. Η ηλεκτρική αντίσταση του ιστού είναι το μέτρο της ιστικής συνοχής και μπορεί να υπολογισθεί από την εξίσωση αντίστασης υλικών:

$$R = \rho \times (l / A)$$

όπου R: η ωμική αντίσταση του υλικού, ρ : η ειδική αντίσταση του υλικού που οφείλεται αποκλειστικά στη μοριακή του δομή, l: το πάχος του υλικού κατά τη φορά του ρεύματος και A: το εμβαδόν της υπό μελέτη επιφάνειας. Εάν τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά του υλικού διατηρηθούν σταθερά, η αντίσταση εξαρτάται μόνο από τη μοριακή δομή και έτσι μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μέτρο της ιστικής συνοχής. (48)

Με την τεχνική Ussing για να γίνει ο υπολογισμός της συνολικής αντίστασης της μεμβράνης, εφαρμόζεται εκατέρωθεν διαφορά δυναμικού. Αυτό δημιουργεί το

ηλεκτρικό πεδίο που χρειάζεται για τη μετακίνηση των ιοντικών φορτίων. Το ρεύμα που διέρχεται από τη μεμβράνη και αναδεικνύει την αντίσταση του ιστού παράγεται από τα φορτία. Η ονομασία αυτής της πειραματικής προσέγγισης ονομάζεται Καθήλωση Δυναμικού (Voltage Clamp). Το μειονέκτημα της είναι ότι δεν μπορεί να απεικονίσει ακριβώς τη φυσιολογική κατάσταση του κυττάρου. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η μετακίνηση των ηλεκτρολυτών του κυτταροπλάσματος γίνεται κατά τη φορά της εφαρμοσμένης τάσης και μπορεί να δώσει λάθος αποτελέσματα. Επίσης, το διερχόμενο ρεύμα μπορεί να βλάψει τόσο τις στενές συνάψεις όσο και τις πρωτεΐνες της μεμβράνης, οπότε δε θα αντιστοιχούν οι μετρήσεις με αυτές ενός ζωντανού επιθηλιακού κυττάρου. (48)

Μια διαφορετική τεχνική για την επίλυση του προβλήματος είναι η Καθήλωση Ρεύματος (Current Clamp). Στον ιστό χορηγούνται παλμοί συνεχούς ηλεκτρικού ρεύματος μικρής διάρκειας και προκαθορισμένης έντασης, για να αποτραπεί η διακίνηση των ιόντων του κυτταροπλάσματος. Ο τρόπος μέτρησης διαφέρει ανάμεσα στις δύο τεχνικές. Για τη Καθήλωση Δυναμικού χρησιμοποιείται ένα βολτόμετρο υψηλής εμπέδισης, το οποίο μετρά τις μεταβολές στην εφαρμοζόμενη τάση. Από την άλλη πλευρά, στη Καθήλωση Ρεύματος η γεννήτρια ηλεκτρικών παλμών συνδέεται με ένα αμπερόμετρο, το οποίο μετατρέπει την καταγραφόμενη ένταση ρεύματος σε διαφορά δυναμικού. (48)

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

5.1 Σκοπός της μελέτης

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας ήταν η διερεύνηση του ρόλου των μεσοθηλιακών κυττάρων στη ρύθμιση της διαπερατότητας του περικαρδίου, μέσω της μέτρησης της διαμεσοθηλιακής ηλεκτρικής αντίστασης (R_{TM}) σε μοντέλο περικαρδίου προβάτου. Επιπλέον ελέγχθηκε η δράση ουσιών που χρησιμοποιούνται σε περιπτώσεις περικαρδίτιδας (ιβουπροφαίνη και κολχικίνη), ουσιών που αναστέλλουν ή επάγουν ιοντικούς διαύλους και μεταφορείς (αμιλορίδη, βουμετανίδη και φορσκολίνη), ουσιών που επηρεάζουν το μεταβολισμό (2-δεοξυ-γλυκόζη) και ουσιών που μεταβάλλουν το μήκος του πρωτεύοντος κροσσού στα μεσοθηλιακά κύτταρα. Η κατανόηση των μηχανισμών που μεταβάλλουν τη λειτουργία των μεσοθηλιακών κυττάρων του περικαρδίου είναι σημαντική για την κατανόηση των τρόπων αντιμετώπισης των περικαρδιακών συλλογών

5.2 Συλλογή ιστού και προετοιμασία

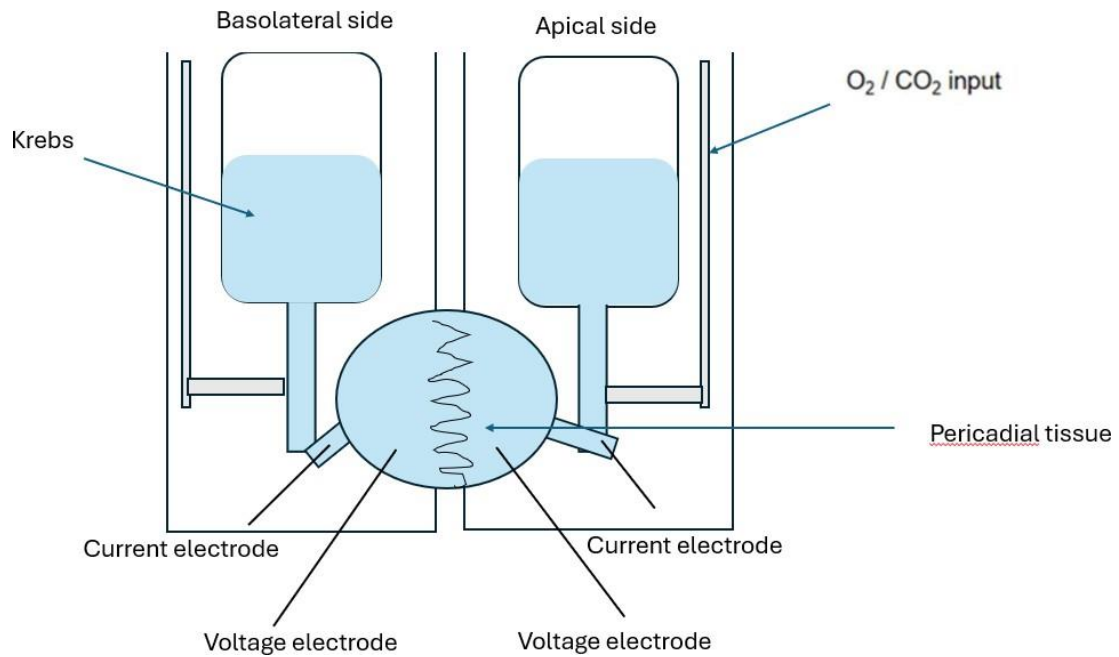
Για την διεξαγωγή των πειραμάτων, απομονώθηκαν ιστοί περικαρδίου από ενήλικα πρόβατα. Τα δείγματα συλλέχθηκαν στο χώρο σφαγής των ζώων, αμέσως μετά το θάνατο τους. Με τη χρήση ψαλιδιού, απομονώθηκε προσεκτικά το περικάρδιο. Στη συνέχεια, ο ιστός τοποθετήθηκε σε αποστειρωμένο βάζο που περιείχε διάλυμα Krebs με την εξής σύσταση (σε mM): 117,5 NaCl, 1,15 NaH_2PO_4 , 24,99 NaHCO_3 , 5,65 KCl, 1,18 MgSO_4 , 2,52 CaCl_2 , 5,55 γλυκόζη και pH 7,4. Ο ιστός μεταφέρθηκε αμέσως στο εργαστήριο μέσα σε ψυγείο γεμάτο με πάγο, προκειμένου να συντηρηθεί ο ιστός κατά τη διάρκεια της μεταφοράς. Όταν ο ιστός έφτασε στο εργαστήριο, ο λιπώδης ιστός

απομακρύνθηκε με προσεκτικούς χειρισμούς με τη χρήση νυστεριού, ώστε να παραμείνει μόνο το καθαρό τμήμα του τοιχωματικού περικαρδίου.

5.3 Πειραματική διαδικασία

Για τη μελέτη της διαπερατότητας των ιστών χρησιμοποιήθηκε η συσκευή Ussing. Η συσκευή Ussing, που κατασκευάστηκε το 1949 από τον Hans Ussing, χρησιμοποιείται για τη μελέτη της διαπερατότητας μεμβρανών σε ιόντα και διαλυμένες ουσίες. Κάθε θάλαμος Ussing αποτελείται από δυο ημιθαλάμους, μεταξύ των οποίων τοποθετείται ο υπό μελέτη ιστός, διασφαλίζοντας έτσι τον διαχωρισμό της κορυφαίας και της βασικοπλευρικής πλευράς του ιστού. Ταυτόχρονα, σε κάθε ημιθάλαμο υπάρχουν ηλεκτρόδια τα οποία συμβάλουν στη μέτρηση των ηλεκτρικών παραμέτρων, όπως η διαμεμβρανική αντίσταση, η τάση και το ρεύμα. (49)

Κατά την έναρξη των πειραμάτων, τα τεμαχισμένα τμήματα του ιστού τοποθετούνται προσεκτικά ανάμεσα στους δύο ημιθαλάμους Ussing. Η περιοχή αυτή έχει εμβαδό 1 cm². Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, κάθε ημιθάλαμος περιέχει 4ml διαλύματος, εξασφαλίζοντας έτσι την ίδια υδροστατική πίεση και στις δύο πλευρές της υπό μελέτη μεμβράνης. Επιπλέον, για την υποστήριξη της συνεχιζόμενης οξυγόνωσης και ανάδευσης του διαλύματος σε όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας, διατηρείται συνεχής ροή αερίου με σύσταση 95% O₂ – 5% CO₂ σε κάθε ημιθάλαμο, το οποίο συμβάλει ταυτόχρονα και στη σταθεροποίηση του pH. Παράλληλα, η θερμοκρασία των ιστών διατηρείται σταθερή στους 37°C κατά τη διάρκεια των πειραμάτων, προκειμένου να εξασφαλιστεί η ακριβής λειτουργία της ενεργητικής μεταφοράς των ηλεκτρολυτών χωρίς εξωτερικές μεταβολές.



Εικόνα 2. Το σύστημα του θαλάμου Ussing.

Για τη μελέτη της διαπερατότητας των μεμβρανών, απαιτείται ο υπολογισμός της διαμεσοθηλιακής αντίστασης (R_{TM} = Transmesothelial resistance), ο οποίος πραγματοποιείται μέσω των ηλεκτροδίων, τα οποία τοποθετούνται σε απόσταση 3mm εκατέρωθεν της μεμβράνης. Η μέτρηση της διαμεσοθηλιακής αντίστασης καταγράφεται ανά 6 δευτερόλεπτα σε ηλεκτρονικό υπολογιστή, μέσω ειδικού λογισμικού, και εκφράζεται σε $\Omega \cdot \text{cm}^2$.

Πριν την τοποθέτηση του ιστού, πραγματοποιείται έλεγχος της σωστής διάταξης των ηλεκτροδίων. Για τον έλεγχο αυτό, τοποθετούνται 4ml διαλύματος KREBS σε κάθε ημιθάλαμο και ξεκινάει η οξυγόνωση του διαλύματος. Στη συνέχεια, τοποθετούνται τα ηλεκτρόδια και από το λογισμικό στον υπολογιστή επιλέγεται η εντολή "Rf/dPE". Μετά από ένα λεπτό, ολοκληρώνεται η μέτρηση και οι ενδείξεις των παραμέτρων Rf και dPE στον υπολογιστή θα πρέπει να κυμαίνονται εντός των ορίων: 50-150 και -2,5

έως +2,5 αντίστοιχα. Εάν οι τιμές που καταγράφονται δεν βρίσκονται εντός αυτού του εύρους, τα ηλεκτρόδια αντικαθίστανται μέχρι να επιτευχθούν οι επιθυμητές τιμές.

Μετά την τοποθέτηση του ιστού στον θάλαμο και την εξασφάλιση των κατάλληλων συνθηκών, που αναφέρθηκαν προηγουμένως, πραγματοποιείται μέτρηση της αντίστασης για 30 λεπτά χωρίς την προσθήκη άλλων ουσιών. Αυτό επιτρέπει στον ιστό να επέλθει σε κατάσταση ηρεμίας και να σταθεροποιηθούν οι τιμές της αντίστασης.

Μετά την παρέλευση των 30 λεπτών, προστίθενται 40μL της υπό μελέτη ουσίας στην κορυφαία πλευρά και 40μL KREBS στην βασική πλευρά του ιστού, προκειμένου να διατηρηθεί η υδροστατική πίεση. Έπειτα από την προσθήκη της υπό μελέτη ουσίας, η μέτρηση της διαμεσοθηλιακής αντίστασης συνεχίζεται για 1 ώρα, προκειμένου να καταγραφούν οι διαφορές που προκύπτουν από την επίδραση της εκάστοτε ουσίας.

5.4 Αφαίρεση μεσοθηλίου από τα ιστοτεμάχια τοιχωματικού περικαρδίου προβάτου

Σε ορισμένα πειραματικά δείγματα πραγματοποιήθηκε απομάκρυνση της μεσοθηλιακής στιβάδας, προκειμένου να διαπιστωθεί ο ρόλος τους στη διαπερατότητα του περικαρδίου. Για το σκοπό αυτό εφαρμόστηκαν δύο τεχνικές. Στην πρώτη, εφαρμόστηκε μηχανική απόξεση του ιστού. Δηλαδή, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε επίπεδη επιφάνεια καλυμμένη με διάλυμα KREBS και πραγματοποιήθηκε προσεκτική μηχανική απομάκρυνση του μεσοθηλίου με τη χρήση νυστεριού. Στη δεύτερη τεχνική, αφού ολοκληρώθηκε η μηχανική απόξεση, ακολούθησε πλύση του ιστού με απιονισμένο νερό, ώστε να ενισχυθεί περαιτέρω η απομάκρυνση υπολειπόμενων κυττάρων μέσω ωσμωτικής δράσης. Στη συνέχεια, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε

συνεχώς οξυγονούμενο διάλυμα KREBS και διατηρήθηκαν σε σταθερή θερμοκρασία έως τη χρήση τους στα πειράματα με τη συσκευή Ussing.

5.5 Ιστολογική ανάλυση

Δείγματα από φυσιολογικό περικάρδιο και δείγματα μετά από απόξεση του μεσοθηλίου σταθεροποιήθηκαν σε διάλυμα 4% παραφορμαλδεΰδης. Έπειτα, ακολούθησε αφυδάτωση των ιστών και ενσωμάτωση τους σε παραφίνη. Τα δείγματα προσανατολίστηκαν κατάλληλα και κόπηκαν σε τομές πάχους 3μm με τη χρήση μικροτόμου. Οι τομές υποβλήθηκαν σε χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης (H&E) και εξετάστηκαν υπό οπτικό μικροσκόπιο (μεγέθυνση 20X) προκειμένου να αξιολογηθεί η μορφολογία των ιστών και την επιβεβαιωθεί η παρουσία ή η επιτυχής απομάκρυνση του μεσοθηλίου.

5.6 Ουσίες που μελετήθηκαν

Οι ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν προκειμένου να παρατηρηθεί η επίδραση που έχουν στη διαπερατότητα του περικαρδίου είναι οι εξής:

- **Αμιλορίδη (Amiloride)**

Η αμιλορίδη δρα ως διουρητικό και νατριουρητικό που διατηρεί το κάλιο καθώς αναστέλλει αντιστρεπτά τους επιθηλιακούς διαύλους νατρίου (ENaC) στο αθροιστικό σωληνάριο και στο άπω εσπειραμένο σωληνάριο. Η αμιλορίδη, ενδείκνυται για οίδηματώδεις καταστάσεις και για τη διατήρηση των επιπέδων καλίου, ως συμπλήρωμα στα διουρητικά της αγκύλης, σε περιπτώσεις υπέρτασης, συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας και ηπατικής κίρρωσης με ασκίτη. (50)

- **Βουμετανίδη (Bumetanide)**

Η βουμετανίδη είναι ένα διουρητικό που δρα κυρίως στην αγκύλη του Henle, αναστέλλοντας τον συμμεταφορέα $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$. Αυτό οδηγεί σε αυξημένη αποβολή νατρίου, χλωρίου και νερού, καθιστώντας την αποτελεσματική στη διαχείριση οίδηματων καταστάσεων που σχετίζονται με καρδιακή ανεπάρκεια, ηπατική ή νεφρική νόσο. (51)

- **Φορσκολίνη (Forskolin)**

Δρα αυξάνοντας τα επίπεδα της κυκλικής AMP (Camp) καθώς ενεργοποιεί την αδενυλική κυκλάση, ένα ένζυμο το οποίο καταλύει τη μετατροπή της ATP σε cAMP. Η αύξηση των επιπέδων του cAMP οδηγεί στην ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης A (PKA), η οποία φωσφορυλιώνει διάφορες πρωτεΐνες, επιδρώντας έτσι σε λειτουργίες όπως ο μεταβολισμός και η γονιδιακή ρύθμιση. (52)

- **2-Δεόξυ-D-γλυκόζη (2-Deoxy-D-glucose)**

Η 2-δεοξυ-D-γλυκόζη (2DG) είναι ένα ανάλογο γλυκόζης στο οποίο απουσιάζει ένα άτομο οξυγόνου στη θέση 2. Το μόριο αυτό εμποδίζει τον ισομερισμό της 6-Φωσφορικής γλυκόζης σε 6-Φωσφορική Φρουκτόζη, και έτσι αναστέλλει αναστρέψιμα τη γλυκόλυση. (53)

- **Θεικό αμμώνιο (Ammonium Sulfate)**

Προκαλεί την αυτοτομή του πρωτεύοντα κροσσού διαταράσσοντας την δομή των μικροσωληνίσκων του κροσσού, πιθανόν μέσω ωσμωτικού στρες και αποσταθεροποίησης του κυτταροσκελετού. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την απώλεια της λειτουργικότητας του κροσσού και την απορρύθμιση των σηματοδοτικών μονοπατιών που ρυθμίζονται από αυτόν. (54)

- **Ένυδρη χλωράλη (Chloral hydrate)**

Η ένυδρη χλωράλη παρεμβαίνει στα πρώιμα στάδια σχηματισμού του πρωτεύοντα κροσσού, εμποδίζοντας τη σωστή σύνδεση του βασικού σώματος του κροσσού και τη συναρμολόγηση του άξονα. Ως αποτέλεσμα, τα κύτταρα παρουσιάζουν πλήρη απουσία ή δυσμορφία του πρωτεύοντα κροσσού, μεταβάλλοντας την κυτταρική πολικότητα και διαταράσσοντας τη μεσοθηλιακή λειτουργία. (54)

- **Χλωριούχο λίθιο (lithium Chloride)**

Το χλωριούχο λίθιο προκαλεί επιμύκνιση του πρωτεύοντα κροσσού μέσω αναστολής της κινάσης GSK-3β (glycogen synthase kinase-3β), ενός ενζύμου που συμμετέχει στην αποσυναρμολόγηση των μικροσωληνίσκων. Αυτή η επιμήκυνση ενισχύει τη σηματοδότηση μονοπατιών όπως το Hedgehog και το Wnt, επηρεάζοντας τη συμπεριφορά των κυττάρων στο μικροπεριβάλλον του ιστού. (54)

- **Ιβουπροφαίνη (Ibuprofen)**

Η ιβουπροφαίνη είναι ένα μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο που αναστέλλει μη εκλεκτικά και αναστρέψιμα τις κυκλοοξυγενάσες COX-1 και COX-2, μειώνοντας τη σύνθεση προσταγλανδινών, συμβάλλοντας έτσι στη μείωση της φλεγμονής. Αυτή η δράση παρέχει αναλγητικά, αντιπυρετικά και αντιφλεγμονώδη αποτελέσματα. (55)

- **Κολχικίνη (Colchicine)**

Η κολχικίνη συνδέεται στην τουμπουλίνη αναστέλλοντας τον πολυμερισμό της, το οποίο έχει σαν αποτέλεσμα την αναστολή της συναρμολόγησης των μικροσωληνίσκων. Αυτό επηρεάζει τον κυτταρικό σκελετό, τη μίτωση και τις ενδοκυτταρικές δραστηριότητες μετακίνησης (όπως των ουδετερόφιλων). Χρησιμοποιείται για την θεραπεία της οξείας και της υποτροπιάζουσας περικαρδίτιδας. (56)

5.7 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με τη βοήθεια του προγράμματος IBM SPSS Statistics v29 και του GraphPad Prism 8.0.2 Για τη σύγκριση των τιμών της διαμεσοθηλιακής αντίστασης (R_{TM}) μεταξύ διαφορετικών χρονικών σημείων και πειραματικών συνθηκών εφαρμόστηκε ανάλυση επαναλαμβανόμενων μετρήσεων (Repeated Measures). Οι τιμές $p < 0,05$ θεωρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές. Στα γραφήματα, παρουσιάζεται η μεταβολή της R_{TM} σε συνάρτηση με το χρόνο.

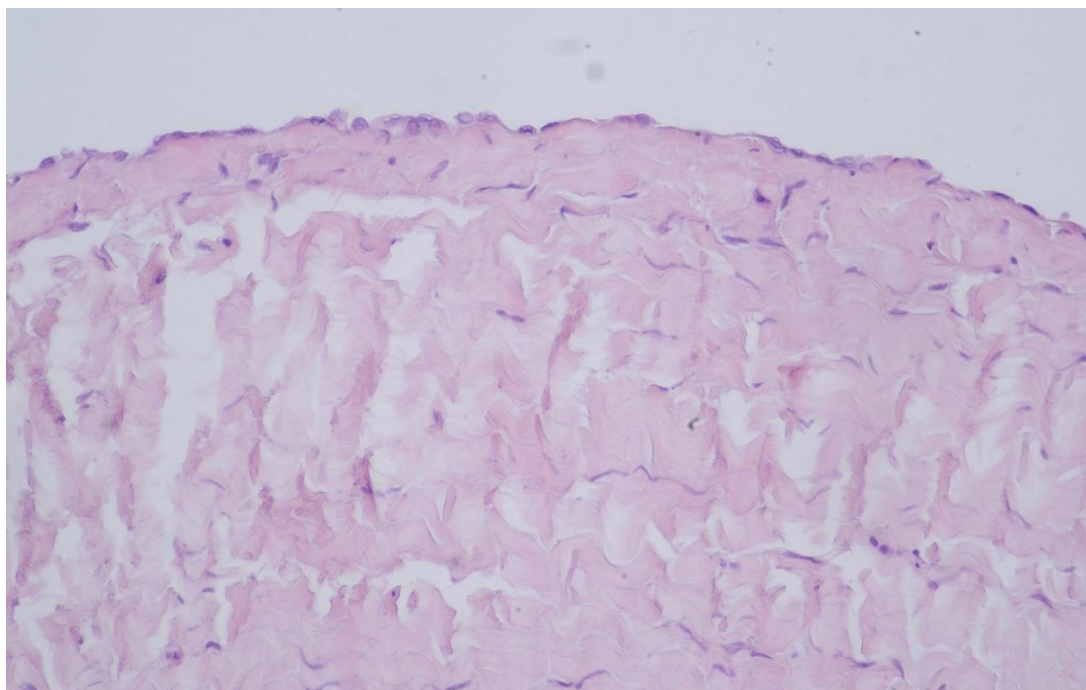
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

6.1 Ιστολογικές αναλύσεις

Για την ιστολογική αξιολόγηση των ιστών, πραγματοποιήθηκε χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης (H&E) σε δείγματα πριν και μετά την τοποθέτηση στους θαλάμους Ussing. Αναλύθηκαν τρεις διαφορετικές συνθήκες προετοιμασίας ιστών: πειράματα αναφοράς (control), μηχανική απόξεση μόνο και μηχανική απόξεση με επακόλουθη επώαση με απιονισμένο νερό.

6.1.1. Πειράματα αναφοράς ιστοτεμαχίων τοιχωματικού περικαρδίου

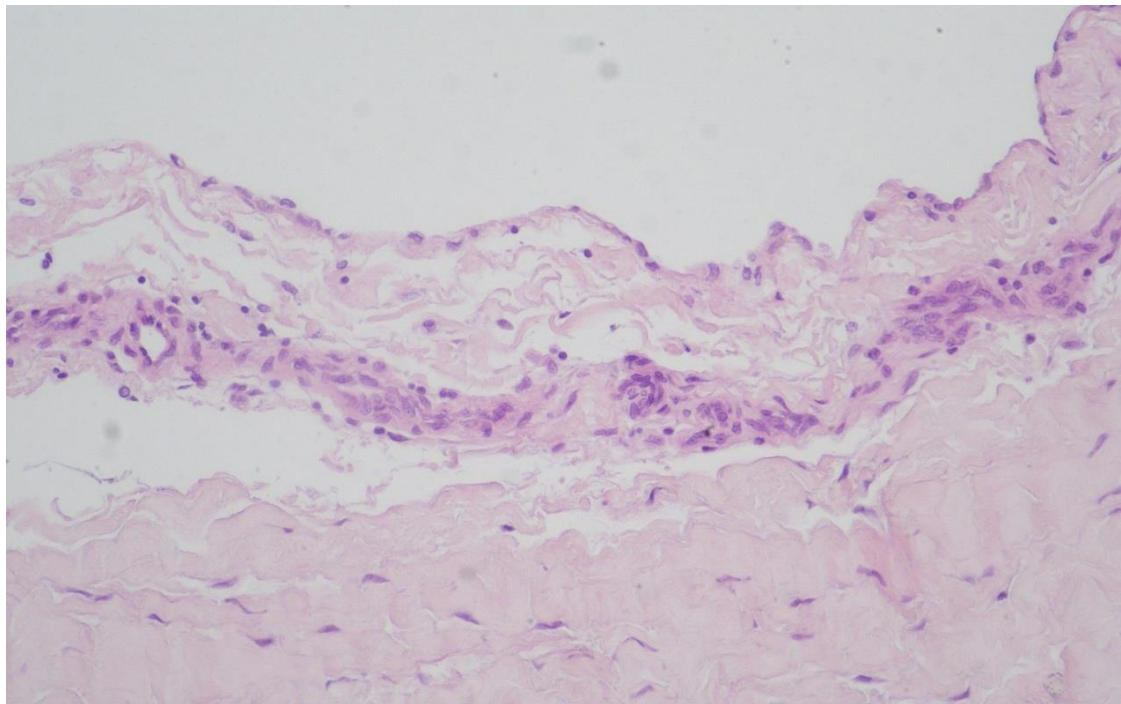
Τα δείγματα ιστών αναφοράς απεικονίζουν ακέραιη τη δομή του μεσοθηλίου και της υποκείμενης στιβάδας σε ιστοτεμάχια τοιχωματικού περικαρδίου προβάτου (**Εικόνα 3**).



Εικόνα 3. Ιστοτεμάχιο τοιχωματικού περικαρδίου προβάτου αναφοράς (χρώση H&E 20X).

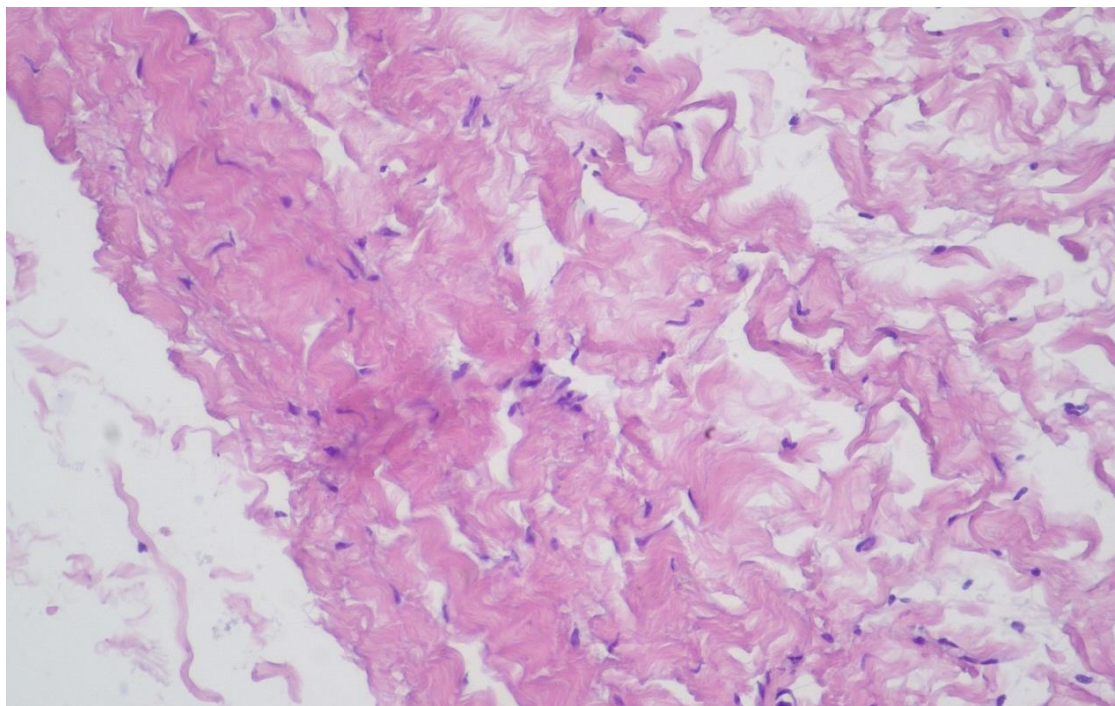
6.1.2. Πειράματα αναφοράς ιστοτεμαχίων τοιχωματικού περικαρδίου μετά την εισαγωγή σε θαλάμους Ussing

Μετά την ολοκλήρωση του πειράματος στους θαλάμους Ussing, στα ιστοτεμάχια τοιχωματικού περικαρδίου προβάτου η δομή του μεσοθηλίου και της υποκείμενης στοιβάδας παρέμειναν αναλλοίωτα (**Εικόνα 4**).



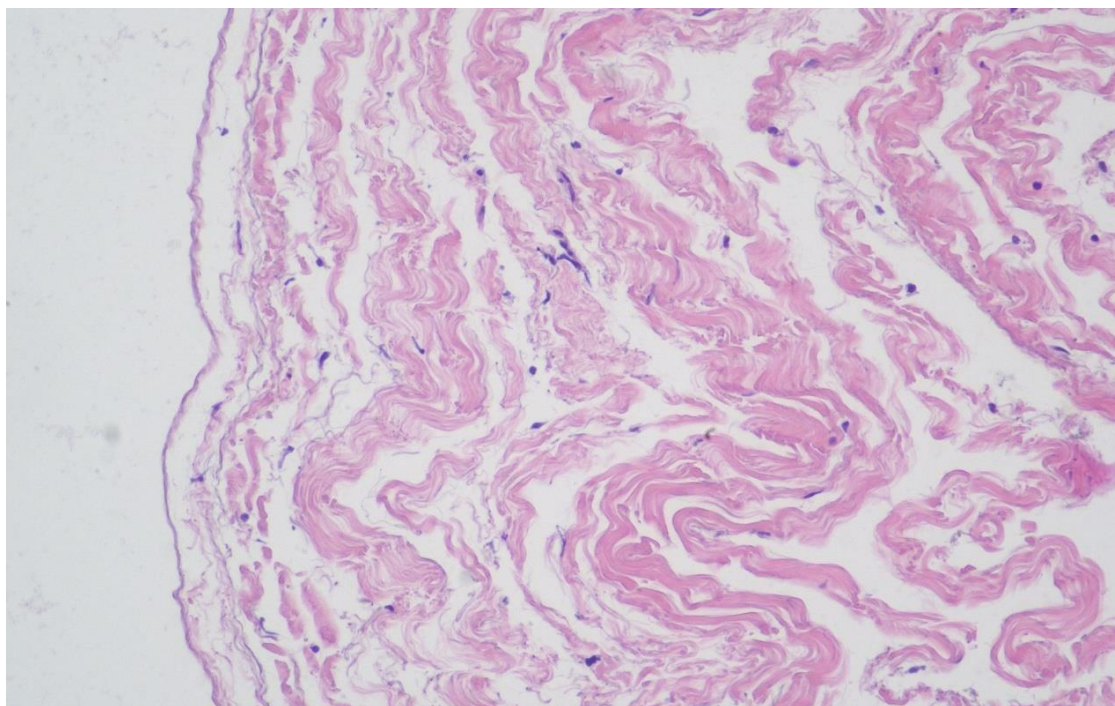
Εικόνα 4. Ιστοτεμάχιο τοιχωματικού περικαρδίου προβάτου αναφοράς μετά την τοποθέτηση του σε θαλάμους Ussing (χρώση H&E, 20X).

6.1.3. Μηχανική απόξεση – Πριν την εισαγωγή στους θαλάμους Ussing Στους ιστούς που υπεβλήθησαν σε μηχανική απόξεση πριν την τοποθέτηση στους θαλάμους, παρατηρήθηκε εκτεταμένη απώλεια της μεσοθηλιακής στιβάδας. Η βασική μεμβράνη παρέμενε σε μεγάλο βαθμό ακέραιη, χωρίς μεσοθηλιακά κύτταρα (**Εικόνα 5**).



Εικόνα 5. Ιστοτεμάχιο τοιχωματικού περικαρδίου που υπέστη μηχανική απόξεση και επώαστηκε με απιονισμένο νερό στην επιφάνειά του μετά την απόξεση (χρώση H&E, 20X).

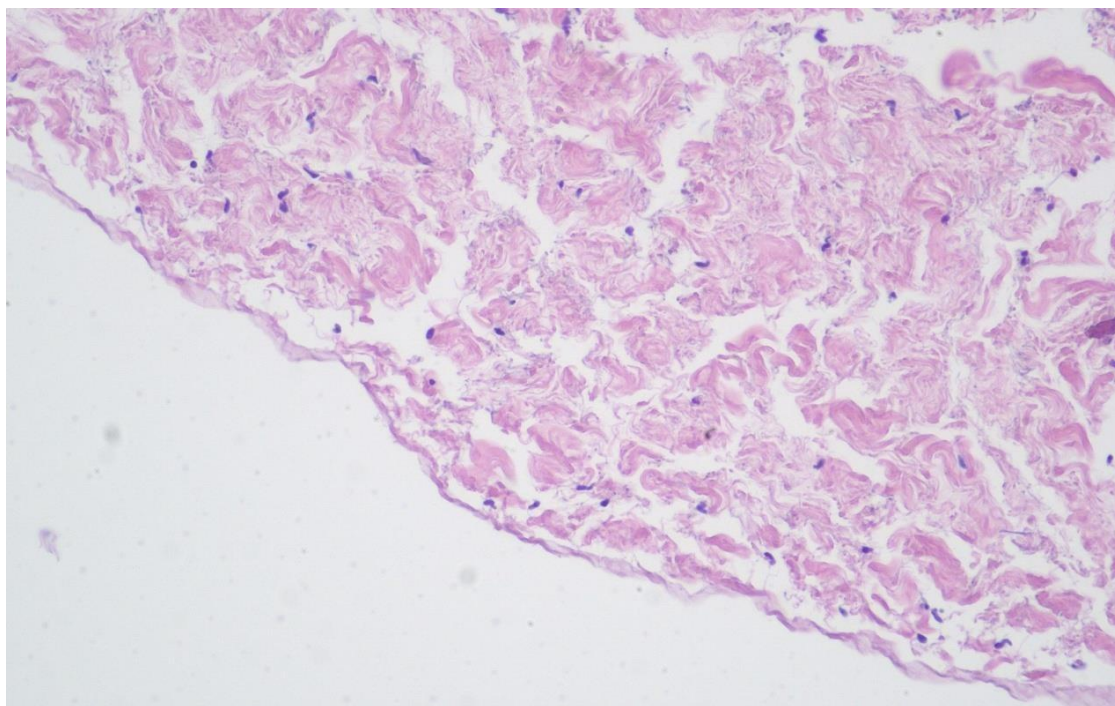
6.1.4. Μηχανική απόξεση - Μετά την εισαγωγή στους θαλάμους Ussing Μετά την τοποθέτηση στους θαλάμους, οι ιστοί που υπέστησαν μηχανική απόξεση δεν εμφάνισαν περαιτέρω αποδιοργάνωση της επιφανειακής στιβάδας, επομένως η εισαγωγή τους στους θαλάμους Ussing δεν επηρέασε τη μορφολογία τους (**Εικόνα 6**).



Εικόνα 6. Ιστοτεμάχιο τοιχωματικού περικαρδίου προβάτου που υπέστη μηχανική απόξεση και επώαστηκε με απιονισμένο νερό στην επιφάνειά του μετά την απόξεση και τοποθετήθηκε σε θάλαμο Ussing (χρώση H&E, 20X).

6.1.5. Μηχανική απόξεση και επώαση με απιονισμένο νερό- Πριν την εισαγωγή σε θαλάμους Ussing

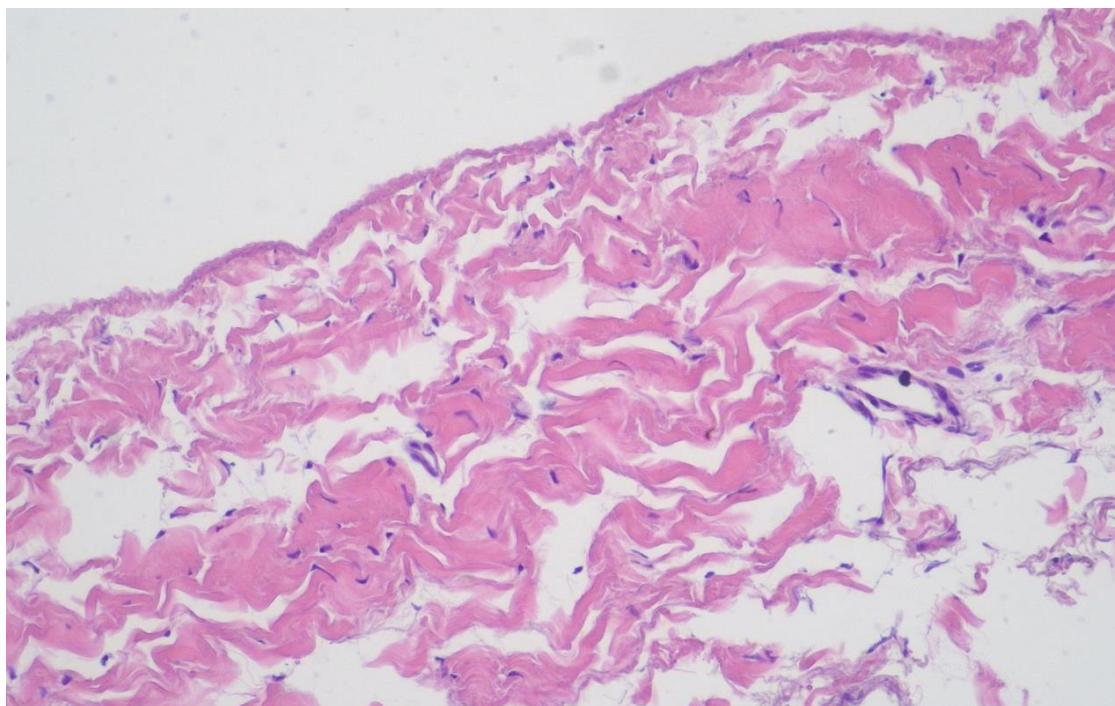
Οι ιστοί που υπεβλήθησαν σε μηχανική απόξεση και ακολούθως επώαστηκαν παρωδικά με απιονισμένο νερό εμφάνισαν απώλεια της στιβάδας των μεσοθηλιακών κυττάρων (**Εικόνα 7**).



Εικόνα 7. Ιστοτεμάχιο τοιχωματικού περικαρδίου προβάτου, που υπέστη μηχανική απόξεση και επώαστηκε με απιονισμένο νερό στην επιφάνειά του μετά την απόξεση (χρώση H&E, 20X).

6.1.6. Μηχανική απόξεση και επώαση με απιονισμένο νερό - Μετά την εισαγωγή στους θαλάμους Ussing

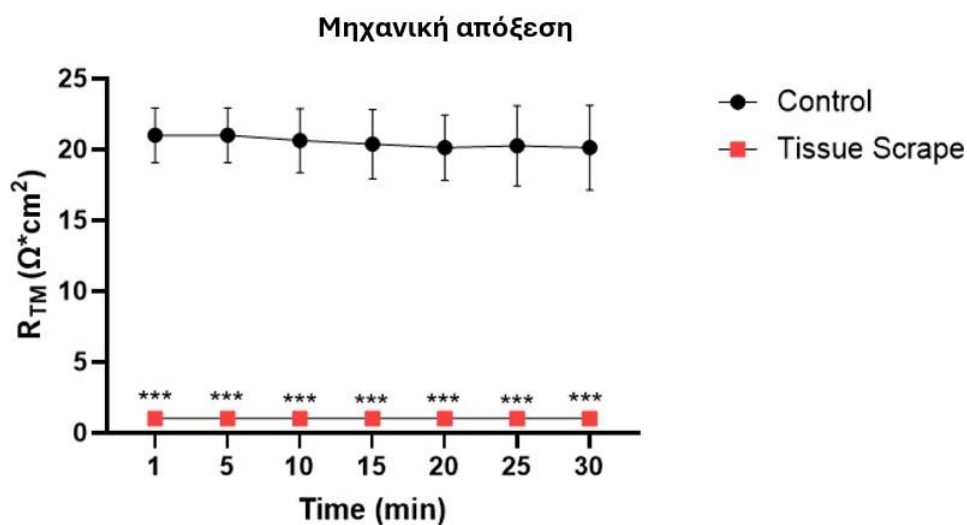
Μετά την τοποθέτηση στους θαλάμους Ussing, οι ιστοί που υπεβλήθησαν σε μηχανική απόξεση και ακολούθως επώαστηκαν παροδικά με απιονισμένο νερό εμφάνισαν απώλεια μεσοθηλιακών κυττάρων ομοίως με τα αντίστοιχα ιστοτεμάχια που δεν τοποθετήθηκαν στους θαλάμους (**Εικόνα 8**).



Εικόνα 8. Ιστοτεμάχιο τοιχωματικού περικαρδίου προβάτου, που υπέστη μηχανική απόξεση, επώαση με απιονισμένο νερό στην επιφάνειά του έπειτα και τοποθετήθηκε σε θάλαμο Ussing (χρώση H&E, 20X).

6.2 Μηχανική απόξεση μεσοθηλίου και μέτρηση της διαμεσοθηλιακής ηλεκτρικής αντίστασης του τοιχωματικού περικαρδίου προβάτου.

Μελετήθηκε η επίδραση της μηχανικής απόξεσης του μεσοθηλίου στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση (R_{TM}) ιστοτεμαχίων τοιχωματικού περικαρδίου με τη χρήση του συστήματος Ussing. Η καταγραφή των τιμών R_{TM} έγινε ανά 5 λεπτά από την $t=1$ λεπτό έως την $t=30$ λεπτά. Κατά τη στατιστική ανάλυση συγκρίναμε τις τιμές της R_{TM} των ιστών που υπέστησαν μηχανική απόξεση με τις αντίστοιχες τιμές R_{TM} ιστών αναφοράς (χωρίς απόξεση του μεσοθηλίου) προκειμένου να διερευνηθεί πιθανή μεταβολή της R_{TM} λόγω απουσίας μεσοθηλίου. Τα αποτελέσματα έδειξαν στατιστικά σημαντική μείωση στην R_{TM} σε όλες τις χρονικές στιγμές ($p < 0.001$) (Διάγραμμα 1).

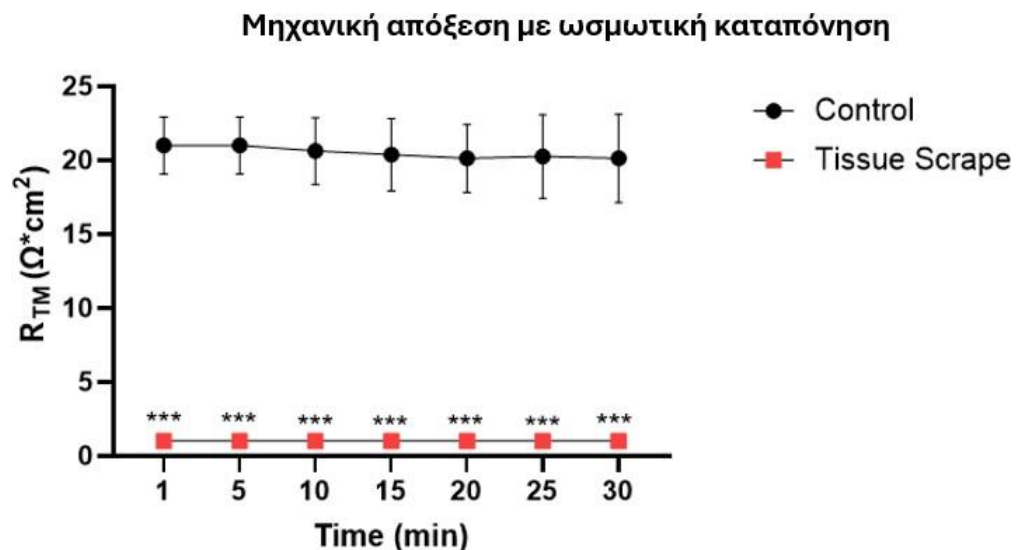


Διάγραμμα 1. Μέτρηση της R_{TM} σε συνάρτηση με το χρόνο σε ιστοτεμάχια τοιχωματικού περικαρδίου προβάτου που έγινε μηχανική απόξεση του μεσοθηλίου (***) $p < 0,001$). Οι τιμές εκφράζονται ως μέσοι όροι $\pm$ S.E.M. ($n=8$).

6.3 Μέτρηση της διαμεσοθηλιακής ηλεκτρικής αντίστασης του τοιχωματικού περικαρδίου προβάτου μετά από μηχανική απόξεση του μεσοθηλίου και έκθεση σε απιονισμένο νερό

Μελετήθηκε η επίδραση της μηχανικής απόξεσης του μεσοθηλίου σε συνδυασμό με έκθεση σε απιονισμένο νερό στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση (R_{TM}) ιστοτεμαχίων τοιχωματικού περικαρδίου με τη χρήση του συστήματος Ussing. Η καταγραφή των τιμών R_{TM} έγινε ανά 5 λεπτά από την $t=1$ λεπτό έως την $t=30$ λεπτά. Κατά τη στατιστική ανάλυση συγκρίθηκαν οι τιμές της R_{TM} ιστοτεμαχίων αναφοράς και ιστοτεμαχίων που υπέστησαν μηχανική απόξεση και επιπλέον έκθεση με απιονισμένο νερό προκειμένου να επαληθευτεί η μεταβολή της R_{TM} ως αποτέλεσμα

της απουσίας μεσοθηλιακής στιβάδας. Τα αποτελέσματα έδειξαν στατιστικά σημαντική μείωση στην R_{TM} σε όλες τις χρονικές στιγμές ($p < 0,001$) (Διάγραμμα 2).

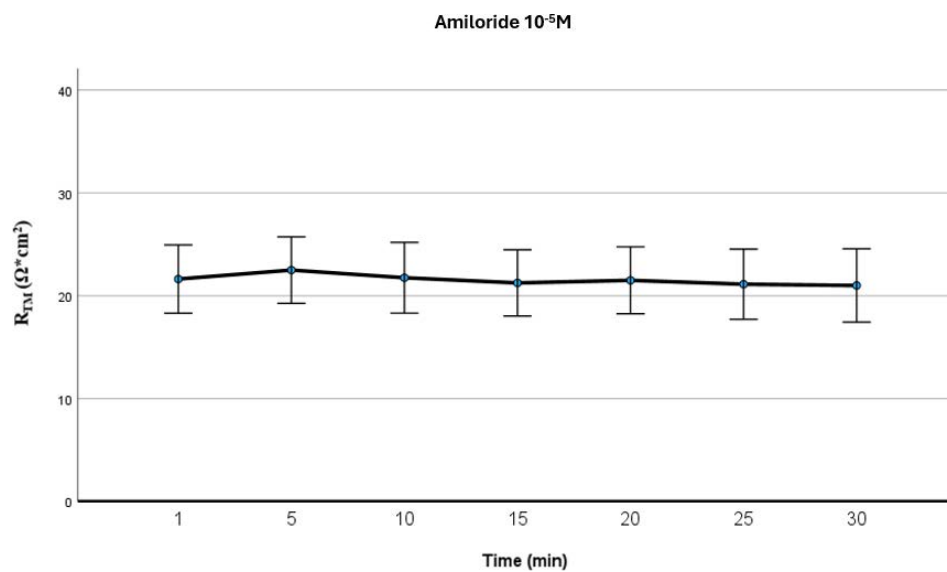


Διάγραμμα 2. Μέτρηση της R_{TM} σε συνάρτηση με το χρόνο σε ιστοτεμάχια τοιχωματικού περικαρδίου προβάτου που έγινε μηχανική απόξεση του μεσοθηλίου σε συνδυασμό με ωσμωτική καταπόνηση (** $p < 0,001$). Οι τιμές εκφράζονται ως μέσοι όροι $\pm$ S.E.M. ($n=7$).

6.4. Επίδραση της αμιλορίδης στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση του τοιχωματικού περικαρδίου

Στη συνέχεια μελετήσαμε την επίδραση της αμιλορίδης (10^{-5}M) στην R_{TM} ιστοτεμαχίων τοιχωματικού περικαρδίου προβάτου με το σύστημα Ussing. Η χορήγηση της αμιλορίδης στην κορυφαία επιφάνεια του τοιχωματικού περικαρδίου

πραγματοποιήθηκε τη χρονική στιγμή $t=0$ και ακολούθησε καταγραφή των τιμών της R_{TM} ανά 5 λεπτά έως την $t=30$. Στη σύγκριση κάθε μεταγενέστερο χρονικό σημείο με το $t=0$, προέκυψε ότι η αμιλορίδη δεν οδήγησε σε σημαντική μεταβολή της R_{TM} (Διάγραμμα 3).

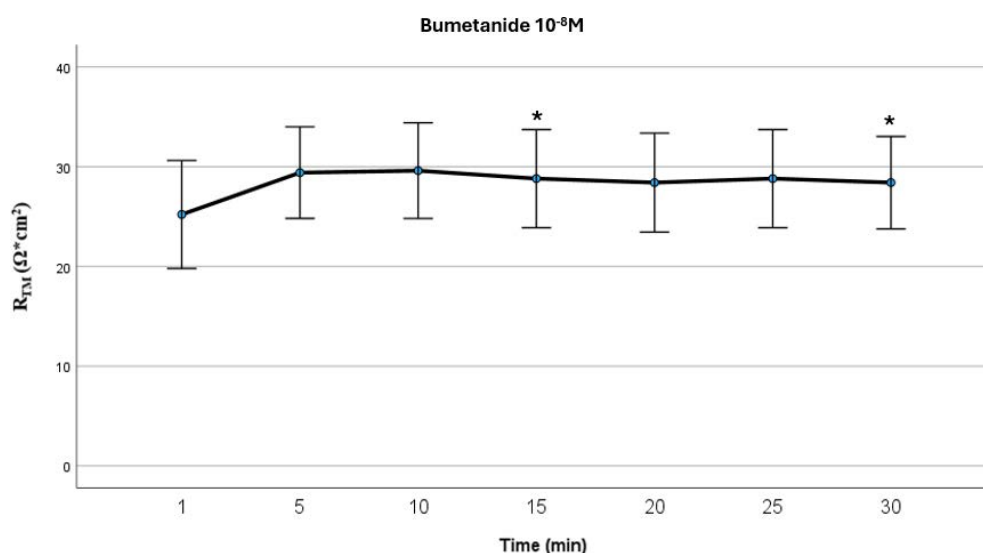


Διάγραμμα 3. Μεταβολή της R_{TM} σε συνάρτηση με το χρόνο σε ιστούς που έγινε προσθήκη αμιλορίδης 10^{-5}M . Οι τιμές εκφράζονται ως μέσοι όροι $\pm$ S.E.M. ($n=8$).

6.5. Επίδραση της βουμετανίδης στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση του τοιχωματικού περικαρδίου

Η βουμετανίδη (10^{-8}M), αναστέλλει τον συμμεταφορέα NKCC και μελετήσαμε την επίδρασή της στην R_{TM} ιστοτεμαχίων τοιχωματικού περικαρδίου προβάτου στο σύστημα Ussing. Η χορήγηση της ουσίας στην κορυφαία επιφάνεια του τοιχωματικού περικαρδίου πραγματοποιήθηκε τη χρονική στιγμή $t=0$ και ακολούθησε καταγραφή

των τιμών της R_{TM} ανά 5 λεπτά έως την $t=30$. Τα αποτελέσματα έδειξαν στατιστικά σημαντική αύξηση της R_{TM} την χρονική στιγμή $t=15$ και $t=25$ μετά τη χορήγηση της βουμετανίδης ($p < 0.05$) (Διάγραμμα 4).

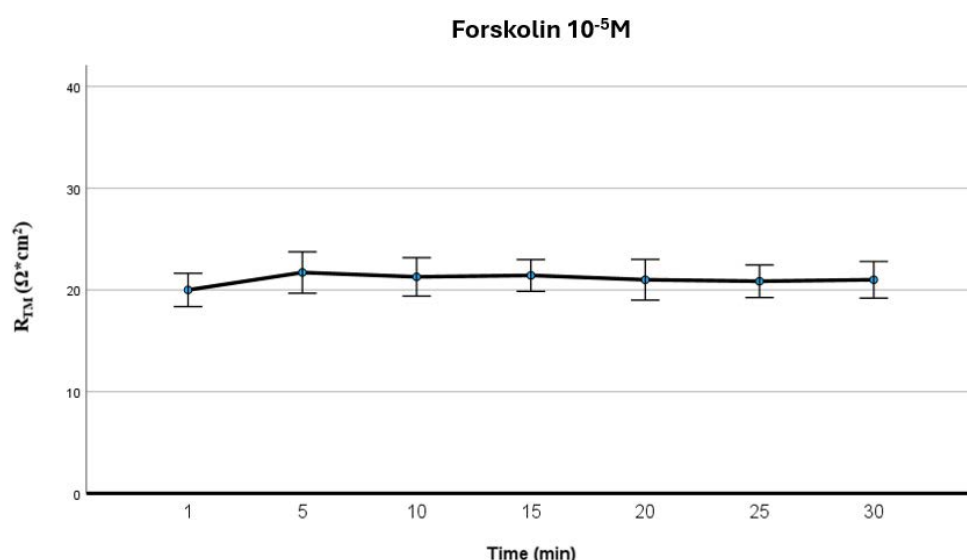


Διάγραμμα 4. Μεταβολή της R_{TM} σε συνάρτηση με το χρόνο σε ιστούς που έγινε προσθήκη βουμετανίδης 10^{-8}M (* $p < 0,05$). Οι τιμές εκφράζονται ως μέσοι όροι $\pm$ S.E.M. ($n=5$).

6.6. Επίδραση της φορσκολίνης στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση του τοιχωματικού περικαρδίου

Ως ουσία που αυξάνει την ενδοκυττάρια συγκέντρωση cAMP και άρα δυνητικά την δραστηριότητα ιοντικών διαύλων που εξαρτώνται από την PKA, μελετήσαμε την επίδραση της προσθήκης φορσκολίνης (10^{-5}M) στην R_{TM} ιστοτεμαχίων τοιχωματικού περικαρδίου στο σύστημα Ussing. Η χορήγηση της ουσίας στην κορυφαία επιφάνεια του τοιχωματικού περικαρδίου πραγματοποιήθηκε τη χρονική στιγμή $t=0$ και

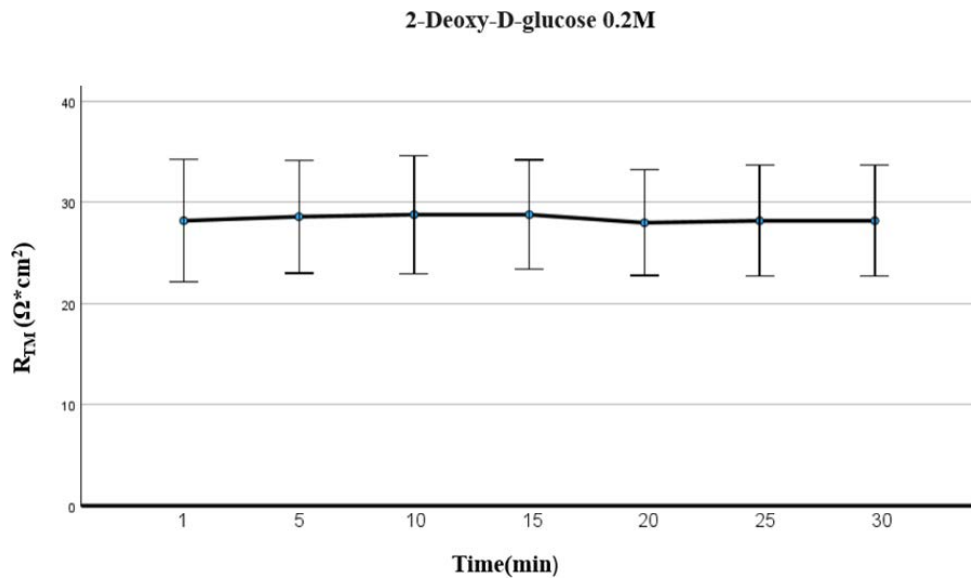
ακολούθησε καταγραφή των τιμών της R_{TM} ανά 5 λεπτά έως την $t=30$. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην τιμή της R_{TM} στις χρονικές στιγμές των μετρήσεων (Διάγραμμα 5).



Διάγραμμα 5: Μεταβολή της R_{TM} σε συνάρτηση με το χρόνο σε ιστούς που έγινε προσθήκη φορσκολίνης $10^{-5}M$. Οι τιμές εκφράζονται ως μέσοι όροι $\pm$ S.E.M. ($n=7$).

6.7. Επίδραση της 2-D-γλυκόζης στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση του τοιχωματικού περικαρδίου προβάτου

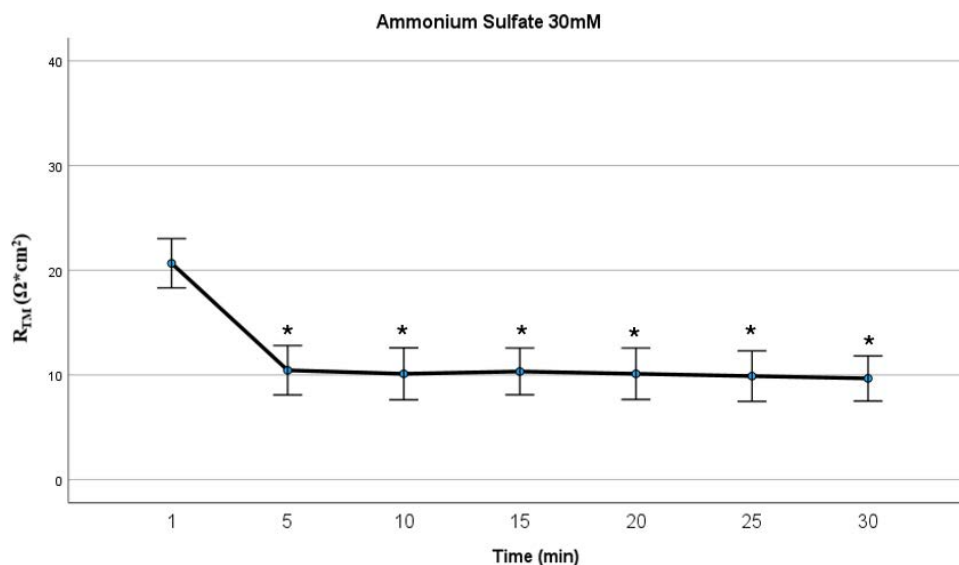
Η προσθήκης 2-δεόξυ-d-γλυκόζης (0.2M) στην R_{TM} ιστοτεμαχίων τοιχωματικού περικαρδίου μελετήθηκε με το σύστημα Ussing. Η χορήγηση της ουσίας στην κορυφαία επιφάνεια του τοιχωματικού περικαρδίου πραγματοποιήθηκε τη χρονική στιγμή $t=0$ και δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην τιμή της R_{TM} έως την χρονική στιγμή $t=30$ (Διάγραμμα 6).



Διάγραμμα 6: Μεταβολή της R_{TM} σε συνάρτηση με το χρόνο σε ιστούς που έγινε προσθήκη 2-δεόξυ-d-γλυκόζη 0.2M. Οι τιμές εκφράζονται ως μέσοι όροι $\pm$ S.E.M. (n=6).

6.8 Επίδραση του θειικού αμμωνίου στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση του τοιχωματικού περικαρδίου

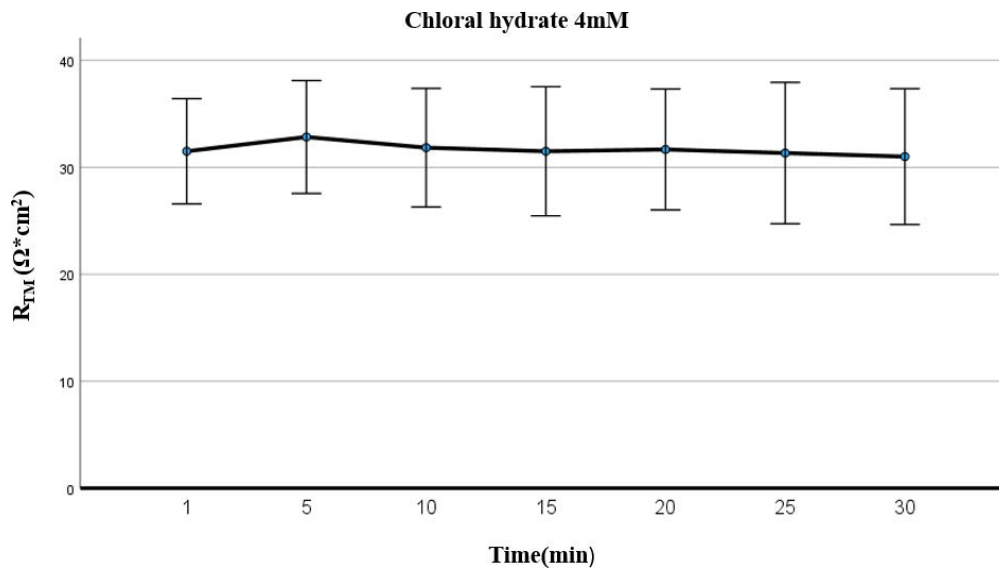
Μελετήθηκε η επίδραση του θειικού αμμωνίου (30mM) στην R_{TM} ιστοτεμαχίων τοιχωματικού περικαρδίου προβάτου σε σύστημα Ussing. Η χορήγηση της ουσίας στην κορυφαία επιφάνεια του τοιχωματικού περικαρδίου πραγματοποιήθηκε τη χρονική στιγμή $t=0$ και τα αποτελέσματα έδειξαν στατιστικά σημαντική μείωση της R_{TM} σε όλες τις χρονικές στιγμές μετά την χορήγηση θειικού αμμωνίου έως την χρονική στιγμή $t=30$ ($p < 0,05$) (Διάγραμμα 7).



Διάγραμμα 7: Μεταβολή της R_{TM} σε συνάρτηση με το χρόνο σε ιστούς που έγινε προσθήκη θεικού αμμωνίου 30mM (* $p < 0,05$). Οι τιμές εκφράζονται ως μέσοι όροι $\pm$ S.E.M. (n=9).

6.9 επίδραση της ένυδρης χλωράλης στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση του τοιχωματικού περικαρδίου

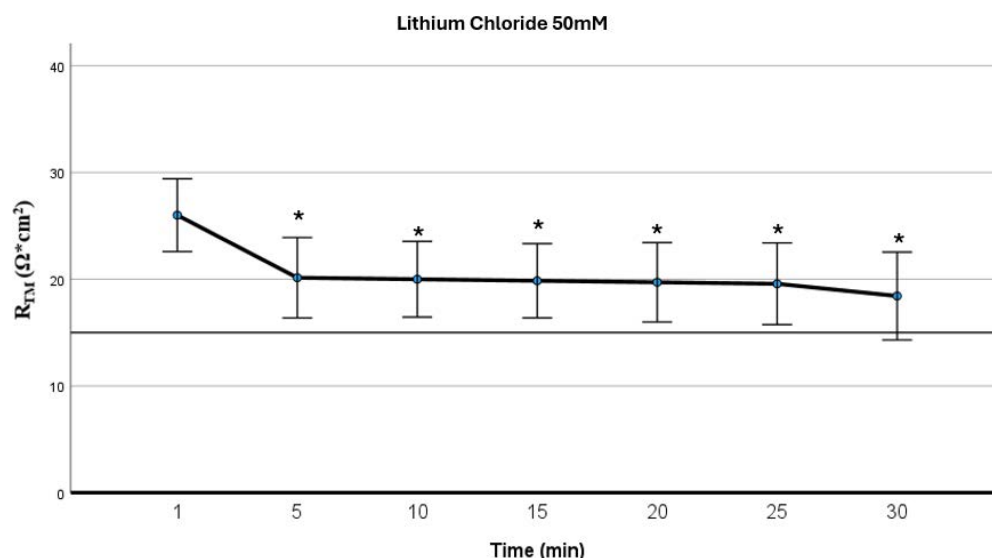
Μελετήθηκε η επίδραση της προσθήκης ένυδρης χλωράλης (4mM) στην R_{TM} ιστοτεμαχίων τοιχωματικού περικαρδίου με τη χρήση του συστήματος Ussing. Η χορήγηση της ένυδρης χλωράλης στην κορυφαία επιφάνεια του τοιχωματικού περικαρδίου πραγματοποιήθηκε τη χρονική στιγμή $t=0$ και ακολούθησε καταγραφή των τιμών R_{TM} έως την $t=30$. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην τιμή της R_{TM} (Διάγραμμα 8).



Διάγραμμα 8. Μεταβολή της R_{TM} σε συνάρτηση με το χρόνο σε ιστούς που έγινε προσθήκη ένυδρης χλωράλης 4mM. Οι τιμές εκφράζονται ως μέσοι όροι $\pm$ S.E.M. (n=6).

6.10 Επίδραση του χλωριούχου λιθίου στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση του τοιχωματικού περικαρδίου

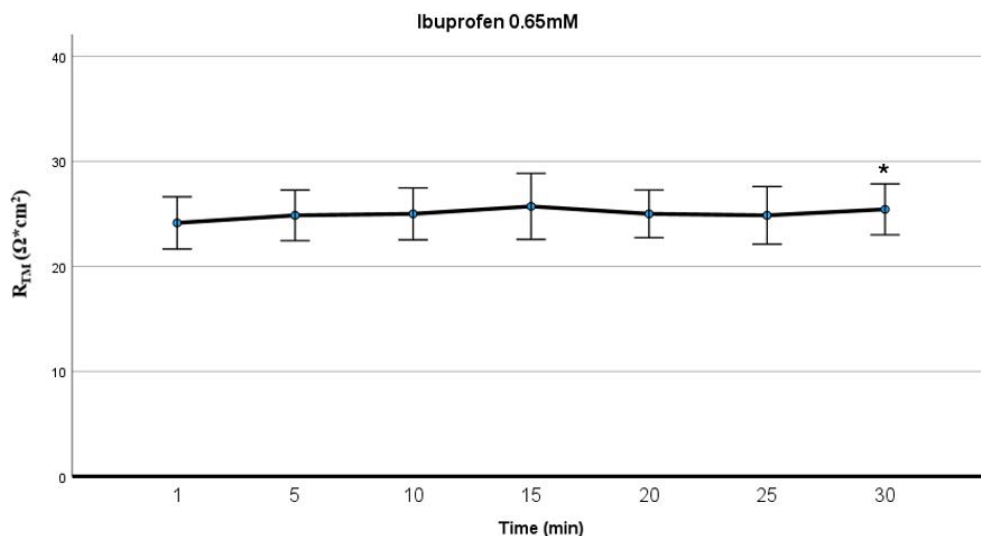
Το χλωριούχο λίθιο (50mM) προκαλεί επιμήκυνση του πρωτεύοντος κροσσού και μετρήθηκε η R_{TM} σε ιστοτεμάχια τοιχωματικού περικαρδίου με το σύστημα Ussing. Η χορήγηση του χλωριούχου λιθίου πραγματοποιήθηκε τη χρονική στιγμή $t=0$ και ακολούθησε καταγραφή των τιμών R_{TM} ανά 5 λεπτά έως την $t=30$. Το χλωριούχο λίθιο οδήγησε σε σημαντική μείωση της R_{TM} σε όλες τις χρονικές στιγμές ($p < 0,05$) (Διάγραμμα 9).



Διάγραμμα 9: Μεταβολή της R_{TM} σε συνάρτηση με το χρόνο σε ιστούς που έγινε προσθήκη χλωριούχου λιθίου 50mM (* $p < 0,05$). Οι τιμές εκφράζονται ως μέσοι όροι $\pm$ S.E.M. ($n=7$).

6.11 Επίδραση της ιβουπροφαίνης στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση του τοιχωματικού περικαρδίου προβάτου

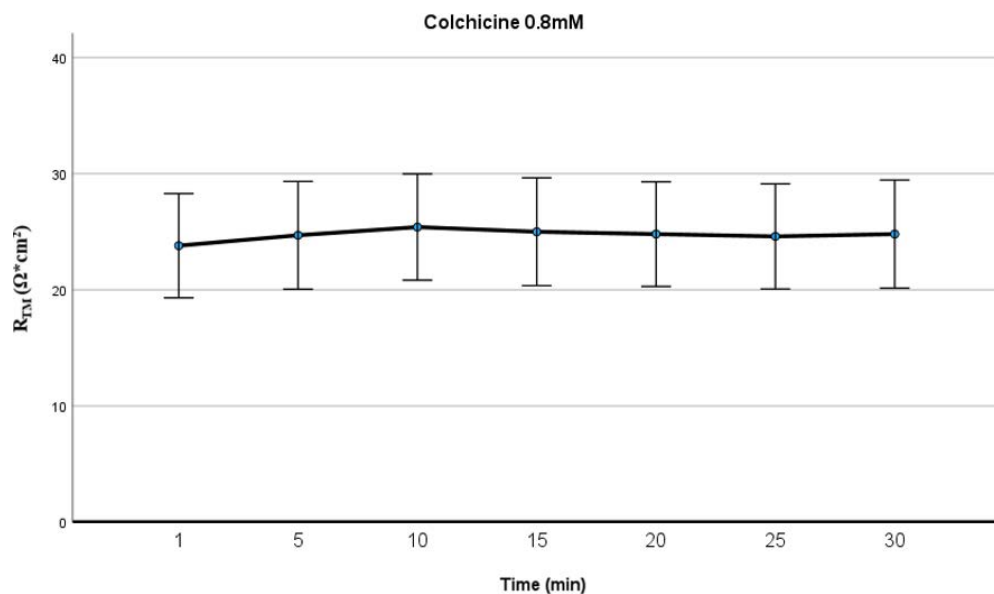
Η επίδραση της ιβουπροφαίνης (0.65mM) στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση (R_{TM}) ιστοτεμαχίων τοιχωματικού περικαρδίου προβάτου μελετήθηκε με το σύστημα Ussing. Η χορήγηση της ουσίας στην κορυφαία επιφάνεια του τοιχωματικού περικαρδίου πραγματοποιήθηκε τη χρονική στιγμή $t=0$ λεπτό και ακολούθησε καταγραφή των τιμών της R_{TM} ανά 5 λεπτά έως τη χρονική στιγμή $t=30$ λεπτά. Συγκρίθηκε κάθε μεταγενέστερο χρονικό σημείο με το χρονικό σημείο $t=0$, προκειμένου να διερευνηθεί πιθανή μεταβολή της R_{TM} ως απόκριση στη δράση της ιβουπροφαίνης. Τα αποτελέσματα μας έδειξαν ότι η ιβουπροφαίνη αυξάνει σημαντικά την R_{TM} στη χρονική στιγμή $t=30$ ($p < 0,05$) (Διάγραμμα 10).



Διάγραμμα 10. Μεταβολή της R_{TM} σε συνάρτηση με το χρόνο σε ιστούς που έγινε προσθήκη ιβουπροφαίνης 0.65mM (* $p < 0,05$). Οι τιμές εκφράζονται ως μέσοι όροι $\pm$ S.E.M. (n=7).

6.12 Επίδραση της κολχικίνης στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση του τοιχωματικού περικαρδίου προβάτου

Μελετήθηκε η επίδραση της προσθήκης κολχικίνης (0.8mM) στην R_{TM} ιστοτεμαχίων τοιχωματικού περικαρδίου με τη χρήση του συστήματος Ussing. Η χορήγηση της ουσίας στην κορυφαία επιφάνεια του τοιχωματικού περικαρδίου πραγματοποιήθηκε τη χρονική στιγμή $t=0$ λεπτά και ακολούθησε καταγραφή των τιμών της R_{TM} ανά 5 λεπτά έως την $t=30$ λεπτά. Συγκρίθηκε κάθε μεταγενέστερο χρονικό σημείο με το $t = 0$, προκειμένου να διερευνηθεί πιθανή μεταβολή της R_{TM} ως απόκριση στη χορήγηση κολχικίνης. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην τιμή της R_{TM} σε καμία από τις χρονικές στιγμές μέτρησης (**Διάγραμμα 11**).



Διάγραμμα 11. Μεταβολή της R_{TM} σε συνάρτηση με το χρόνο σε ιστούς που έγινε προσθήκη κολχικίνης 0.8mM. Οι τιμές εκφράζονται ως μέσοι όροι $\pm$ S.E.M. (n=10).

7. Συζήτηση

Το περικάρδιο παίζει σημαντικό ρόλο σε πολλές λειτουργίες της καρδιάς όπως είναι η λίπανση των κινούμενων επιφανειών της κατά τον καρδιακό κύκλο, η σταθεροποίηση της ανατομικής της θέσης, η απομόνωση της από τις γύρω δομές, η διατήρηση χαμηλών τιμών ενδομυοκαρδιακής τάσης, η πρόληψη της καρδιακής υπερτροφίας, η πλήρωση των κόλπων και η ρύθμιση της καρδιακής συχνότητας και της αρτηριακής πίεσης. Για αυτό είναι πολύ σημαντική η μελέτη του περικαρδίου καθώς οι διαταραχές του επηρεάζουν άμεσα τη συνολική καρδιακή λειτουργία. (13–15).

Επιπλέον, το περικαρδιακό υγρό που είναι ένα υπερδιήθημα του πλάσματος με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά, πρέπει να διατηρεί σταθερό τον όγκο και τη σύσταση του

στην περικαρδιακή κοιλότητα. Γενικά είναι δύσκολο να καθοριστεί το περιεχόμενο του φυσιολογικού περικαρδιακού υγρού διότι ανθρώπινα δείγματα λαμβάνονται μόνο από ασθενείς που υποβάλλονται σε καρδιοχειρουργικές επεμβάσεις και το περικάρδιο τους δεν έχει εμφανίσει σημεία προσβολής. Για αυτόν τον λόγο, η χρήση ζωικών μοντέλων όπως τα πρόβατα, που χρησιμοποιήθηκαν και στη συγκεκριμένη διπλωματική εργασία είναι προτιμότερη..

Στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε ότι η απομάκρυνση των μεσοθηλιακών κυττάρων του περικαρδίου, είτε μέσω μηχανικής απόξεσης είτε σε συνδυασμό με ωσμωτική καταπόνηση, οδήγησε σε δραστική απώλεια της R_{TM} . Η μεταβολή αυτή υποδεικνύει εμφατικά ότι το μεσοθήλιο του τοιχωματικού περικαρδίου είναι η δομή εκείνη που συνιστά τον φραγμό που καθορίζει τις ηλεκτρικές ιδιότητες της μεμβράνης και άρα διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της διακίνησης του περικαρδιακού υγρού.

Η ηλεκτρική αντίσταση ενός ιστού συνδέεται στενά με την ακεραιότητα των κυτταρικών στενοσυνδέσμων που συνέχουν τα παρακείμενα κύτταρα.. Η καταστροφή ή διατάραξη των στενοσυνδέσμων των μεσοθηλιακών κυττάρων οδηγεί σε αυξημένη παρακυτταρική ροή ιόντων και συνεπώς μείωση της R_{TM} . (57)

Τα ιστολογικά μας ευρήματα επιβεβαιώνουν την πλήρη απομάκρυνση του μεσοθηλίου, ενισχύοντας την ερμηνεία των ηλεκτροφυσιολογικών δεδομένων που δείχνουν μηδενική ηλεκτρική αντίσταση. Το μεσοθήλιο του περικαρδίου, δεν δρα ως παθητικός φραγμός αλλά συμμετέχει ενεργά στον έλεγχο της διαπερατότητας. Η παρατηρούμενη πτώση της ηλεκτρικής αντίστασης αποτελεί ισχυρό δείκτη ότι το μεσοθήλιο παίζει κομβικό ρόλο στη φυσιολογική λειτουργία του περικαρδίου, τόσο στην αγωγιμότητα όσο και στην ομοιόσταση του περικαρδιακού υγρού. Η απουσία του καταργεί αυτόν τον ρόλο και οδηγεί σε ανεξέλεγκτη ροή ιόντων. (58)

Παθολογικές καταστάσεις όπως οι περικαρδίτιδες ή συλλογές περικαρδιακού υγρού από άλλη αιτιολογία συχνά συνοδεύονται από βλάβες του μεσοθηλίου.

Για την διερεύνηση της ύπαρξης ευαίσθητων στην αμιλορίδη διαύλων νατρίου διερευνήθηκε η επίδραση της αμιλορίδης σε συγκέντρωση 10^{-5} M στη διαπερατότητα του περικαρδιακού μεσοθηλίου. Δεν προέκυψε στατιστικά σημαντική μεταβολή στη R_{TM} , υποδεικνύοντας ότι, υπό τις παρούσες πειραματικές συνθήκες, η αμιλορίδη δεν επηρεάζει τη διαπερατότητα του περικαρδιακού μεσοθηλίου.

Η αμιλορίδη είναι ένας αναστολέας του επιθηλιακού διαύλου νατρίου (ENaC), ο οποίος εκφράζεται σε διάφορους τύπους κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των ενδοθηλιακών και επιθηλιακών. Σε μοντέλα ισχαιμίας–επαναιμάτωσης του πνεύμονα έχει βρεθεί ότι η αμιλορίδη μειώνει τη συσσώρευση πνευμονικού οιδήματος και περιορίζει τη διαρροή υγρών, πιθανώς μέσω τροποποίησης της αγγειακής διαπερατότητας και ρύθμισης της κυτταρικής μεταφοράς νατρίου. (59) Σε ανθρώπινα δείγματα περιτοναίου, μελέτες με θαλάμους τύπου Ussing έχουν δείξει ότι η αμιλορίδη αυξάνει τη διαμεσοθηλιακή αντίσταση, υποδεικνύοντας ενίσχυση του φραγμού και μείωση της διαπερατότητας, αλλά τα πειράματα αυτά έγιναν με χρήση μεγαλύτερης συγκέντρωσης αμιλορίδης 10^{-3} M. (60) Πέραν αυτού, η απουσία επίδρασης της αμιλορίδης στο περικαρδιακό μεσοθήλιο στο παρόν πείραμα ενδέχεται να οφείλεται σε ποικίλους παράγοντες όπως η απουσία παθολογικής κατάστασης (όπως φλεγμονή ή ισχαιμία) ή σε διαφοροποιήσεις στην έκφραση ENaC στο περικάρδιο σε σύγκριση με άλλους ιστούς. Περαιτέρω μελέτες είναι απαραίτητο να πραγματοποιηθούν.

Παράλληλα διερευνήθηκε εάν τα μεσοθηλιακά κύτταρα του περικαρδίου ανταποκρίνονται σε αναστολή του συμμεταφορέα νατρίου, καλίου, χλωρίου. Η χορήγηση βουμετανίδης σε συγκέντρωση 10^{-8} M προκάλεσε στατιστικά σημαντική αύξηση της R_{TM} του περικαρδίου προβάτου μετά από ένα τέταρτο χορήγησης,

υποδεικνύοντας μείωση της διαπερατότητας του μεσοθηλίου.

Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η αναστολή του NKCC1 με βουμετανίδη επηρεάζει την έκφραση και τη λειτουργία των πρωτεϊνών των στενών συνδέσμων, όπως η claudin-2, οδηγώντας σε μεταβολές στη διαπερατότητα των επιθηλιακών και ενδοθηλιακών φραγμών. Συγκεκριμένα, η απώλεια της λειτουργίας του NKCC1 έχει συσχετιστεί με αυξημένη έκφραση της claudin-2 και μείωση της διαμεσοθηλιακής ηλεκτρικής αντίστασης, υποδεικνύοντας αύξηση της διαπερατότητας. (61)

Επιπλέον, η αναστολή του NKCC1 σε ενδοθηλιακά κύτταρα του αιματο-εγκεφαλικού φραγμού έχει οδηγήσει σε μείωση της έκφρασης βασικών πρωτεϊνών των διακυτταρικών συνδέσεων, και σε αύξηση της διαπερατότητας των κυττάρων. (62)

Και αυτά τα ευρήματα υποστηρίζουν την παρατήρηση της παρούσας μελέτης. Συνολικά, τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η βουμετανίδη μπορεί να συμβάλλει στη διατήρηση της ακεραιότητας του περικαρδιακού μεσοθηλίου μέσω της ενίσχυσης των διακυτταρικών συνδέσεων και της μείωσης της διαπερατότητας, πιθανώς μέσω της αναστολής του NKCC1 και της ρύθμισης των στενών συνδέσμων. Περαιτέρω μελέτες είναι απαραίτητες για την πλήρη κατανόηση των μοριακών μηχανισμών που εμπλέκονται σε αυτή τη διαδικασία.

Η χορήγηση φορσκολίνης σε συγκέντρωση 10^{-5} M δεν προκάλεσε στατιστικά σημαντική μεταβολή στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση (R_{TM}) του περικαρδίου προβάτου. Το οποίο υποδεικνύει ότι η φορσκολίνη δεν επηρεάζει ουσιαστικά τη διαπερατότητα του περικαρδιακού μεσοθηλίου. Η φορσκολίνη ενεργοποιεί την αδενυλική κυκλάση, με συνέπεια την αύξηση των ενδοκυτταρικών επιπέδων cAMP, γεγονός που μπορεί να επηρεάσει διαύλους ιόντων, στενούς συνδέσμους και τη διαπερατότητα κυτταρικών φραγμών. Σε επιθηλιακά και

ενδοθηλιακά μοντέλα, έχει αναφερθεί ότι η φορσκολίνη μπορεί να αυξήσει τη διαπερατότητα τόσο σε ιόντα όσο και σε υδρόφιλες ουσίες. (63,64) Η απουσία μεταβολής της R_{TM} του περικαρδίου ενδεχομένως υποδεικνύει ότι οι μεσοθηλιακοί φραγμοί στο περικάρδιο δεν ανταποκρίνονται με τον ίδιο τρόπο όπως άλλοι ιστοί (π.χ. το εντερικό ή το αγγειακό ενδοθήλιο), ή ότι απαιτούνται διαφορετικές συνθήκες διέγερσης (π.χ. συνδυασμός με φλεγμονώδη ερεθίσματα). (64) Είναι λοιπόν, απαραίτητο να γίνουν επιπλέον μελέτες προκειμένου να διευκρινιστούν πλήρως οι μηχανισμοί δράσης της φορσκολίνης στη διαπερατότητα.

Επιπλέον, η χορήγηση 2-δεοξυ-D-γλυκόζης (2DG) σε συγκέντρωση 0,2 M δεν προκάλεσε στατιστικά σημαντική μεταβολή στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση (R_{TM}) του περικαρδίου προβάτου. Αντιθέτως, προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι η 2DG μπορεί να επηρεάσει τη διαπερατότητα των μεσοθηλιακών φραγμών. Συγκεκριμένα, έχει αναφερθεί ότι η 2DG βελτιώνει τη λειτουργία του περιτοναϊκού μεσοθηλίου, αποκαθιστώντας τις διαταραχές που προκαλούνται από τα υγρά περιτοναϊκής κάθαρσης. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της ρύθμισης της έκφρασης πρωτεϊνών των στενών συνδέσμων, όπως οι claudins και η ZO-1, καθώς και μέσω της μείωσης της μεταγραφής γονιδίων που σχετίζονται με τη μετάβαση μεσοθηλίου σε μεσεγχυματικό φαινότυπο (MMT). (65) Η διαφορά στα αποτελέσματα μεταξύ της παρούσας μελέτης και προηγούμενων ερευνών ενδέχεται να οφείλεται στο γεγονός ότι οι πειραματικές συνθήκες στο περιτόναιο συμπεριλάμβαναν την έκθεση σε παράγοντες που επάγουν τη φλεγμονή στα μεσοθηλιακά κύτταρα. Επομένως η επίδραση της 2DG στη διαπερατότητα μπορεί να εξαρτάται από την παρουσία άλλων παραγόντων, όπως φλεγμονής ή οξειδωτικού στρες, τα οποία δεν εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη. Για αυτό, απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για να διευκρινιστεί ο ρόλος της 2DG στη ρύθμιση της διαπερατότητας του μεσοθηλίου υπό διαφορετικές συνθήκες.

Στη συγκεκριμένη μελέτη, η χορήγηση χλωριούχου λιθίου (LC) σε συγκέντρωση 50mM προκάλεσε στατιστικά σημαντική μείωση της R_{TM} του περικαρδίου προβάτου σε όλες τις χρονικές στιγμές, υποδεικνύοντας αύξηση της διαπερατότητας του περικαρδίου. Αυτή η μεταβολή πιθανώς σχετίζεται με την επίδραση του LC στον πρωτεύοντα κροσσό (primary cilium), έναν οργανίδιο που ρυθμίζει κρίσιμες σηματοδοτικές οδούς (Wnt, Hedgehog,) και συμμετέχει στη διατήρηση της κυτταρικής πολικότητας, της ακεραιότητας των διακυτταρικών συνδέσεων και της ομοιόστασης. (66,67) Ωστόσο, η σημασία του πρωτεύοντος κροσσού στη ρύθμιση της διαπερατότητας δεν περιορίζεται στον μεσοθηλιακό ιστό. Μελέτες έχουν δείξει ότι η φαρμακολογική διαταραχή του πρωτεύοντος κροσσού μέσω LC επιμηκώνει τον κροσσό, επηρεάζοντας αρνητικά λειτουργίες όπως η κυτταρική προσκόλληση, μετανάστευση, και οργάνωση του κυτταροσκελετού. (66,67) Η απουσία ή η δυσλειτουργία του PC έχει συσχετιστεί με μειωμένη έκφραση και αποδιοργάνωση πρωτεϊνών όπως οι ZO-1, occludin και claudins. (67,68) Έχει φανεί ότι διαταραχές του κροσσού οδηγούν σε αποδιοργάνωση της κατανομής και έκφρασης των πρωτεϊνών των στενών συνδέσμων και συνοδεύονται από αύξηση της μεσοθηλιακής διαπερατότητας. (66) Συνεπώς, τα πειραματικά ευρήματα της παρούσας μελέτης ενισχύουν την υπόθεση ότι το χλωριούχο λίθιο, επηρεάζει τη διαμεσοθηλιακή διαπερατότητα μέσω της δράσης του στον πρωτεύοντα κροσσό και στους στενούς συνδέσμους. Η μείωση της R_{TM} που παρατηρήθηκε, μπορεί να αποδοθεί ενδεχομένως στην αποδιοργάνωση αυτών των μηχανισμών, επισημαίνοντας την ανάγκη για περαιτέρω μελέτη των επιδράσεων του στο μεσοθήλιο.

Ταυτόχρονα, εξετάστηκε και η επίδραση του θειικού αμμωνίου (AS) σε συγκέντρωση 30 mM στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση (R_{TM}) του περικαρδίου προβάτου. Η χορήγηση AS προκάλεσε στατιστικά σημαντική και διατηρούμενη μείωση της R_{TM} ,

υποδηλώνοντας αύξηση της διαπερατότητας του μεσοθηλίου.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι και το AS έχει βρεθεί να επηρεάζει τον πρωτεύοντα κροσσό. Συγκεκριμένα, η μελέτη των Jagirdar et al. κατέδειξε ότι το AS, ως φαρμακολογικός παράγοντας διαταραχής του πρωτεύοντα κροσσού, επηρεάζει σημαντικά τη μορφολογία, τη βιωσιμότητα, την προσκόλληση και τη μεταναστευτική ικανότητα των μεσοθηλιακών κυττάρων. (67)

Σε συνδυασμό με το προηγούμενο εύρημα της μείωσης της R_{TM} έπειτα από χορήγηση χλωριούχου λιθίου (LC), το οποίο επίσης σχετίζεται με μεταβολές στον πρωτεύοντα κροσσό, διαφαίνεται μια πιθανή συσχέτιση μεταξύ της λειτουργικότητας του πρωτεύοντα κροσσού και της διαπερατότητας του περικαρδιακού ιστού. Ο πρωτεύοντας κροσσός είναι γνωστό ότι συμμετέχει στη ρύθμιση σηματοδοτικών μονοπατιών που επηρεάζουν τόσο τις διακυτταρικές συνδέσεις όσο και τη δυναμική του κυτταροσκελετού. (66) Ειδικότερα, έχει αποδειχθεί ότι η απουσία ή η δυσλειτουργία του πρωτεύοντα κροσσού οδηγεί σε αποδιοργάνωση ορισμένων πρωτεϊνών στενών συνδέσμων (claudin, occludin) και σε αύξηση της μεσοθηλιακής διαπερατότητας. (66)

Συνεπώς, τα ευρήματα της παρούσας μελέτης ενισχύουν την υπόθεση ότι ο πρωτεύοντας κροσσός διαδραματίζει ρυθμιστικό ρόλο στη διαπερατότητα του περικαρδιακού μεσοθηλίου. Η κοινή επίδραση δύο ανεξάρτητων φαρμακολογικών παραγόντων που επηρεάζουν τον πρωτεύοντα κροσσό ενισχύει τη βιολογική σημασία αυτής της δομής στο συγκεκριμένο ιστό. Περαιτέρω έρευνα θα μπορούσε να επιβεβαιώσει τον μηχανισμό αυτό.

Σε αντίθεση με τις άλλες δύο ουσίες που επηρεάζουν τον πρωτεύοντα κροσσό, η χορήγηση ένυδρης χλωράλης σε συγκέντρωση 4 mM δεν προκάλεσε στατιστικά

σημαντική μεταβολή στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση (R_{TM}) του περικαρδίου προβάτου. Η απουσία επίδρασης στη διαπερατότητα ενδέχεται να οφείλεται στο γεγονός ότι ο μηχανισμός δράσης του συγκεκριμένου φαρμάκου στον πρωτεύοντα κροσσό δεν σχετίζεται άμεσα με τη ρύθμιση της μεσοθηλιακής διαπερατότητας, όπως συμβαίνει με τις άλλες ουσίες. Ωστόσο, απαιτούνται περαιτέρω μελέτες προκειμένου να επιβεβαιωθεί η απουσία αυτής της συσχέτισης, ενώ θα μπορούσαν να αξιολογηθούν και διαφορετικές συγκεντρώσεις του φαρμάκου.

Στη μελέτη μας, η χορήγηση ιβουπροφαίνης σε συγκέντρωση 0.65 mM προκάλεσε στατιστικά σημαντική αύξηση της διαμεσοθηλιακής αντίστασης 30 λεπτά μετά τη χορήγηση, υποδεικνύοντας μείωση της διαπερατότητας του περικαρδίου. Σε μία άλλη μελέτη η ιβουπροφαίνη φαίνεται να ρυθμίζει τη διαπερατότητα των επιθηλιακών φραγμών μέσω της δράσης της στις πρωτεΐνες των στενών συνδέσμων. Συγκεκριμένα, ενισχύει την έκφραση της πρωτεάσης prostatic symplectin συμβάλλοντας στη σταθεροποίηση των κυτταρικών συνδέσεων και στη μείωση της διαπερατότητας. (69) Αυτό το εύρημα είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρον, δεδομένου ότι η ιβουπροφαίνη, ως μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο (NSAID), χρησιμοποιείται ευρέως στη θεραπεία της οξείας περικαρδίτιδας, λόγω της αποτελεσματικότητάς της στην ανακούφιση του πόνου και της φλεγμονής του περικαρδίου. (70) Αυτή η ιδιότητα μπορεί να υποδεικνύει έναν επιπλέον μηχανισμό με τον οποίο η ιβουπροφαίνη συνεισφέρει στη θεραπευτική αντιμετώπιση των περικαρδιακών φλεγμονών, πέραν της αναλγητικής και αντιφλεγμονώδους δράσης της. Περαιτέρω πειραματικές μελέτες, θα μπορούσαν να διασαφηνίσουν τους ακριβείς μοριακούς μηχανισμούς μέσω των οποίων η ιβουπροφαίνη επηρεάζει τη διαπερατότητα του περικαρδίου.

Επιπρόσθετα, διερευνήθηκε η επίδραση της κολχικίνης, ενός φαρμάκου που επίσης χρησιμοποιείται σε περιπτώσεις περικαρδίτιδας. Η κολχικίνη σε συγκέντρωση 0.8mM

δεν προκάλεσε καμία στατιστικά σημαντική μεταβολή στην R_{TM} του περικαρδίου υποδεικνύοντας ότι, υπό τις συγκεκριμένες πειραματικές συνθήκες δεν επηρεάζει τη διαπερατότητα του περικαρδιακού μεσοθηλίου.

Η κολχικίνη αποτελεί ευρέως χρησιμοποιούμενο αντιφλεγμονώδες φάρμακο, ιδίως στην αντιμετώπιση της περικαρδίτιδας, καθώς αναστέλλει τη συναρμολόγηση μικροσωληνίσκων και επηρεάζει τη μετακίνηση των λευκοκυττάρων, μειώνοντας τη φλεγμονώδη αντίδραση. (71) Ωστόσο, η επίδρασή της στη διαπερατότητα των μεσοθηλιακών κυττάρων εμφανίζει σημαντική ετερογένεια ανάλογα με τον ιστό. Σε μια έρευνα, έχει αναφερθεί ότι η κολχικίνη αυξάνει τη διαπερατότητα του εντερικού επιθηλίου, γεγονός που αποδόθηκε σε διαταραχή των πρωτεϊνών των στενών συνδέσμων και μεταβολές στη σύσταση του μικροβιώματος. (72)

Αντίθετα, σε μοντέλα μελέτης του πνεύμονα, η κολχικίνη έχει συσχετιστεί με μείωση της διαπερατότητας, ενδεχομένως μέσω ενίσχυσης της σταθερότητας του κυτταροσκελετού και της ενίσχυσης του φραγμού. (73) Τα αντικρουόμενα αυτά αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η επίδραση της κολχικίνης είναι πιθανώς ιστό-ειδική, και εξαρτάται από το μικροπεριβάλλον του ιστού, τον κυτταρικό τύπο, καθώς και από την ύπαρξη φλεγμονής στον ιστό.

Η απουσία επίδρασης της κολχικίνης στο περικάρδιο στο παρόν πείραμα δεν αποκλείει την πιθανότητα δράσης της υπό διαφορετικές συνθήκες. Για αυτό μελλοντικές μελέτες με διαφορετικές συγκεντρώσεις ή παρουσία φλεγμονής είναι απαραίτητες για την αποσαφήνιση της επίδρασης της κολχικίνης στη διαπερατότητα του περικαρδίου.

Συνολικά, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης αναδεικνύουν τον κρίσιμο ρόλο του μεσοθηλίου του τοιχωματικού περικαρδίου στην εγκατάσταση φραγμού διαλυμένων ουσιών και άρα στη διακίνηση του περικαρδιακού υγρού. Τα μεσοθηλιακά

κύτταρα παίζουν σημαντικό ρόλο στην διαπερατότητα του περικαρδίου, η οποία μπορεί να επηρεαστεί από τη χρήση ορισμένων ουσιών. Για αυτό είναι απαραίτητη επιπλέον έρευνα η οποία θα μπορούσε να συμβάλλει στην περαιτέρω κατανόησή μας σχετικά με την σχέση της διαπερατότητας του περικαρδίου και τη διακίνηση του περικαρδιακού υγρού.

8. Βιβλιογραφία

1. Vogiatzidis K, Zarogiannis SG, Aidonidis I, Solenov EI, Molyvdas PA, Gourgoulialis KI, et al. Physiology of pericardial fluid production and drainage. Vol. 6, Frontiers in Physiology. Frontiers Research Foundation; 2015.
2. Chinchoy E, Ujhelyi MR, Hill AJ, Skadsberg ND, Iaizzo PA. The Pericardium.
3. Prashant Dahal, Sagar Aryal. Pericardium: Definition, Structure, Functions, Diseases. 2023.
4. D'Avila A, Scanavacca M, Sosa E, Ruskin JN, Reddy VY. Pericardial anatomy for the interventional electrophysiologist. J Cardiovasc Electrophysiol. 2003 Apr 1;14(4):422–30.
5. Braga-Vilela AS, Pimentel ER, Marangoni S, Toyama MH, De Campos Vidal B. Extracellular matrix of porcine pericardium: Biochemistry and collagen architecture. Journal of Membrane Biology. 2008 Jan;221(1):15–25.
6. Mutsaers SE. Mesothelial cells: Their structure, function and role in serosal repair. Vol. 7, Respiriology. 2002. p. 171–91.
7. Hoit BD. Anatomy and Physiology of the Pericardium. Vol. 35, Cardiology Clinics. W.B. Saunders; 2017. p. 481–90.
8. Jöbsis PD, Ashikaga H, Wen H, Rothstein EC, Horvath KA, Mcveigh ER, et al. The visceral pericardium: macromolecular structure and contribution to passive mechanical properties of the left ventricle. 2007; Available from: www.lsmtech.com

9. Mutsaers SE. Mesothelial cells: Their structure, function and role in serosal repair. Vol. 7, *Respirology*. 2002. p. 171–91.
10. Hoit BD. Pathophysiology of the Pericardium. Vol. 59, *Progress in Cardiovascular Diseases*. W.B. Saunders; 2017. p. 341–8.
11. Ben-Horin S, Shinfeld A, Kachel E, Chetrit A, Livneh A. The composition of normal pericardial fluid and its implications for diagnosing pericardial effusions. *American Journal of Medicine*. 2005 Jun;118(6):636–40.
12. Burgess LJ, Reuter H, Taljaard JJF, Doubell AF. Role of biochemical tests in the diagnosis of large pericardial effusions. *Chest*. 2002;121(2):495–9.
13. Holt JP. The Normal Pericardium.
14. Cinca J, Rodriguez-Sinovas A. Cardiovascular reflex responses induced by epicardial chemoreceptor stimulation [Internet]. Vol. 45, *Cardiovascular Research*. 2000. Available from: www.elsevier.com/locate/cardiores
www.elsevier.nl/locate/cardioresUpdate
15. Goto Y, Lewinter MM. Nonuniform Regional Deformation of the Pericardium During the Cardiac Cycle in Dogs [Internet]. Available from: <http://circres.ahajournals.org/>
16. Boulanger B, Yuan Z, Flessner M, Hay J, Johnston M. Pericardial Fluid Absorption into Lymphatic Vessels in Sheep [Internet]. 1999. Available from: <http://www.idealibrary.com>
17. Hamilton DR, Sas R, Tyberg J V. Atrioventricular nonuniformity of pericardial constraint. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* [Internet]. 2004;287:1700–4. Available from: www.ajpheart.org
18. Quick CM, Venugopal AM, Gashev AA, Zawieja DC, Stewart RH. Intrinsic pump-conduit behavior of lymphangions. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* [Internet]. 2007;292:1510–8. Available from: www.ajpregu.org
19. Zocchi L, Raffaini A, Agostoni E, Cremaschi AD, Cremaschi D. Diffusional permeability of rabbit mesothelium [Internet]. Vol. 85, *J. Appl. Physiol*. 1998. Available from: <http://www.jap.org>
20. Bodega F, Zocchi L, Agostoni E. Downloaded from journals.physiology.org/journal/jappl [Internet]. Vol. 89, *J Appl Physiol*. 2000. Available from: <http://www.jap.org>
21. Bodega F, Zocchi L, Cremaschi D, Agostoni E. Electrical resistance and ion diffusion through mesothelium [Internet]. Vol. 124, *Respiration Physiology*. 2001. Available from: www.elsevier.com/locate/resphysiol

22. Tang SMM, Lai-Fook SJ. Transport properties of the mesothelium and interstitium measured in rabbit pericardium. *Microvasc Res*. 2005;70(3):152–64.
23. Vogiatzidis K, Hatzoglou C, Zarogiannis S, Matafia G, Gourgoulialis K, Molyvdas PA. μ -Opioid influence on transmesothelial resistance of isolated sheep pleura and parietal pericardium. *Eur J Pharmacol*. 2006 Jan 20;530(3):276–80.
24. Zarogiannis S, Vogiatzidis K, Eleftheriadis T. μ -Opioid stimulation of isolated parietal sheep peritoneum decreases peritoneal permeability in vitro [Internet]. 2007. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/5956508>
25. HANDBOOK OF CARDIAC ANATOMYp PHYSIOLOGYp AND DEVICES.
26. Maisch B, Seferović PM, Ristić AD, Erbel R, Rienmüller R, Adler Y, et al. Guidelines on the Diagnosis and Management of Pericardial Diseases: Executive Summary. The Task Force on the Diagnosis and Management of Pericardial Diseases of the European Society of Cardiology. Vol. 25, *European Heart Journal*. W.B. Saunders Ltd; 2004. p. 587–610.
27. Burgess LJ, Reuter H, Taljaard JJF, Doubell AF. Role of biochemical tests in the diagnosis of large pericardial effusions. *Chest*. 2002;121(2):495–9.
28. G. S, P. V, Kumar K. K. Significance of serum-pleural effusion albumin gradient in differentiating transudative and exudative pleural effusions in comparison to light's criteria. *International Journal of Advances in Medicine*. 2017 Mar 23;4(2):457.
29. Mutsaers SE. The mesothelial cell. Vol. 36, *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. Elsevier Ltd; 2004. p. 9–16.
30. Mutsaers SE. Mesothelial cells: Their structure, function and role in serosal repair. Vol. 7, *Respirology*. 2002. p. 171–91.
31. Mutsaers SE, Whitaker D, Papadimitriou JM. Stimulation of Mesothelial Cell Proliferation by Exudate Macrophages Enhances Serosal Wound Healing in a Murine Model.
32. Lai-Fook SJ. Pleural Mechanics and Fluid Exchange. 2004; Available from: www.prv.org
33. Schneeberger EE, Lynch RD. The tight junction: a multifunctional complex. *Am J Physiol Cell Physiol* [Internet]. 2004;286:1213–28. Available from: www.ajpcell.org
34. Lai-Fook SJ. Pleural Mechanics and Fluid Exchange. 2004; Available from: www.prv.org

35. Gouldstone A, Brown RE, Butler JP, Loring SH, Butler JP, Loring SH, et al. Stiffness of the pleural surface of the chest wall is similar to that of the lung Animals and Tissue Preparation. *J Appl Physiol* [Internet]. 2003;95:2345–9. Available from: <http://www.jap.org>
36. Schneeberger EE, Lynch RD. The tight junction: a multifunctional complex. *Am J Physiol Cell Physiol* [Internet]. 2004;286:1213–28. Available from: www.ajpcell.org
37. D'Angelo E, Loring SH, Gioia ME, Pecchiari M, Moscheni C. Friction and lubrication of pleural tissues. *Respir Physiol Neurobiol*. 2004 Aug 20;142(1):55–68.
38. Lai J, Gouldstone A, Butler JP, Federspiel WJ, Loring SH. Relative motion of lung and chest wall promotes uniform pleural space thickness [Internet]. Vol. 131, *Respiratory Physiology & Neurobiology*. 2002. Available from: www.elsevier.com/locate/resphysiol
39. Gouldstone A, Brown RE, Butler JP, Loring SH. Elastohydrodynamic separation of pleural surfaces during breathing. *Respir Physiol Neurobiol*. 2003 Aug 14;137(1):97–106.
40. Loring SH, Brown RE, Gouldstone A, Butler JP. Lubrication regimes in mesothelial sliding. *J Biomech*. 2005 Dec;38(12):2390–6.
41. Hausmann MJ, Rogachev B, Weiler M, Chaimovitz C, Douvdevani A. Accessory role of human peritoneal mesothelial cells in antigen presentation and T-cell growth. *Kidney Int*. 2000;57(2):476–86.
42. Hausmann MJ, Rogachev B, Weiler M, Chaimovitz C, Douvdevani A. Accessory role of human peritoneal mesothelial cells in antigen presentation and T-cell growth. *Kidney Int*. 2000;57(2):476–86.
43. van der Wal JBC, Jeekel J. Biology of the peritoneum in normal homeostasis and after surgical trauma. *Colorectal Disease*. 2007 Oct;9(SUPPL. 2):9–13.
44. Vogiatzidis K, Zarogiannis SG, Aidonidis I, Solenov EI, Molyvdas PA, Gourgoulis KI, et al. Physiology of pericardial fluid production and drainage. Vol. 6, *Frontiers in Physiology*. Frontiers Research Foundation; 2015.
45. Ji HL, Nie HG. Electrolyte and Fluid Transport in Mesothelial Cells. *J Epithel Biol Pharmacol*. 2008 Jun 3;1(1):1–7.
46. G. Cooper R. ΤΟ ΚΥΤΤΑΡΟ Μια Μοριακή Προσέγγιση 7η Έκδοση. ΑΚΑΔΗΜΑΙΚΕΣ ΕΚΔΟΣΕΙΣ Ι. ΜΠΑΣΔΡΑ και ΣΙΑ ΟΕ.; 2017.
47. Schultz SG, Leaf A. Hans ussing memorial issue: Epithelial membrane transport. Vol. 184, *Journal of Membrane Biology*. Springer New York; 2001. p. 199–202.

48. Li H, Sheppard DN, Hug MJ. Transepithelial electrical measurements with the Ussing chamber. *Journal of Cystic Fibrosis*. 2004 Aug;3(SUPPL. 2):123–6.
49. Abdulnour-Nakhoul SM, Nakhoul NL. Ussing Chamber Methods to Study the Esophageal Epithelial Barrier. In: *Methods in Molecular Biology*. Humana Press Inc.; 2021. p. 215–33.
50. Sun Q, Sever P. Amiloride: A review. *JRAAS - Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*. 2020;21(4).
51. Zhao Y, Roy K, Vidossich P, Cancedda L, De Vivo M, Forbush B, et al. Structural basis for inhibition of the Cation-chloride cotransporter NKCC1 by the diuretic drug bumetanide. *Nat Commun*. 2022 Dec 1;13(1).
52. Laurenza A, Sutkowski EMH, Seamon KB. Forskolin: a specific stimulator of adenylyl cyclase or a diterpene with multiple sites of action? Vol. 10, *Trends in Pharmacological Sciences*. 1989. p. 442–7.
53. Sutula TP, Fountain NB. 2DG and glycolysis as therapeutic targets for status epilepticus. Vol. 140, *Epilepsy and Behavior*. Academic Press Inc.; 2023.
54. Jagirdar RM, Pitaraki E, Kotsiou OS, Rouka E, Sinis SI, Varsamas C, et al. Effects of pharmacological primary cilium disturbance in the context of in vitro 2D and 3D malignant pleura mesothelioma. *Biochem Biophys Res Commun*. 2023 Apr 30;654:128–35.
55. Jan-Roblero J, Cruz-Maya JA. Ibuprofen: Toxicology and Biodegradation of an Emerging Contaminant. Vol. 28, *Molecules*. MDPI; 2023.
56. Deftereos SG, Beerkens FJ, Shah B, Giannopoulos G, Vrachatis DA, Giotaki SG, et al. Colchicine in Cardiovascular Disease: In-Depth Review. Vol. 145, *Circulation*. Lippincott Williams and Wilkins; 2022. p. 61–78.
57. Ji HL, Nie HG. Electrolyte and Fluid Transport in Mesothelial Cells. *J Epithel Biol Pharmacol*. 2008 Jun 3;1(1):1–7.
58. Mutsaers SE. Mesothelial cells: Their structure, function and role in serosal repair. Vol. 7, *Respirology*. 2002. p. 171–91.
59. Khimenko PL, Barnard JW, Moore TM, Wilson PS, Ballard ST, Taylor AE. Vascular permeability and epithelial transport effects on lung edema formation in ischemia and reperfusion [Internet]. 1994. Available from: www.physiology.org/journal/jappl
60. Stefanidis I, Liakopoulos V, Kourti P, Zarogiannis S, Poultsidi A, Mertens PR, et al. Amiloride-sensitive sodium channels on the parietal human peritoneum: Evidence by ussing-type chamber experiments.

ASAIO Journal. 2007 May;53(3):335–8.

61. Koumangoye R, Penny P, Delpire E. Loss of NKCC1 function increases epithelial tight junction permeability by upregulating claudin-2 expression. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2022 Oct 1;323(4):C1251–63.
62. Sekulic-Jablanovic M, Paproth J, Sgambato C, Albano G, Fuster DG, Bodmer D, et al. Lack of NHE6 and Inhibition of NKCC1 Associated With Increased Permeability in Blood Labyrinth Barrier-Derived Endothelial Cell Layer. *Front Cell Neurosci*. 2022 Apr 12;16.
63. Liu L, Jiang Y, Steinle JJ. Forskolin regulates retinal endothelial cell permeability through TLR4 actions in vitro. *Mol Cell Biochem*. 2021 Dec 1;476(12):4487–92.
64. Liu ZJ, Jiang DB, Tian LL, Yin JJ, Huang JM, Weng WY. Intestinal permeability of forskolin by in situ single pass perfusion in rats. *Planta Med*. 2012;78(7):698–702.
65. Pitaraki E, Jagirdar RM, Rouka E, Bartosova M, Sinis SI, et al. 2-Deoxy-glucose ameliorates the peritoneal mesothelial and endothelial barrier function perturbation occurring due to Peritoneal Dialysis fluids exposure. *Biochem Biophys Res Commun*. 2024 Jan 22;693:149376.
66. Diagbouga MR, Morel S, Cayron AF, Haemmerli J, Georges M, Hierck BP, et al. Primary cilia control endothelial permeability by regulating expression and location of junction proteins. *Cardiovasc Res*. 2022 May 1;118(6):1583–96.
67. Jagirdar RM, Pitaraki E, Kotsiou OS, Rouka E, Sinis SI, Varsamas C, et al. Effects of pharmacological primary cilium disturbance in the context of in vitro 2D and 3D malignant pleura mesothelioma. *Biochem Biophys Res Commun*. 2023 Apr 30;654:128–35.
68. Ramirez SH, Fan S, Dykstra H, Rom S, Mercer A, Reichenbach NL, et al. Inhibition of Glycogen Synthase Kinase 3 β Promotes Tight Junction Stability in Brain Endothelial Cells by Half-Life Extension of Occludin and Claudin-5. *PLoS One*. 2013 Feb 13;8(2).
69. Chai AC, Robinson AL, Chai KX, Chen LM. Ibuprofen regulates the expression and function of membrane-associated serine proteases prostasin and matriptase. *BMC Cancer*. 2015 Dec 29;15(1).
70. Adler Y, Charron P, Imazio M, Badano L, Barón-Esquivias G, Bogaert J, et al. 2015 ESC Guidelines for the diagnosis and management of pericardial diseases. Vol. 36, *European Heart Journal*. Oxford University Press; 2015. p. 2921–64.
71. Imazio M, Gaita F, LeWinter M. Evaluation and treatment of pericarditis: A systematic review. Vol. 314, *JAMA - Journal of the American Medical Association*. American Medical Association; 2015.

p. 1498–506.

72. Shi Y, Li J, Yang P, Niu Z, Wei L, Chen L, et al. Colchicine increases intestinal permeability, suppresses inflammatory responses, and alters gut microbiota in mice. *Toxicol Lett.* 2020 Nov 1;334:66–77.
73. Huang YCT, Piantadosi CA. Alveolar barrier function assessed by hydrophobic and hydrophilic fluorescent solutes in rabbit lung [Internet]. Available from: www.elsevier.com/locate/resphys