

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ-ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΛΕΠΤΙΝΗΣ ΣΤΗ  
ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ ΠΡΟΒΑΤΟΥ**

**ΧΑΝΙΚΑ ΕΛΕΝΗ**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΜΑΡΤΙΟΣ 2007**

**ΛΑΡΙΣΑ**



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ  
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»**

Αριθ. Εισ.: 5198/1  
Ημερ. Εισ.: 26-03-2009  
Δωρεά: Π.Θ.  
Ταξίθετικός Κωδικός: ΠΤ - ΒΒ  
2007  
ΧΑΝ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000087330

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ-ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΛΕΠΤΙΝΗΣ ΣΤΗ ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑ**  
**ΤΟΥ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ ΠΡΟΒΑΤΟΥ**

**Διπλωματική Εργασία**

**Επιβλέπουσα καθηγήτρια**

Χατζόγλου Χρύσα

Λέκτορας Φυσιολογίας, Ιατρικής Σχολής, Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**Μέλη τριμελούς επιτροπής**

- 1) Χατζόγλου Χρύσα, Λέκτορας Φυσιολογίας, Ιατρικής Σχολής, Πανεπιστημίου  
Θεσσαλίας
- 2) Κουρέτας Δημήτριος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Βιοχημείας &  
Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
- 3) Σταθόπουλος Κωνσταντίνος, Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Βιοχημείας &  
Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b> .....	5
<b>ABSTRACT</b> .....	6
<b>I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b> .....	7
Ανατομία υπεζωκότα .....	7
Ιστολογία υπεζωκότα .....	8
Λεμφαγγεία υπεζωκότα .....	8
Αιμάτωση υπεζωκότα .....	9
Υπεζωκοτικό υγρό .....	9
<b>ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ</b> .....	10
Διακίνηση υπεζωκοτικού υγρού κάτω από φυσιολογικές συνθήκες .....	10
Ο ρόλος των πιέσεων στη διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού .....	11
Ο ρόλος των λεμφαγγείων στην απομάκρυνση του υπεζωκοτικού υγρού .....	12
Διακίνηση υπεζωκοτικού υγρού με ενδοκυττάρωση .....	12
Διακίνηση υπεζωκοτικού υγρού κάτω από παθοφυσιολογικές συνθήκες .....	13
Υπεζωκοτική συλλογή .....	13
Αίτια υπεζωκοτικών συλλογών .....	14
<b>ΛΕΠΤΙΝΗ ΚΑΙ ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ</b> .....	16
Λεπτίνη .....	16
Το γονίδιο της λεπτίνης .....	18
Ο υποδοχέας της λεπτίνης .....	18
Βιολογικές επιδράσεις της λεπτίνης .....	19
Λεπτίνη και φλεγμονή .....	20
Υπεζωκοτικές συλλογές και λεπτίνη .....	21
Λεπτίνη και σύνδρομο υπεργιέγερσης ωοθηκών (OHSS) .....	21
Λεπτίνη και σύνδρομο Meigs' .....	22
<b>II. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ</b> .....	24
Συλλογή και προετοιμασία ιστού .....	24
Μελέτη διαπερατότητας βιολογικών μεμβρανών – Μέθοδος ussing system .....	24
Πειραματική διαδικασία .....	26
<b>III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b> .....	30

Τοιχωματικός υπεζωκότας .....	30
Πνευμονικός υπεζωκότας .....	36
<b>IV. ΣΥΖΗΤΗΣΗ</b> .....	42
<b>V. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b> .....	44
<b>VI. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b> .....	45

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο υπεζωκότας είναι μία ημιδιαφανής μεμβράνη που αποτελείται από δύο πέταλα: το πνευμονικό και το τοιχωματικό, τα οποία σχηματίζουν την υπεζωκοτική κοιλότητα. Μεταξύ των δύο αυτών πετάλων του υπεζωκότα παρεμβάλλεται το υπεζωκοτικό υγρό. Σε φυσιολογικές συνθήκες, η υπεζωκοτική κοιλότητα περιέχει μικρή ποσότητα υπεζωκοτικού υγρού. Σε παθολογικές καταστάσεις όμως, παρατηρείται σημαντική αύξηση υπεζωκοτικού υγρού και συσσώρευσή του στην υπεζωκοτική κοιλότητα, εξαιτίας διαταραχής των μηχανισμών διακίνησής του.

Η λεπτίνη, είναι μία πλειοτροπική ορμόνη που ρυθμίζει την ενεργειακή ομοιόσταση του οργανισμού αλλά συμμετέχει και σε άλλες λειτουργίες όπως η αναπαραγωγή, η αγγειογένεση, η φλεγμονή. Μελέτες έχουν δείξει ότι σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις συσσώρευσης υπεζωκοτικού υγρού, τα επίπεδα λεπτίνης είναι χαμηλά στον ορό, στο περιτοναϊκό κι υπεζωκοτικό υγρό.

Σκοπός της συγκεκριμένης διπλωματικής εργασίας ήταν να ερευνηθεί η επίδραση της λεπτίνης στη διαμεσοθηλιακή αντίσταση ( $R_{TM}$ ) και στη διαπερατότητα της βασικής και κορυφαίας επιφάνειας του πνευμονικού και τοιχωματικού υπεζωκότα προβάτου, χρησιμοποιώντας την τεχνική Ussing system.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι αμέσως μετά τη χορήγηση λεπτίνης στη βασική και κορυφαία επιφάνεια του πνευμονικού και τοιχωματικού υπεζωκότα παρατηρήθηκε πτώση στην τιμή της διαμεσοθηλιακής αντίστασης. Η δράση της λεπτίνης ήταν ταχεία και στα δύο πέταλα του υπεζωκότα και η πτώση στην τιμή της αντίστασης διήρκησε μέχρι το τέλος των πειραμάτων. Είναι πιθανό, η λεπτίνη συνεργιστικά με άλλους παράγοντες να αυξάνει την διαπερατότητα του μεσοθηλίου και να προκαλεί συσσώρευση υγρού στην υπεζωκοτική κοιλότητα. Επίσης, αυτή της η δράση ίσως να επιτελείται μέσω της σύνδεσής της στους πιθανούς υποδοχείς της στο μεσοθήλιο του υπεζωκότα και να αναστέλλεται μετά την προσθήκη αντισώματος του υποδοχέα της. Περαιτέρω έρευνες είναι απαραίτητες για την καλύτερη κατανόηση των μοριακών μηχανισμών.

## ABSTRACT

Pleura, is a translucent membrane consisted of visceral and parietal pleura, which together form the pleural cavity. Between these two pleurae, the pleural fluid is edged in. In physiological conditions, the pleural cavity has a small amount of pleural fluid. In pathophysiological conditions though, a remarkable rise of the pleural fluid is observed and is accumulated in the pleural cavity, because of the impaired diversion's mechanisms.

Leptin, is a pleiotropic hormone which controls the organism's energetic homeostasis, but it also participates in other functions such as the reproduction, the angiogenesis, the inflammation. Studies have indicated that in particular pathological conditions of accumulation of the pleural fluid, the leptin's levels are low in the serum, the peritoneal and the pleural fluid. On account of this possible leptin's involvement in pleural accumulations, its action was studied in the permeability of sheep's pleura.

The aim of this diplomatic project was the examination of the leptin's effect on the transmesothelial resistance ( $R_{TM}$ ) and the permeability in the basolateral and apical side of sheep's visceral and parietal pleura, using the Ussing chamber technique.

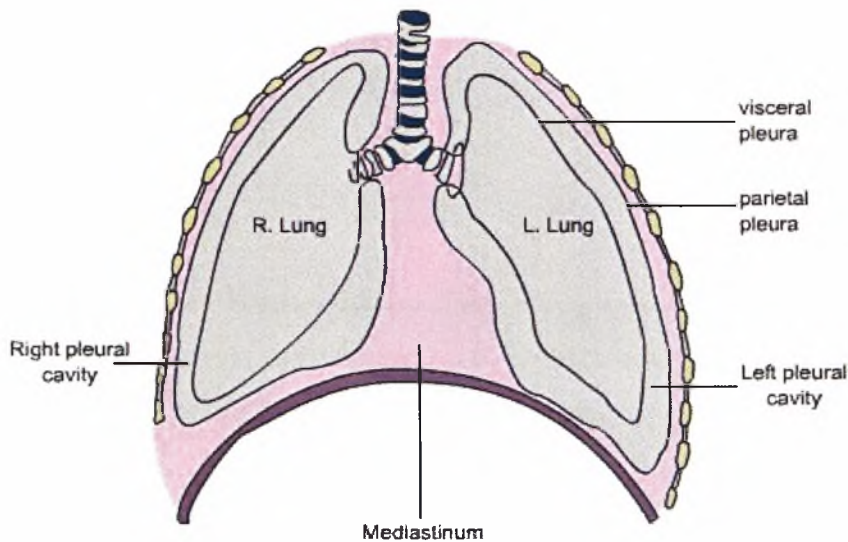
The results showed that directly after the leptin's addition in the basolateral and apical side of visceral and parietal pleura, a decline in the values of the transmesothelial resistance was observed. The action of leptin was immediate in both pleurae and this decrease in the transmesothelial resistance continued till the end of the experiments. It is possible that leptin synergistically with other factors increases the permeability of the mesothelium and provokes the fluid's accumulation in the pleural cavity. Moreover, this action is maybe accomplished through its connection in its possible receptors in pleura's mesothelium and is inhibited after the addition of the receptor's antibody. Additional studies are required for the better understanding of the molecular mechanisms.

## Ι. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### Ανατομία υπεζωκότα

Ο υπεζωκότας είναι ένας ημιδιαφανής υμένας που καλύπτει τους πνεύμονες, το μεσαύλιο, το διάφραγμα και την έσω επιφάνεια του θωρακικού κλωβού. Αποτελείται από δύο πέταλα: το περισπλάχνιο, που καλύπτει όλο τον πνεύμονα και τις μεσολόβιες σχισμές και το τοιχωματικό, που καλύπτει το εσωτερικό τοίχωμα του θωρακικού κλωβού, το διάφραγμα και το μεσαύλιο. Τα δύο πέταλα του υπεζωκότα συναντώνται στην περιοχή των πνευμονικών πυλών και σχηματίζουν με αυτόν τον τρόπο μία κλειστή κοιλότητα πλάτους 18-20μm, που ονομάζεται υπεζωκοτική. Μεταξύ των δύο πετάλων, παρεμβάλλεται μία λεπτή στιβάδα υγρού, το υπεζωκοτικό υγρό, το οποίο λειτουργεί ως λιπαντικό ελαχιστοποιώντας τις τριβές που δημιουργούνται κατά τη διάρκεια των αναπνευστικών κινήσεων (1-3) (Εικόνα 1).

Το μέσο πάχος του τοιχωματικού υπεζωκότα στα πρόβατα είναι 20-25 μm και η απόσταση των τριχοειδών από την υπεζωκοτική κοιλότητα είναι 10-12 μm. Αντίθετα, το μέσο πάχος του πνευμονικού υπεζωκότα στα πρόβατα είναι 25-83 μm και η απόσταση των τριχοειδών από την υπεζωκοτική κοιλότητα είναι 18-56 μm (4-5) .



**Εικόνα 1:** Διαφαίνονται οι δύο πνεύμονες, ο υπεζωκότας που τους καλύπτει, η υπεζωκοτική κοιλότητα, καθώς και το μεσαύλιο ([www.mesothelioma.uk.com/images/Pleura.bmp](http://www.mesothelioma.uk.com/images/Pleura.bmp)).



## **Ιστολογία υπεζωκότα**

Ο υπεζωκότας αποτελείται από μία μονήρη στιβάδα μεσοθηλιακών κυττάρων, η οποία επικαλύπτει τη στιβάδα του συνδετικού ιστού. Η στιβάδα του συνδετικού ιστού είναι πλούσια σε αιμοφόρα αγγεία, νεύρα και λεμφαγγεία. Τα μεσοθηλιακά κύτταρα φέρουν στην επιφάνειά τους μικρολάχνες, μεταξύ των οποίων υπάρχει γλυκοπρωτεΐνη πλούσια σε υαλουρονικό οξύ, το οποίο συμβάλλει στην ελαχιστοποίηση των τριβών μεταξύ των δύο πετάλων του υπεζωκότα. Στο παρελθόν, θεωρούταν ότι τα μεσοθηλιακά κύτταρα απλά εξασφάλιζαν έναν παθητικό «φάκελο» για τις ορογόνες κοιλότητες. Αντιθέτως, σήμερα αναγνωρίζονται ως ενεργά κύτταρα κι εμπλέκονται σε πολλές ιστολογικές και μεταβολικές λειτουργίες. Συνθέτουν μακρομόρια για τον υποκείμενο συνδετικό ιστό και βιολογικά ενεργά μόρια, ανταποκρίνονται στη φλεγμονή κι εκκρίνουν κιτοκίνες, αυξητικούς και χημειοτακτικούς παράγοντες (3,6). Ακόμη, τα μεσοθηλιακά κύτταρα έχουν όλα τα χαρακτηριστικά που απαιτούνται για ενεργητική μεταφορά ουσιών (6).

Η διάμετρος των μεσοθηλιακών κυττάρων κυμαίνεται από 6 έως 12  $\mu\text{m}$  (7). Τα μεσοθηλιακά κύτταρα είναι δύο ειδών: τα επίπεδα ή αποπεπλατυσμένα και τα κυβοειδή. Τα επίπεδα είναι περισσότερα σε αριθμό και βρίσκονται κυρίως πάνω από σταθερές δομές όπως οι πλευρές. Τα κυβοειδή είναι λιγότερα σε αριθμό και βρίσκονται πάνω από περιοχές πιο χαλαρά δομημένες όπως οι πνεύμονες και το μεσαύλιο (8). Τέλος, τα μεσοθηλιακά κύτταρα συνδέονται μεταξύ τους με στενές συνδέσεις (tight junctions) και δεσμοσώματα (desmosomes) (3).

## **Λεμφαγγεία υπεζωκότα**

Η υπεζωκοτική κοιλότητα διαθέτει δύο διαφορετικά συστήματα λεμφικής κυκλοφορίας. Τα λεμφαγγεία του τοιχωματικού υπεζωκότα απομακρύνουν υγρό, κύτταρα (ερυθροκύτταρα, μακροφάγα) και μεγαλομοριακές ενώσεις από την υπεζωκοτική κοιλότητα. Τα τοιχωματικά υπεζωκοτικά λεμφαγγεία επικοινωνούν με την υπεζωκοτική κοιλότητα διαμέσου ανοιγμάτων, τα λεγόμενα στόματα, μεγέθους 2-6  $\mu\text{m}$ , τα οποία βρίσκονται στην υπεζωκοτική επιφάνεια. Τα στόματα ανοίγουν προς διευρυμένα λεμφικά αγγεία που ονομάζονται λεμφόκολλοι. Η κατανομή των στομάτων και των λεμφόκολλων είναι ανάλογη της περιοχής που βρίσκονται. Εντοπίζονται κυρίως στο μεσοπνευμόνιο και μεσοπλεύριο υπεζωκότα με μεγαλύτερη συγκέντρωση

στα κατώτερα τμήματα του θώρακα (3,4,9). Ένα πυκνό κι εκτεταμένο δίκτυο λεμφαγγείων που διατρέχει ολόκληρη την επιφάνεια του πνευμονικού υπεζωκότα, είναι υπεύθυνο για την απαγωγή της λέμφου κυρίως από τους πνεύμονες και δεν έχει επικοινωνία με την υπεζωκοτική κοιλότητα. (1).

### **Αιμάτωση υπεζωκότα**

Στο πρόβατο, τα τριχοειδή του τοιχωματικού υπεζωκότα αιματώνονται από τη συστηματική κυκλοφορία. Η φλεβική απαγωγή του τοιχωματικού υπεζωκότα γίνεται στις άζυγες φλέβες και στην άνω κοίλη φλέβα (φλεβική συστηματική κυκλοφορία). Στον πνευμονικό υπεζωκότα του προβάτου η παροχή αίματος γίνεται αποκλειστικά από τις βρογχικές αρτηρίες (συστηματική κυκλοφορία), ενώ η απαγωγή του φλεβικού αίματος γίνεται διαμέσου των πνευμονικών φλεβών (10).

Οι ανατομικές αυτές διαφορές έχουν ως αποτέλεσμα διαφορετική πίεση διήθησης στα δύο πέταλα. Έτσι, η ενδοαγγειακή πίεση στον πνευμονικό υπεζωκότα είναι μικρότερη από αυτή στον τοιχωματικό, γιατί οι βρογχικές αρτηρίες που τροφοδοτούν τον πνευμονικό εκβάλλουν σε πνευμονικές φλέβες χαμηλής πίεσης κι όχι στις φλέβες της συστηματικής κυκλοφορίας (1).

### **Υπεζωκοτικό υγρό**

Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η υπεζωκοτική κοιλότητα περιέχει μικρή ποσότητα υπεζωκοτικού υγρού. Το υπεζωκοτικό υγρό προέρχεται κυρίως από τα τριχοειδή του τοιχωματικού υπεζωκότα αλλά κι από τα τριχοειδή του πνευμονικού κι ο ρυθμός παραγωγής του είναι 0,01ml/kg/h. Στο πρόβατο, η ποσότητα του υπεζωκοτικού υγρού είναι περίπου 3,5 ml και στα δύο ημιθώρακια (1-3). Στον άνθρωπο, ο όγκος του υπεζωκοτικού υγρού έχει υπολογιστεί σε 0,26ml/kg (11). Η ποσότητα του υπεζωκοτικού υγρού είναι ομοίως κατανεμημένη εντός της κοιλότητας κι έτσι το υγρό συμπεριφέρεται σαν ένα συνεχές σύστημα. Η σύσταση του υπεζωκοτικού υγρού είναι παρόμοια αλλά όχι ίδια με τη σύσταση του διάμεσου υγρού και του πλάσματος. Επίσης, η σύσταση πολλών υπεζωκοτικών συλλογών είναι αρκετά διαφορετική από το φυσιολογικό ή διάμεσο υγρό. Επιπλέον, η συγκέντρωση πρωτεΐνης του υπεζωκοτικού υγρού κι ο λόγος της προς την πρωτεΐνη του πλάσματος είναι χαμηλά, υποδηλώνοντας ότι κι η διαπερατότητα του υπεζωκότα στις πρωτεΐνες είναι μικρή. Σε αντίθεση όμως, η αλβουμίνη που έχει μικρό μοριακό βάρος αποτελεί το μεγαλύτερο κλάσμα της ολικής

πρωτεΐνης στο υπεζωκοτικό υγρό σε αντίθεση με το πλάσμα (1). Η συγκέντρωση νατρίου και χλωρίου στο υπεζωκοτικό υγρό είναι μικρότερη κατά 2-5 % και 6-9% αντίστοιχα σε σχέση με το πλάσμα. Τα επίπεδα των διτανθρακικών είναι αυξημένα κατά 20-25% υποδηλώνοντας pH περισσότερο αλκαλικό, ενώ τα επίπεδα γλυκόζης και καλίου παραμένουν τα ίδια (12).

Η απλή παθητική παραγωγή και παροχέτευση δεν μπορούν από μόνες τους να ερμηνεύσουν τις διαφορές στη σύσταση μεταξύ του υπεζωκοτικού και του διάμεσου υγρού. Η μεταβολική δραστηριότητα του υπεζωκοτικού και του υποκείμενου πνευμονικού ιστού ή των κυττάρων του υπεζωκοτικού υγρού έχει προταθεί ως ικανή, να προκαλεί μεταβολές στη σύσταση του υπεζωκοτικού υγρού, παρόμοιες με αυτές που συχνά παρατηρούνται στις υπεζωκοτικές συλλογές. Μία εναλλακτική υπόθεση γι' αυτές τις διαφορές στη σύσταση περιλαμβάνει εκλεκτικές αλλαγές στους ρυθμούς παθητικής απορρόφησης κατά πλάτος του υπεζωκότα ή και διαδικασίες ενεργητικής μεταφοράς.

## **ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ**

### **Διακίνηση υπεζωκοτικού υγρού κάτω από φυσιολογικές συνθήκες**

Ο όγκος του υπεζωκοτικού υγρού προκύπτει από την ισορροπία της κίνησης του υγρού μέσα κι έξω από την υπεζωκοτική κοιλότητα. Η κίνηση αυτή διέπεται από τις δυνάμεις του Starling, την απαγωγή του υγρού από τα στόματα των λεμφαγγείων του τοιχωματικού υπεζωκότα καθώς και από την ανταλλαγή υγρού κι ηλεκτρολυτών διαμέσου του μεσοθηλίου και των δύο πετάλων του υπεζωκότα (13). Σύμφωνα με την κλασσική εξίσωση του Starling, η διαϋπεζωκοτική κίνηση υγρού ( $J_v$ ) είναι ίση με τη συνολική διαφορά πίεσης ( $\Delta P$ ) κατά πλάτος του τοιχωματικού ή του πνευμονικού υπεζωκότα:

$$J_v = L_p S \Delta P$$

όπου  $L_p$  η σταθερά υδατικής διαπερατότητας της μεμβράνης,  $S$  το εμβαδόν της επιφάνειας της μεμβράνης κι η  $\Delta P$  καθορίζεται από τον τύπο:

$$[(P_c - P_{liq}) - \sigma(\pi_{liq} - \pi_c)]$$

όπου  $P_c$  η υδροστατική πίεση στα τριχοειδή,  $P_{liq}$  η υδροστατική πίεση του υπεζωκοτικού υγρού,  $\pi_{liq}$  η κολλοειδοσμοτική πίεση του υπεζωκοτικού υγρού,  $\pi_c$  η κολλοειδοσμοτική πίεση στα τριχοειδή και σε μία σταθερά που καθορίζεται από τη διαπερατότητα της μεμβράνης στις πρωτεΐνες και άλλα μακρομόρια.

Γενικά, η παροχέτευση του υπεζωκοτικού υγρού γίνεται κυρίως μέσω των λεμφαγγείων του τοιχωματικού υπεζωκότα (13). Η παρουσία κλίσης πιέσεων κατά μήκος του πνευμονικού υπεζωκότα είναι ένας ακόμη τρόπος απορρόφησης του υπεζωκοτικού υγρού (14,15). Επιπλέον, διακίνηση υπεζωκοτικού υγρού γίνεται και διαμέσου των πετάλων του υπεζωκότα μέσω των μηχανισμών της παθητικής διάχυσης και της ενεργητικής μεταφοράς. Επίσης, ένας πρόσφατα προτεινόμενος μηχανισμός είναι η διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού με τη συμμεταφορά του με πρωτεΐνες διαμέσου της ενδοκυττάρωσης σε κυστίδια (16,17). Τέλος, παρατηρείται ενεργητική μεταφορά ηλεκτρολυτών διαμέσου των επιθηλιακών κυττάρων του υπεζωκότα (18-20).

## **Ο ρόλος των πιέσεων στη διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού**

Τα τριχοειδή του τοιχωματικού υπεζωκότα προέρχονται από τη συστηματική κυκλοφορία κι έχουν υδροστατική πίεση 30 cm H<sub>2</sub>O. Οι δυνάμεις ελαστικής επαναφοράς των πνευμόνων καθιστούν την ενδοϋπεζωκοτική πίεση μικρότερη της ατμοσφαιρικής κατά το μεγαλύτερο χρονικό διάστημα της αναπνοής και η μέση τιμή της είναι -5 cm H<sub>2</sub>O. Επομένως, υπάρχει μία διαφορά πίεσης 35 cm H<sub>2</sub>O που προκαλεί κίνηση υγρού από τον τοιχωματικό υπεζωκότα προς την υπεζωκοτική κοιλότητα.

Τα τριχοειδή του πνευμονικού υπεζωκότα προέρχονται κυρίως από την συστηματική κυκλοφορία, αλλά η φλεβική παροχέτευση του πνευμονικού υπεζωκότα γίνεται στην πνευμονική κυκλοφορία, με αποτέλεσμα η υδροστατική τους πίεση να είναι χαμηλότερη και ίση με 24 cm H<sub>2</sub>O. Η διαφορά μεταξύ της υδροστατικής πίεσης του πνευμονικού υπεζωκότα και της πίεσης της υπεζωκοτικής κοιλότητας, 29 cm H<sub>2</sub>O, συντελεί στη ροή υγρού από τον πνευμονικό υπεζωκότα στην υπεζωκοτική κοιλότητα. Η κολλοειδοσμοτική πίεση και στα δύο πέταλα του υπεζωκότα είναι 34 cm H<sub>2</sub>O, ενώ μέσα στην υπεζωκοτική κοιλότητα είναι χαμηλότερη (5 cm H<sub>2</sub>O) και τείνει να συγκρατεί υγρό. Έτσι η διαφορά πίεσης μεταξύ τοιχωματικού υπεζωκότα και υπεζωκοτικής κοιλότητας (29 cm H<sub>2</sub>O), έλκει υγρό από την υπεζωκοτική κοιλότητα

στον τοιχωματικό υπεζωκότα. Η ίδια διαφορά υπάρχει μεταξύ πνευμονικού υπεζωκότα και υπεζωκοτικής κοιλότητας (29 cm H<sub>2</sub>O), που έλκει υγρό από την κοιλότητα στον πνευμονικό υπεζωκότα. Τελικά προκύπτει μια διαφορά πιέσεων 6 cm H<sub>2</sub>O που οδηγεί υγρό από τον τοιχωματικό υπεζωκότα προς την υπεζωκοτική κοιλότητα και μηδενική διαφορά (αν και αυτό δεν έχει αποδειχτεί πειραματικά) στο επίπεδο του πνευμονικού υπεζωκότα (1).

Η θεωρία που επικρατεί κι αναγράφεται σε έγκυρα συγγράματα, υποστηρίζει ότι το υγρό φυσιολογικά εισέρχεται στην υπεζωκοτική κοιλότητα κυρίως από τα αγγεία της συστηματικής κυκλοφορίας του τοιχωματικού υπεζωκότα και η απομάκρυνσή του γίνεται από τα λεμφαγγεία του τοιχωματικού υπεζωκότα.

## **Ο ρόλος των λεμφαγγείων στην απομάκρυνση του υπεζωκοτικού υγρού**

Η απομάκρυνση του υγρού διαμέσου των στομάτων των λεμφαγγείων αποτελεί ένα μέρος από τη συνολική λεμφική παροχέτευση (51). Η συμμετοχή κι άλλων μηχανισμών, όπως είναι η ενδοκυττάρωση και η διάχυση, στην απομάκρυνση των πρωτεϊνών από την υπεζωκοτική κοιλότητα θα πρέπει να προσδιοριστεί, για να καθοριστεί με ακρίβεια η λεμφική απομάκρυνση υγρού διαμέσου των στομάτων. Η λεμφική παροχέτευση μέσω των στομάτων είναι αναγκαία για την απομάκρυνση κυττάρων και μορίων από την υπεζωκοτική κοιλότητα. Αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών στο υπεζωκοτικό υγρό και κυρίως με την αύξηση του όγκου του υγρού (52). Υπό από αυτές τις συνθήκες λοιπόν, η λεμφική παροχέτευση δια των στομάτων αντιπροσωπεύει τον πιο αποτελεσματικό τρόπο περιορισμού της επιπλέον συσσώρευσης υγρού και γίνεται ο κύριος μηχανισμός απομάκρυνσης του υγρού από την υπεζωκοτική κοιλότητα.

## **Διακίνηση υπεζωκοτικού υγρού με ενδοκυττάρωση**

Πρόσφατα, αν και τα βιβλιογραφικά δεδομένα είναι λίγα, έχει παρατηρηθεί ένας επιπρόσθετος δρόμος για την απορρόφηση του υπεζωκοτικού υγρού. Πρόκειται για τη συμμεταφορά του με πρωτεΐνες εντός κυστιδίων, με το μηχανισμό της ενδοκυττάρωσης (16,17). Φαίνεται λοιπόν, πως η λεμφική ροή δια των στομάτων δεν είναι ο μοναδικός δρόμος απομάκρυνσης των πρωτεϊνών από την υπεζωκοτική κοιλότητα κι ο ρόλος της στη διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού ίσως να έχει υπερεκτιμηθεί.



## **Διακίνηση υπεζωκοτικού υγρού κάτω από παθοφυσιολογικές συνθήκες**

Η αύξηση του όγκου του υπεζωκοτικού υγρού αποτελεί έναν παράγοντα περιορισμού της συσπώρευσης επιπλέον υγρού, προκαλώντας αλλαγές στη ισορροπία των ενδοϋπεζωκοτικών πιέσεων κι αυξάνοντας τη λεμφαγγειακή απορρόφηση. Έτσι, μετατοπίζεται η ισορροπία ροής του υγρού σε καθαρή απορρόφηση. Η επίδραση των παραπάνω μηχανισμών μπορεί να παρατηρηθεί σε πειραματόζωα με τεχνητά προκαλούμενους υδροθώρακες, όπου επιδράσεις στους μηχανισμούς που εμπλέκονται στη διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού δεν προϋπάρχουν (13). Η αύξηση επομένως του υπεζωκοτικού υγρού προκαλεί: 1) αύξηση της υδροστατικής πίεσης της υπεζωκοτικής κοιλότητας (μειώνοντας τη συνολική διαφορά πίεσης κατά πλάτος του τοιχωματικού πετάλου κι αυξάνοντάς την κατά πλάτος του πνευμονικού υπεζωκότα) και 2) αύξηση της ροής του υγρού διαμέσου των στομάτων των λεμφαγγείων.

## **Υπεζωκοτική συλλογή**

Όταν εμφανίζεται υπεζωκοτική συλλογή, όταν δηλαδή ο ρυθμός εισόδου υπερβαίνει την ενδεχόμενη αύξηση της απομάκρυνσης ή όταν οι μηχανισμοί απορρόφησης επηρεάζονται πρωτογενώς, τότε οι αντισταθμιστικοί μηχανισμοί είναι υποχρεωμένοι να υπερλειουργήσουν. Πιο συγκεκριμένα, η λειτουργία των λεμφαγγείων για την απομάκρυνση του υγρού θα πρέπει να φτάσει στο μέγιστο προκαλώντας κορεσμό του λεμφαγγειακού μηχανισμού. Η υποχώρηση των μεγάλων υπεζωκοτικών συλλογών επιτυγχάνεται μόνο όταν η ισορροπία των πιέσεων, η λεμφική παροχέτευση και τα χαρακτηριστικά της διαπερατότητας επιστρέψουν στο φυσιολογικό. Οι παράγοντες οι οποίοι μπορεί να επιδράσουν στην ισορροπία των δυνάμεων που εμπλέκονται στη διακίνηση υγρού στα πέταλα του υπεζωκότα οδηγώντας σε ανισορροπία μεταξύ των ρυθμών παραγωγής και απορρόφησης του υγρού, είναι πολλοί (13). Οι αιτίες πρόκλησης υπεζωκοτικής συλλογής μπορούν να διαιρεθούν σε τρεις κατηγορίες:

1. αυτές που τροποποιούν την ισορροπία των ενδοϋπεζωκοτικών πιέσεων
2. αυτές που εμποδίζουν τη λεμφική παροχέτευση
3. αυτές που αυξάνουν τη διαπερατότητα του μεσοθηλίου του υπεζωκότα ή του ενδοθηλίου των τριχοειδών

Οι αιτίες που μεταβάλλουν την ισορροπία των δυνάμεων του Starling είναι συνήθως εξωυπεζωκοτικές. Αυτές που μειώνουν τη λεμφική παροχέτευση μπορεί να αφορούν τα υπεζωκοτικά ή τα εξωυπεζωκοτικά λεμφαγγεία, ενώ αυτές που προκαλούν την απώλεια της εκλεκτικότητας της μεμβράνης υποχρεωτικά εμπλέκουν το μεσοθήλιο του υπεζωκότα. Εκτός από την πρώτη περίπτωση, η συγκέντρωση των πρωτεϊνών του υπεζωκοτικού υγρού αυξάνει πάνω από το φυσιολογικό όριο. Αυτό το χαρακτηριστικό οδηγεί στο διαχωρισμό των υπεζωκοτικών συλλογών σε διδρώματα (με φυσιολογική συγκέντρωση πρωτεΐνης υπεζωκοτικού υγρού) κι εξιδρώματα (13).

### **Αίτια υπεζωκοτικών συλλογών**

Η αιτιολογία των υπεζωκοτικών συλλογών είναι διαφορετική (Πίνακας 1) και συνήθως εξαρτάται από τη γεωγραφική περιοχή. Κάποιοι τύποι συλλογών όπως είναι αυτές που οφείλονται σε παθήσεις του κολαγόνου ή σε έκθεση σε αμίαντο, περιγράφονται αποκλειστικά στο δυτικό κόσμο (21).

<b>Διδρώματα</b>	<b>Νοσήματα κολλαγόνου</b>
Καρδιακή ανεπάρκεια	Ρευματοειδής αρθρίτιδα
Νεφρική ανεπάρκεια	ΣΕΛ
Κίρρωση	Σύνδρομο Churg-Strauss
Περιτοναϊκή κάθαρση	Μικτή νόσος του συνδετικού ιστού
Νόσος περικαρδίου	Ανοσοβλαστική λεμφαδενοπάθεια
Νεφρωσικό σύνδρομο	Σύνδρομο Sjogren
Υποθυρεοειδισμός	Κοκκιωμάτωση Wegener
Πνευμονική εμβολή	<b>Μετά από χειρουργικές επεμβάσεις</b>
Υπολευκωματιναιμία	Μετά από αορτοστεφανιαία παράκαμψη
Ουρινοθώρακας	Χειρουργική επέμβαση κοιλίας
Σύνδρομο Meigs	Μεταμόσχευση πνεύμονα
Σαρκοείδωση	Σκληροθεραπεία κιστών οισοφάγου
<b>Εξιδρώματα</b>	<b>Άλλα</b>
<b>Νεοπλάσματα</b>	Πνευμονική εμβολή
Κακοήθες μεσοθηλίωμα	Σύνδρομο Dressler
Μεταστατικό καρκίνωμα	Έκθεση σε αμιάντο
Λέμφωμα	Σαρκοείδωση
<b>Λοιμώδη νοσήματα</b>	Σύνδρομο Meigs
Φυματίωση	Σύνδρομο κίτρινων νυχιών
Βακτηριακές λοιμώξεις	Φάρμακα
Ιογενείς λοιμώξεις	Ουραιμική πλευρίτιδα
Μυκητιασικές λοιμώξεις	Μετακτινική πλευρίτιδα
Παρασιτικές λοιμώξεις	Ηλεκτρικά εγκαύματα
<b>Νοσήματα ΓΣ</b>	Σύνδρομο υπερδιέγερσης ωοθηκών
Ρήξη οισοφάγου	Χυλοθώρακας
Παγκρεατίτιδα	Αιμοθώρακας
Ενδοκοιλιακό απόστημα	Παγιδευμένος πνεύμονας

**Πίνακας 1:** Αίτια υπεζωκοτικών συλλογών.



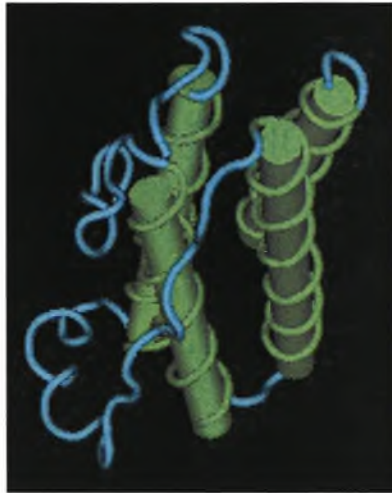
## ΛΕΠΤΙΝΗ ΚΑΙ ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ

### Λεπτίνη

Η λεπτίνη είναι ορμόνη (προϊόν του γονιδίου *ob*: obesity, παχυσαρκία) (22). Ανακαλύφθηκε το 1994 μέσω κλωνοποίησης θέσης σε *ob/ob* (*obese/obese*) ομόζυγα ποντίκια τα οποία ήταν παθολογικά παχύσαρκα κι υπέρφαγα εξαιτίας της απουσίας της λεπτίνης λόγω γονιδιακής μετάλλαξης. Η τρισδιάστατη δομή της, την κατέταξε στην οικογένεια των κιτοκινών (Εικόνα 2). Η λεπτίνη εκφράζεται κυρίως στο λιπώδη ιστό αλλά επίσης και στον στόμαχο, στον πλακούντα και στο μαστικό αδέν. Σχετίζεται με την ποσότητα του αποθηκευμένου λίπους, με μεγαλύτερα ποσοστά της ορμόνης να εντοπίζονται στα παχύσαρκα άτομα.(23). Πιο συγκεκριμένα, η λεπτίνη μειώνει το σωματικό βάρος και την παχυσαρκία ως αγγελιοφόρος του ενεργειακού μεταβολισμού. Η λεπτίνη εκκρίνεται από τα λιπώδη κύτταρα, ελευθερώνεται στην κυκλοφορία του αίματος και εισέρχεται στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα όπου ενεργοποιεί τον υποδοχέα της στον υποθάλαμο. Αυτό, έχει ως αποτέλεσμα τον ομοδιμερισμό του υποδοχέα της και την περαιτέρω μετάδοση του μηνύματος μέσω της ενεργοποίησης των JAK-STAT κινασών και την επακόλουθη μεταγραφή γονιδίων στον πυρήνα. Τα γονίδια που μεταγράφονται αφορούν σε υποθαλαμικά νευροπεπτίδια τα οποία ρυθμίζουν την ενεργειακή ομοιόσταση αυξάνοντας ή μειώνοντας την όρεξη για την πρόσληψη τροφής και συνεπώς την κατανάλωση ενέργειας (Εικόνα 3). Αρχικά, χαρακτηρίστηκε ως ορμόνη-κλειδί για τον έλεγχο του σωματικού βάρους και της παχυσαρκίας, αλλά πλέον θεωρείται πλειοτροπική ορμόνη που επίσης ρυθμίζει τη νευροενδοκρινική λειτουργία, τη γονιμότητα, την ανοσολογική λειτουργία και την αγγειογένεση (24).

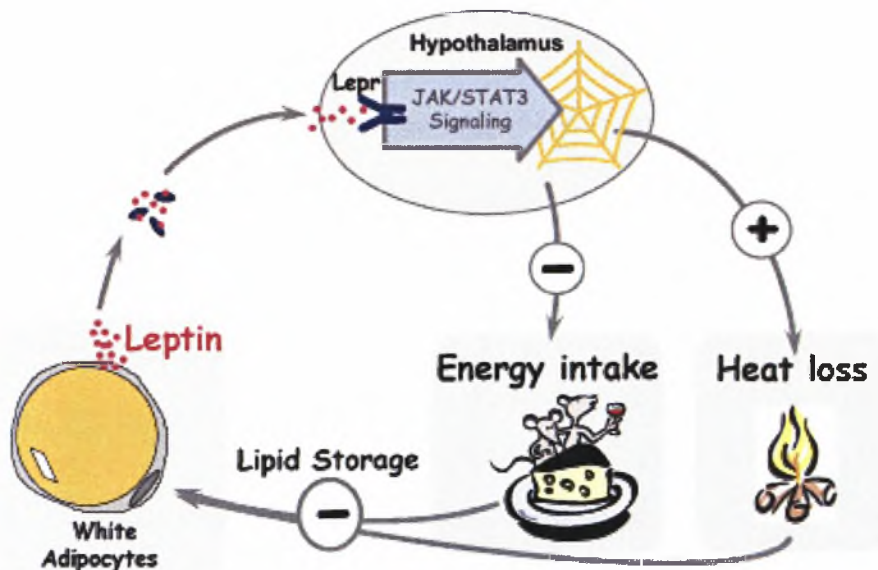
Παρόλο που ο λιπώδης ιστός είναι η κύρια πηγή λεπτίνης, η παραγωγή της παρατηρείται επίσης και σε μία ποικιλία άλλων ιστών όπως στον στόμαχο, στο μαστικό αδέν και στον πλακούντα όπως προαναφέρθηκε, καθώς και στους σκελετικούς μύες, στον εμβρυικό αρθρικό χόνδρο και στην υπόφυση,. Η λεπτίνη μπορεί να βρεθεί στην κυκλοφορία σε ελεύθερη μορφή ή συνδεδεμένη με ειδικές πρωτεΐνες σύνδεσης κι αυτό το χαρακτηριστικό εξαρτάται από το είδος του οργανισμού και τη φυσιολογική του κατάσταση. Στους ανθρώπους, ο χρόνος ημιζωής της λεπτίνης είναι περίπου τα 30 λεπτά, με τα νεφρά να είναι υπεύθυνα για το 80% περίπου της απομάκρυνσής της από την περιφερειακή κυκλοφορία. Επίσης, η έκκριση της λεπτίνης ακολουθεί έναν

ημερήσιο ρυθμό, με ένα κατώτατο σημείο νωρίς το πρωί (08:00-09:00), μία αύξηση κατά τη διάρκεια της ημέρας και μία κορυφή μεταξύ 24:00 και 02:00 h (25).



**Εικόνα 2:** Δομή της λεπτίνης. Αποτελείται από 167 αμινοξέα κι ανήκει στην οικογένεια των κιτοκινών ( [www.jvi.org/news/images/09012004\\_1.jpg](http://www.jvi.org/news/images/09012004_1.jpg) ).

## Leptin and the Lipostatic Theory



**Εικόνα 3:** Διαφαίνεται ο ρόλος της λεπτίνης στη διατήρηση της ενεργειακής ομοιόστασης του οργανισμού ([cgi-host.uni-marburg.de/.../images/leptin.jpg](http://cgi-host.uni-marburg.de/.../images/leptin.jpg)).

## Το γονίδιο της λεπτίνης (Ob gene)

Το γονίδιο της λεπτίνης είναι υψηλά συντηρημένο ανάμεσα στα διάφορα είδη και βρίσκεται στο χρωμόσωμα 7q31.3 στους ανθρώπους και στο χρωμόσωμα 4q32 στα βοοειδή. Η DNA αλληλουχία του έχει περισσότερα από 15.000 ζεύγη βάσεων και περιέχει τρία εξόνια, τα οποία χωρίζονται από δύο ιντρόνια. Η πρωτεΐνη στα ποντίκια παρουσιάζει 83% ομολογία με την ανθρώπινη λεπτίνη κι οι δύο με τη σειρά τους μοιράζονται πολλές δομικές ομοιότητες με άλλα μέλη της οικογένειας των ελικοειδών κυτοκινών, συμπεριλαμβανομένων της ιντερλευκίνης 6 (IL-6) και της αυξητικής ορμόνης (25). Η έκφραση του γονιδίου της λεπτίνης ρυθμίζεται από μία ποικιλία ορμονών, αυξητικών παραγόντων και κυτοκινών. Τα οιστρογόνα επάγουν ενώ τα ανδρογόνα καταστέλλουν την παραγωγή λεπτίνης, παρέχοντας μία εξήγηση για τον σεξουαλικό διμορφισμό στα επίπεδα λεπτίνης στον ορό. Η ινσουλίνη αυξάνει την παραγωγή λεπτίνης κι αυτό ίσως συνεισφέρει στη μείωση των επιπέδων λεπτίνης στο πλάσμα, κάτι που συμβαίνει κατά τη διάρκεια της νηστείας και στην υπερλεπτιναιμία, η οποία συνοδεύει την ινσουλινοαντίσταση. Τα γλυκοκορτικοειδή αυξάνουν την γονιδιακή έκφραση της λεπτίνης ανεξάρτητα από την επίδραση τους στην ινσουλινοαντίσταση, αλλά ίσως επάγουν μία σχετική λεπτινοαντίσταση με το να αναστέλλουν τη δράση της. Κυτοκίνες που παίρνουν μέρος σε φλεγμονές όπως ο παράγοντας νέκρωσης όγκων α (TNF-α) κι η ιντερλευκίνη 1 (IL-1), ίσως άμεσα επάγουν τη γονιδιακή έκφραση της λεπτίνης ως μέρος ενός μηχανισμού ανατροφοδότησης (feedback), τονίζοντας με αυτόν τον τρόπο το ρόλο της λεπτίνης στη ρύθμιση της ανοσολογικής απάντησης, της φλεγμονής και της αγγειογένεσης (26).

## Ο υποδοχέας της λεπτίνης (Ob-R)

Ο υποδοχέας OB-R είναι μία μονομερής διαμεμβρανική ελικοειδής πρωτεΐνη, ομόλογη με μέλη της κλάσης I της οικογένειας των υποδοχέων κυτοκινών (27). Οι ισομορφές του υποδοχέα της λεπτίνης περιέχουν μία ταυτόσημη εξωκυτταρική περιοχή στο αμινοτελικό άκρο αλλά διαφέρουν στο καρβοξυτελικό άκρο. Η ισομορφή OB-Rb περιέχει τη μεγαλύτερη ενδοκυτταρική περιοχή, ενώ οι OB-Ra, OB-Rc, OB-Rd και OB-Rf έχουν μικρές ενδοκυτταρικές περιοχές (28). Η μικρότερη ισομορφή, η OB-Re, στερείται μίας διαμεμβρανικής περιοχής κι ίσως αντιπροσωπεύει μία διαλυτή μορφή του υποδοχέα (27). Δεν παίζει άμεσο ρόλο στη σηματοδότηση της λεπτίνης αλλά είναι

σημαντική προφανώς καθορίζοντας τα ποσοστά της λεπτίνης στην κυκλοφορία (28). Επίσης, ίσως συνεισφέρει στη λεπτινοαντίσταση (25).

Μία ή περισσότερες ισομορφές εκφράζονται στους περισσότερους αν όχι σε όλους τους ιστούς, με την ισομορφή OB-Ra συγκεκριμένα να εμφανίζεται ευρέως. Η ισομορφή OB-Ra φαίνεται να έχει το ρόλο του μεταφορέα της λεπτίνης. Είναι παρούσα σε χαμηλά ποσοστά στον υποθάλαμο, αλλά υψηλά επίπεδά της βρέθηκαν στα τριχοειδή αγγεία του εγκεφάλου και στα χοριοειδή πλέγματα σε αρουραίους. Αυτό το μοντέλο κατανομής της συγκεκριμένης ισομορφής είναι σύμφωνο με την προηγούμενη εισήγηση ότι η ισομορφή OB-Ra εμπλέκεται στη μεταφορά της λεπτίνης διαμέσω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, ενώ η ισομορφή OB-Rb μεσολαβεί στις επιδράσεις της λεπτίνης στην πρόσληψη τροφής, στο σωματικό βάρος και στον μεταβολισμό.

Η ισομορφή OB-Rb παίζει σημαντικό ρόλο στην πρόσληψη τροφής, στη δαπάνη ενέργειας και στην ενδοκρινική λειτουργία. Η ισομορφή OB-Rb εντοπίζεται κυρίως σε συγκεκριμένες περιοχές του εγκεφάλου, αλλά βρίσκεται επίσης και σε πολλούς άλλους ιστούς συμπεριλαμβανομένων των ωοθηκών, των όρχεων, του πλακούντα, της μυελώδης μοίρας των επινεφριδίων, του ήπατος, των β-κυττάρων του παγκρέατος, του πνεύμονα, των νεφρών, της νήστιδας, της καρδιάς, του λιπώδους ιστού και των σκελετικών μυών (28).

## **Βιολογικές επιδράσεις της λεπτίνης**

Η λεπτίνη διαβιβάζει το σήμα της μεταβολικής κατάστασης του οργανισμού από τα κύτταρα του λιπώδους ιστού στον εγκέφαλο. Η μείωση του σωματικού βάρους είναι αποτέλεσμα της πτώσης των επιπέδων λεπτίνης, ενώ η αύξησή του αυξάνει τη συγκέντρωση της λεπτίνης στην κυκλοφορία. Η λεπτίνη εμφανίζεται γενικά ως μία μεταβολική ορμόνη που εμπλέκεται σε πολλές φυσιολογικές διαδικασίες όπως: α) αναστολή της έκκρισης ινσουλίνης από τα κύτταρα του παγκρέατος, β) διέγερση της χρησιμοποίησης γλυκόζης, γ) διέγερση της λιπόλυσης στα λιποκύτταρα, δ) διέγερση της μεταφοράς σακχάρων διαμέσω του λεπτού εντέρου και ε) διεγερτική επίδραση στην αιματοποίηση. Η λεπτίνη δρα ως σήμα στο ανοσολογικό σύστημα κι ως αγγειογενετικός παράγοντας. Εμπλέκεται επίσης στην ανάπτυξη του εγκεφάλου (28).

## Λεπτίνη και φλεγμονή

Η φλεγμονή είναι μία τοπική, προστατευτική απάντηση στο τραύμα ή στη μικροβιακή εισβολή, που φυσιολογικά καταστρέφει και εξασθενίζει τον βλαπτικό παράγοντα και τον προσβεβλημένο ιστό. Χαρακτηρίζεται στην οξεία της μορφή από πόνο, πυρετό, ερυθρότητα, οίδημα κι απώλεια λειτουργίας συμπεριλαμβανομένων και της αγγειοδιαστολής, της αυξημένης διαπερατότητας, της έκκρισης υγρών και της μετανάστευσης λευκοκυττάρων στον τόπο της φλεγμονής. Παρόλου που οι ακριβείς μηχανισμοί δεν είναι γνωστοί, αυτές οι επιπτώσεις μεσολαβούνται από παράγοντες όπως οι κιτοκίνες, οι προσταγλανδίνες κ.α.

Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι η λεπτίνη ενδεχομένως να εμπλέκεται στις διαδικασίες της φλεγμονής. Πολλές κιτοκίνες, κυρίως ο παράγοντας νέκρωσης όγκου (TNF), η ιντερλευκίνη 1 (IL-1) καθώς κι ο λιποπολυσακχαρίτης (LPS) επάγουν ανορεξία και μείωση βάρους, που αποτελούν κοινές εκδηλώσεις οξείας και χρόνιας φλεγμονής. Αυτά τα αποτελέσματα φαίνεται να σχετίζονται με άμεση αύξηση στα επίπεδα λεπτίνης στον ορό κι αύξηση στην έκφραση του mRNA στο λιπώδη ιστό. Αυτά τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η επαγωγή της λεπτίνης κατά τη διάρκεια της φλεγμονής ρυθμίζεται με τρόπο παρόμοιο με αυτόν της απάντησης των κιτοκινών στη μόλυνση και στη βλάβη. Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι η *in vivo* χορήγηση φλεγμονωδών κιτοκινών, όπως η IL-1, η IL-6 ή ο TNF- $\alpha$ , αυξάνουν την έκφραση της λεπτίνης. Ο μηχανισμός της επαγωγής της έκκρισης λεπτίνης στην οξεία φλεγμονή παραμένει ασαφής. Πολλοί συγγραφείς έχουν συσχετίσει την αύξηση της λεπτίνης με την άμεση επέμβαση στα λιπώδη κύτταρα των φλεγμονωδών κιτοκινών, όπως η IL-1, η IL-6 ή ο TNF- $\alpha$ , οι οποίες αυξάνονται ταχέως στους κατεστραμμένους ιστούς. Εναλλακτικά, είναι πιθανό τα επίπεδα λεπτίνης να αυξάνονται λόγω δευτερογενών επιδράσεων διάφορων μεσολαβητών. Για παράδειγμα, οι προσταγλανδίνες όπως κι οι τοπικά παραγόμενες κιτοκίνες ίσως προκαλούν αύξηση στα ελεύθερα γλυκοκορτικοειδή, τα οποία άμεσα διεγείρουν την έκφραση του *ob* γονιδίου. Πρόσφατα, μία σειρά δεδομένων έδειξε μία συσχέτιση μεταξύ της λεπτίνης και συγκεκριμένων κακοηθών νεοπλασμάτων. Η λεπτίνη αναφέρθηκε ότι ασκεί διεγερτική επίδραση σε καλλιέργειες κακοηθών κυττάρων κι αναστέλλει την απόπτωση (32). Βέβαια, θα χρειαστούν μελλοντικές μελέτες ώστε να εξακριβωθεί η μοριακή βάση που συνδέει τη δράση της λεπτίνης με τη διαδικασία της φλεγμονής (36).



## **Υπεζωκοτικές συλλογές και λεπτίνη**

Οι υπεζωκοτικές συλλογές αποτελούν σημαντικό ιατρικό πρόβλημα και μπορούν να προκληθούν από διάφορους μηχανισμούς. Στο έργο του κλινικού ιατρού για τη διάγνωση των υπεζωκοτικών συλλογών, ουσιαστική είναι η γνώση της φυσιολογίας και της παθοφυσιολογίας της διακίνησης του υπεζωκοτικού υγρού. Η βιβλιογραφία που καλύπτει το θέμα της παθοφυσιολογίας των υπεζωκοτικών συλλογών είναι σημαντική, όμως η παθοφυσιολογία πολλών από αυτές δεν είναι πλήρως γνωστή. Πρόσφατες μελέτες δείχνουν πιθανή δράση της λεπτίνης στην υπεζωκοτική συλλογή που υπάρχει στο σύνδρομο Meigs' και στο σύνδρομο υπερδιέγερσης ωοθηκών (OHSS). Φαίνεται να εμπλέκεται η δράση της λεπτίνης στο μοριακό μηχανισμό τους. Επίσης, ενδεχομένως η δράση της λεπτίνης να εμπλέκεται στην παθογένεια κακοήθων υπεζωκοτικών συλλογών αλλά και συλλογών στις οποίες η φλεγμονή είναι βασικό χαρακτηριστικό της αιτίας πρόκλησης.

## **Λεπτίνη και σύνδρομο υπερδιέγερσης ωοθηκών (OHSS)**

Το σύνδρομο υπερδιέγερσης ωοθηκών (Ovarian Hyperstimulation Syndrome - OHSS) αποτελεί ένα σοβαρό, δυνητικά θανατηφόρο σύνδρομο που εμφανίζεται σε ασθενείς που υποβάλλονται σε πρωτόκολλα ελεγχόμενης διέγερσης των ωοθηκών με σκοπό την αναπαραγωγή. Παρότι η παθολογική φυσιολογία του OHSS δεν έχει διευκρινισθεί πλήρως, έχει αρχίσει να διαφαίνεται ο ρόλος του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF) (29). Το σύνδρομο υπερδιέγερσης ωοθηκών εκδηλώνεται σε ήπια μορφή στο 20-25% περίπου των γυναικών που υποβάλλονται σε εξωσωματική γονιμοποίηση, μερικές ημέρες μετά την εμβρυομεταφορά. Αυτή η μορφή δεν είναι επικίνδυνη (μικρό οίδημα της κοιλιάς, περιορισμένος πόνος στις ωοθήκες που οφείλεται στην διόγκωσή τους λόγω των φαρμάκων) υποχωρεί γρήγορα, χωρίς ειδική αγωγή και χωρίς να επηρεάζει σημαντικά την έκβαση της προσπάθειας. Η μέτρια μορφή του συνδρόμου είναι επίσης σχετικώς ακίνδυνη, αλλά μπορεί να επιδεινωθεί εάν επέλθει κύηση. Η βαριά μορφή του συνδρόμου έχει συμπτώματα όπως μεγάλη διόγκωση των ωοθηκών που προκαλεί ισχυρό πόνο, εκτεταμένες γαστρεντερικές διαταραχές (ναυτία, έμετοι, διάρροια) κι ενδεχομένως, δημιουργία ασκίτη κι υπεζωκοτικής συλλογής. Αυτή η μορφή είναι πολύ επικίνδυνη και μπορεί να απαιτήσει επείγουσα νοσοκομειακή αντιμετώπιση, μέχρι και σε Μονάδα Εντατικής Θεραπείας (30).

Στο σύνδρομο OHSS παρατηρείται οξεία αλλαγή στην τριχοειδική αγγειακή διαπερατότητα που προκαλεί διαρροή αλβουμίνης/λεπτίνης σε τρίτο χώρο κι οδηγεί σε υποαλβουμιναιμία. Το OHSS ακολουθείται από μία σημαντική αύξηση στεροειδών, ειδικά των οιστρογόνων. Μετά τη μεταφορά του εμβρύου παρατηρείται πτώση στη συγκέντρωση λεπτίνης του ορού, με μεγαλύτερη πτώση στις γυναίκες που αποτυγχάνουν να καταστούν έγκυες. Το OHSS συνεπάγεται αύξηση στεροειδών και κυτοκινών (IL-1, IL-6) και μπορεί να διαγνωστεί μέσω μαζικού ασκίτη, ολιγουρίας, μεγενθυμένων ωοθηκών, αιματοκρίτη >45% κι υποπρωτεϊναιμίας <6g/dL. Στο OHSS έχουμε ελαττωμένα επίπεδα λεπτίνης λόγω της διαρροής της σε τρίτους χώρους. Πρόσφατες έρευνες εμπλέκουν τον παράγοντα VEGF στην παθοφυσιολογία του συνδρόμου, ο οποίος αυξάνει την αγγειακή διαπερατότητα μέσω ενός NO-εξαρτώμενου μηχανισμού προκαλώντας έκλυση υγρού (29). Τέλος, η εξωγενής χωρήγηση της θηλακιοτρόπου ορμόνης (FSH), αυξάνει την ικανότητα δέσμευσης στους υποδοχείς λεπτίνης κι αυξάνει τα επίπεδά της κατά τη διάρκεια του OHSS (31).

### **Λεπτίνη και σύνδρομο Meigs'**

Το σύνδρομο Meigs' αποτελεί ένα ασυνήθιστο σύνδρομο καλοήθων ωοθηκικών όγκων (ίνωμα-thecoma) που χαρακτηρίζεται από μαζικό ασκίτη κι υπεζωκοτική συλλογή. Η κλινική εκδήλωση αυτού του συνδρόμου συχνά μιμείται κακοήθες ωοθηκικό νεόπλασμα. Τόσο ο ασκίτης όσο κι ο υδροθώρακας υποχωρούν μετά από χειρουργική αφαίρεση του όγκου. Ωστόσο, η παθοφυσιολογία του συνδρόμου Meigs' δεν έχει ακόμη διερευνηθεί πλήρως. Στο σύνδρομο Meigs' παρατηρούνται χαμηλά επίπεδα λεπτίνης, τα οποία προσδίδουν ένα εχθρικό περιβάλλον για αναπαραγωγή. Υποθέεται ότι καποιος μεσολαβητής που απελευθερώνεται από την προσβεβλημένη ωοθήκη ρυθμίζει αρνητικά την παραγωγή λεπτίνης. Μετά την αφαίρεση του όγκου τα επίπεδα επανέρχονται κι αυτό ίσως οφείλεται στη φλεγμονώδη διαδικασία που ακολουθεί. Τέλος, η λεπτίνη αποτελεί παράγοντα «κλειδί» που συνδέει το ανοσολογικό σύστημα με την ενεργειακή ισορροπία κι επάγει τη σύνθεση κυτοκινών. Αυτές οι κυτοκίνες είναι ικανές στο να επάγουν την αγγειακή διαπερατότητα με αποτέλεσμα τη συσσώρευση υγρού στην υπεζωκοτική και την περιτοναϊκή κοιλότητα. Με αυτόν τον τρόπο, η λεπτίνη κι οι κυτοκίνες ίσως σχετίζονται με το σχηματισμό του ασκίτη και της υπεζωκοτικής συλλογής στο σύνδρομο Meigs' (32). Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι ίσως ο αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας VEGF να εμπλέκεται και στην

παθοφυσιολογία αυτού του συνδρόμου αυξάνοντας την αγγειακή διαπερατότητα και προκαλώντας έκλυση υγρού (33). Όμως και σε αυτό το σύνδρομο ο μοριακός μηχανισμός της παθοφυσιολογίας του δεν έχει εξακριβωθεί πλήρως.



## II. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### Συλλογή και προετοιμασία ιστού

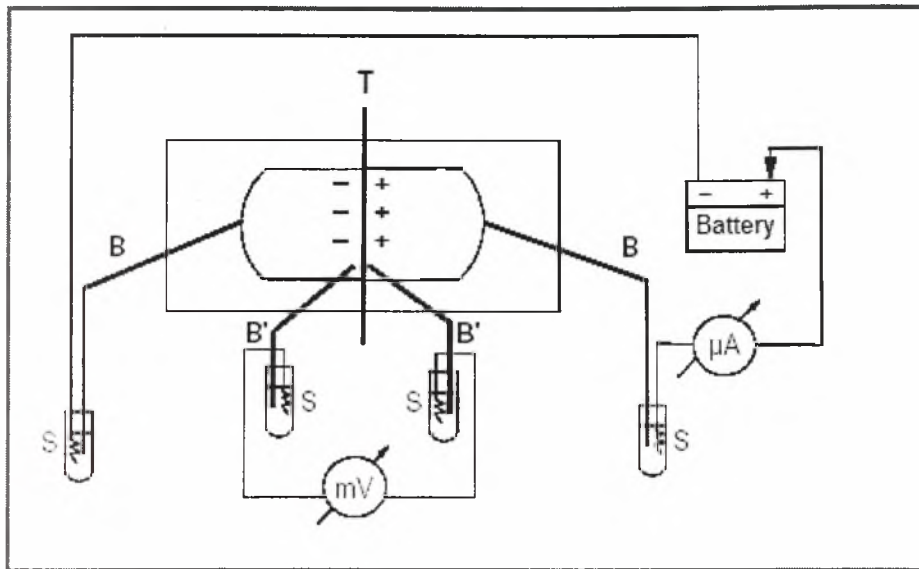
Για τη μελέτη της επίδρασης λεπτίνης στη διαπερατότητα των δύο πετάλων του υπεζωκότα προβάτου, χρησιμοποιήθηκαν τμήματα τοιχωματικού και πνευμονικού υπεζωκότα από πρόβατα. Ο υπεζωκότας προβάτου επιλέχθηκε γιατί η ανατομία του μοιάζει με αυτή του ανθρώπου (1-3). Η συλλογή των δειγμάτων έγινε στο σφαγείο αμέσως μετά τη θανάτωση των ζώων. Τα τμήματα του ιστού μετά την απομόνωσή τους τοποθετήθηκαν σε θρεπτικό υλικό Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) στους 4°C και μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο εντός 30 min από το θάνατο των ζώων. Δόθηκε προσοχή ώστε η επιφάνεια των ιστικών τεμαχίων να υποστεί όσο το δυνατόν λιγότερη καταπόνηση. Τα τμήματα του υπεζωκότα μετά την αφαίρεση του υποκείμενου ιστού διατηρήθηκαν σε διάλυμα Krebs-Ringer, με σύσταση σε mM: 117,5 NaCl, 1,15 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 24,99 NaHCO<sub>3</sub>, 5,65 KCl, 1,18 MgSO<sub>4</sub>, 2,52 CaCl<sub>2</sub>, και 5,55 γλυκόζη. Στο διάλυμα διοχετευόταν συνεχώς αέριο σύνθεσης 95% O<sub>2</sub> και 5% CO<sub>2</sub>.

Τα ιστικά τμήματα του πνευμονικού υπεζωκότα αποκολλήθηκαν προσεκτικά από τον υποκείμενο ιστό με τη βοήθεια λαβίδας κι εξετάστηκαν προσεκτικά για την ύπαρξη οπών ή εναπομείναντος προσκολλημένου πνευμονικού ιστού. Η λήψη των ιστικών τεμαχίων έγινε από τους άνω, μέσω και κάτω λοβούς των πνευμόνων. Τα ιστικά τεμάχια του τοιχωματικού υπεζωκότα πάρθηκαν από το θώρακα κι η απομόνωσή τους έγινε άμεσα από τα ζώα στα σφαγεία.

### Μελέτη διαπερατότητας βιολογικών μεμβρανών – Μέθοδος ussing system

Η μελέτη διαβατότητας των πετάλων του υπεζωκότα έγινε με τη μέθοδο ussing system. Η μέθοδος ussing system αποτελεί μία κλασσική μέθοδο μελέτης της διαπερατότητας των βιολογικών μεμβρανών (37). Η συσκευή ussing πήρε το όνομά της από το Δανό φυσιολόγο Hans Ussing ο οποίος πρώτος διαπίστωσε την ύπαρξη ενεργητικής μεταφοράς ιόντων σε δέρμα βατράχου (38). Η αρχή λειτουργίας της συσκευής φαίνεται στο σχήμα 1. Ο ιστός (T) είναι τοποθετημένος σαν επίπεδο στρώμα σε μία αντλία και εκατέρωθεν αυτού υπάρχει διάλυμα Krebs-Ringer. Η διαφορά δυναμικού κατά πλάτος του ιστού μετράται από ένα ζεύγος ηλεκτροδίων (B', B') που το καθένα απέχει 3mm από την επιφάνεια του ιστού. Το δυναμικό καταγράφεται σε ένα

βολτόμετρο (mV). Με τη βοήθεια μιας μπαταρίας (battery) κι ενός διαιρέτη τάσης ( $\mu\text{A}$ ) ρεύμα μπορεί να διαπεράσει τον ιστό διαμέσου ενός δεύτερου ζεύγους ηλεκτροδίων (B, B) που βρίσκονται σε απόσταση 3 cm από την επιφάνεια του ιστού.



**Σχήμα 1:** Διάγραμμα της συσκευής Ussing System. B: Γέφυρες άγαρ που περιέχουν τα ηλεκτρόδια αργύρου / χλωριούχου αργύρου (S) για την χορήγηση ρεύματος. B': Γέφυρες άγαρ που περιέχουν τα ηλεκτρόδια αργύρου / χλωριούχου αργύρου (S) για την καταγραφή της διαφοράς δυναμικού. mV: μιλιβολτόμετρο.  $\mu\text{A}$ : μικροαμπερόμετρο. Battery: Μπαταρία. T: Ιστός. (Stefanidis I, et al. *Artif Organs* 2005; 29: 919-922.)

Το Ussing System στην βασική του μορφή αποτελείται από δύο λειτουργικά μέρη: τον θάλαμο και το ηλεκτρικό κύκλωμα που προσαρμόζεται επάνω του. Με την πάροδο του χρόνου έχουν αναπτυχθεί πολλές παραλλαγές της συσκευής ώστε να είναι δυνατή η μέτρηση της διαφοράς δυναμικού, της έντασης του ρεύματος και της αντίστασης του δείγματος. Η συσκευή ussing είναι σήμερα ευρέως διαδεδομένη για το ακριβές σύστημα μελέτης ζωντανών επιθηλίων. Μεταβολές στην ηλεκτρική αντίσταση ενός ιστού αντικατοπτρίζουν αλλαγές στην κίνηση των ιόντων, στη διαπερατότητα κι αγωγιμότητα του υπο μελέτη ιστού, χαρακτηριστικά τα οποία επίσης εξαρτώνται από τη μοριακή συνοχή (47-50).

Για να μετρηθεί η τιμή της συνολικής αντίστασης της μεμβράνης μέσω της συσκευής ussing, θα πρέπει να εφαρμοστεί τάση κατά μήκος της μεμβράνης, με

αποτέλεσμα τη ροή ρεύματος σε αυτή. Καθώς δημιουργείται το ηλεκτρικό πεδίο, οι ηλεκτρολύτες και τα διάφορα ιοντικά στοιχεία των μεμβρανικών κυττάρων συμμετέχουν στην παραγωγή του ρεύματος που διατρέχει τη μεμβράνη καθώς και στην εμφάνιση της αντίστασης στη ροή του ρεύματος κατά τη φορά που καθορίζει το εφαρμοζόμενο δυναμικό. Η τεχνική αυτή ονομάζεται Σύνδεση Δυναμικού (Voltage Clamp) (39). Η τεχνική αυτή όμως έχει ένα μειονέκτημα: παρατηρείται μετακίνηση διαλυμένων ηλεκτρολυτών στο κυτταρόπλασμα και το φαινόμενο αυτό μπορεί να δώσει εσφαλμένα αποτελέσματα καθώς δεν ανταποκρίνεται στην φυσιολογική κατάσταση που επικρατεί στο κύτταρο, υπό κανονικές συνθήκες. Επίσης, η ένταση του ρεύματος που διαπερνά τη μεμβράνη μπορεί να έχει σαν αποτέλεσμα την καταστροφή της κυτταρικής συνοχής ή απλά την βλάβη στις πρωτεΐνες που είναι πιο ευαίσθητες στις μεταβολές της κυτταρικής ιοντικής ισορροπίας, με αποτέλεσμα οι μετρήσεις που προκύπτουν να μην αντιστοιχούν σε αυτές ενός ζωντανού επιθηλιακού κυττάρου in vivo (39).

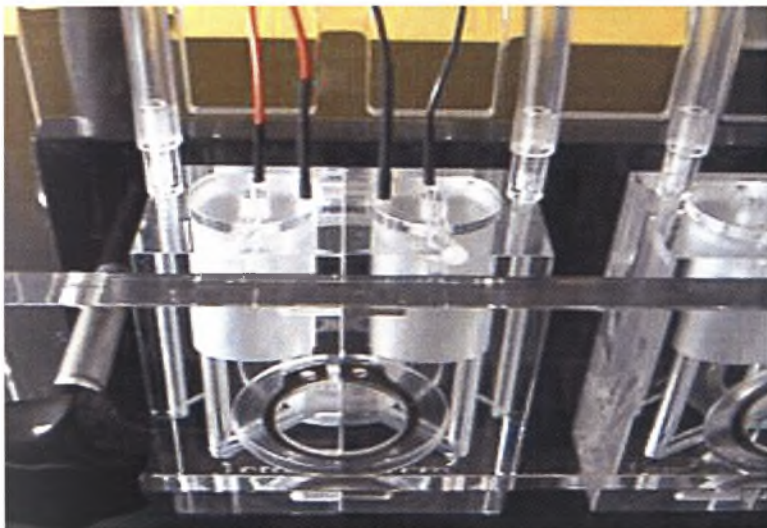
Προκειμένου να αντιμετωπιστεί το πρόβλημα αυτό, προτάθηκε και χρησιμοποιείται η μέτρηση με Σύνδεση Ρεύματος (Current Clamp). Αντίθετα με την τεχνική του Voltage Clamp, τον ιστό διαπερνούν παλμοί συνεχούς ηλεκτρικού ρεύματος μικρής διάρκειας και καθορισμένης έντασης. Παρόλο που αρχικά δεν φαίνεται να υπάρχει σημαντική διαφορά στις δύο μεθόδους, με την τεχνική αυτή αποφεύγεται το φαινόμενο της ιοντικής ενδοκυττάριας μετανάστευσης. Επίσης, σημαντική είναι και η διαφορά στον τρόπο μέτρησης. Με τη σύνδεση τάσης, η μέτρηση γίνεται με τη βοήθεια ενός βολτομέτρου μεγάλης εμπέδισης που μετρά τις αλλαγές στην εφαρμοζόμενη τάση. Αντίθετα στη σύνδεση ρεύματος η γεννήτρια ηλεκτρικών παλμών είναι συνδεδεμένη με αμπερόμετρο που μεταφράζει την μεταβαλλόμενη ένταση του ηλεκτρικού ρεύματος σε διαφορά δυναμικού (39).

## **Πειραματική διαδικασία**

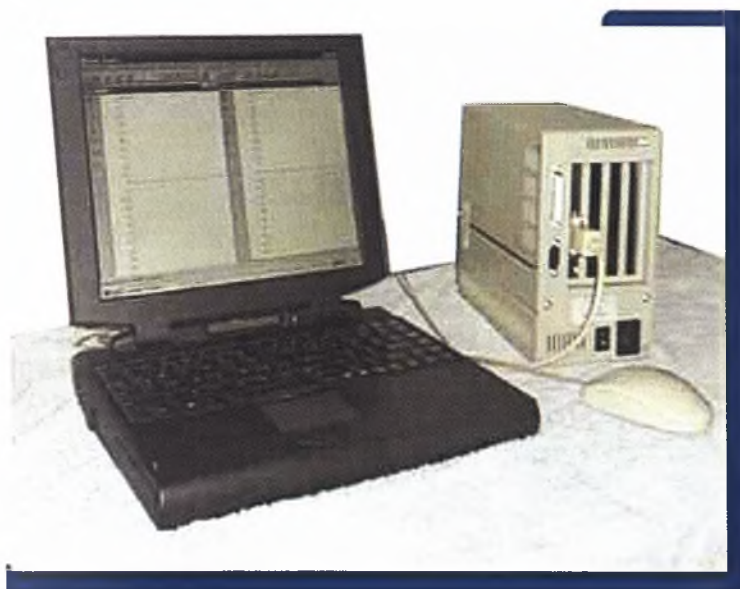
Ο υπεζωκότας τοποθετήθηκε ως επίπεδο στρώμα μεταξύ δύο ακρυλικών ημιθαλάμων τύπου Ussing, (Dipl.-Ing. K. Mussler Scientific Instruments, Aachen, Germany) οι οποίοι περιείχαν διάλυμα Krebs-Ringer (Εικόνα 4). Σε κάθε ημιθάλαμο πραγματοποιούταν η προσθήκη 4ml διαλύματος, έτσι ώστε να εξασφαλίζεται η άσκηση ίδιας υδροστατικής πίεσης και από τις δύο πλευρές της μεμβράνης. Παράλληλα, η διοχέτευση αερίου σύστασης 95% O<sub>2</sub> – 5% CO<sub>2</sub> σε κάθε ημιθάλαμο ήταν συνεχής. Η

επιφάνεια του ιστού, η οποία εκτίθεντο στο διάλυμα ήταν  $1\text{cm}^2$ . Επίσης, οι μετρήσεις της διαμεσοθηλιακής αντίστασης πραγματοποιήθηκαν σε θερμοκρασία  $37^\circ\text{C}$ .

Η διαμεσοθηλιακή αντίσταση ( $R_{\text{TM}}$  Transmesothelial Resistance) του υπεζωκότα η οποία εκφράζεται σε  $\Omega\cdot\text{cm}^2$  μετρήθηκε με ένα ζεύγος ηλεκτροδίων Ag/AgCl σε συνθήκες ανοιχτού κυκλώματος, όπου νέα τιμή της  $R_{\text{TM}}$  δινόταν κάθε ένα λεπτό. Παράλληλα, διεξάγονταν μέχρι κι έξι πειράματα στους θαλάμους και η καταγραφή γινόταν μέσω λογισμικού (Clamp version 2.14 software: AC Micro-Clamp, Aachen, Germany) σε ηλεκτρονικό υπολογιστή (Εικόνα 5). Μετά την τοποθέτηση των ιστικών τεμαχίων, ακολουθούσε μία περίοδος 30-40 λεπτών, ώστε να επέλθει η ισορροπία του ιστού. Πριν την τοποθέτηση του ιστού είχε υπολογιστεί από το σύστημα η αντίσταση του υγρού η οποία αφαιρούταν κατά τη μέτρηση της  $R_{\text{TM}}$  του ιστού.



**Εικόνα 4:** Αντλία τύπου Ussing που χρησιμοποιήθηκε κατά την πειραματική διαδικασία



**Εικόνα 5:** Καταγραφή μέσω λογισμικού (Clamp version 2.14 software: AC Micro-Clamp, Aachen, Germany) σε ηλεκτρονικό υπολογιστή

Για τη μέτρηση της  $R_{TM}$  σε συνθήκες σύνδεσης ρεύματος χορηγήθηκε συνεχές ρεύμα έντασης  $50\mu A$  και διάρκειας  $200ms$  ανά έξι δευτερόλεπτα από μία συσκευή Voltage/Current Clamp (Dipl.-Ing. K. Mussler Scientific Instruments, Aachen, Germany), με τη βοήθεια ζεύγους ηλεκτροδίων  $Ag/AgCl$  που βρίσκονταν τοποθετημένα σε απόσταση  $3\text{ cm}$ , εκατέρωθεν της μεμβράνης. Οι μετρήσεις που αφορούσαν στην  $R_{TM}$  μετά την προσθήκη λεπτίνης πραγματοποιούνταν σε συνθήκες σύνδεσης ρεύματος. Το πειραματικό διάλυμα που ερχόταν σε επαφή με την επιφάνεια του υπεζωκότα που *in vivo* είναι εκτεθειμένη στο υπεζωκοτικό υγρό, θα αναφέρεται από το παρόν σημείο ως ορώδες διάλυμα. Το διάλυμα που ερχόταν σε επαφή με την επιφάνεια του υπεζωκότα που *in vivo* είναι εκτεθειμένη στο διάμεσο ιστό, θα αναφέρεται ως διάμεσο διάλυμα. Έτσι, οι μεσοθηλιακές επιφάνειες του υπεζωκότα ορίζονται ως κορυφαία και βασική αντίστοιχα. Τα πειράματα που διεξήχθησαν ήταν 52 για τον τοιχωματικό και 68 για τον περισπλάχνιο υπεζωκότα. Οι μετρήσεις άρχισαν 30-40 λεπτά μετά την τοποθέτηση των ιστικών μεμβρανών κι είχαν διάρκεια από 20 έως 30 λεπτά. Τα διαλύματα λεπτίνης τα οποία μελετήθηκαν ήταν τριών συγκεντρώσεων: του  $1ng/ml$ , των  $50\text{ ng/ml}$  και των  $100\text{ ng/ml}$ .

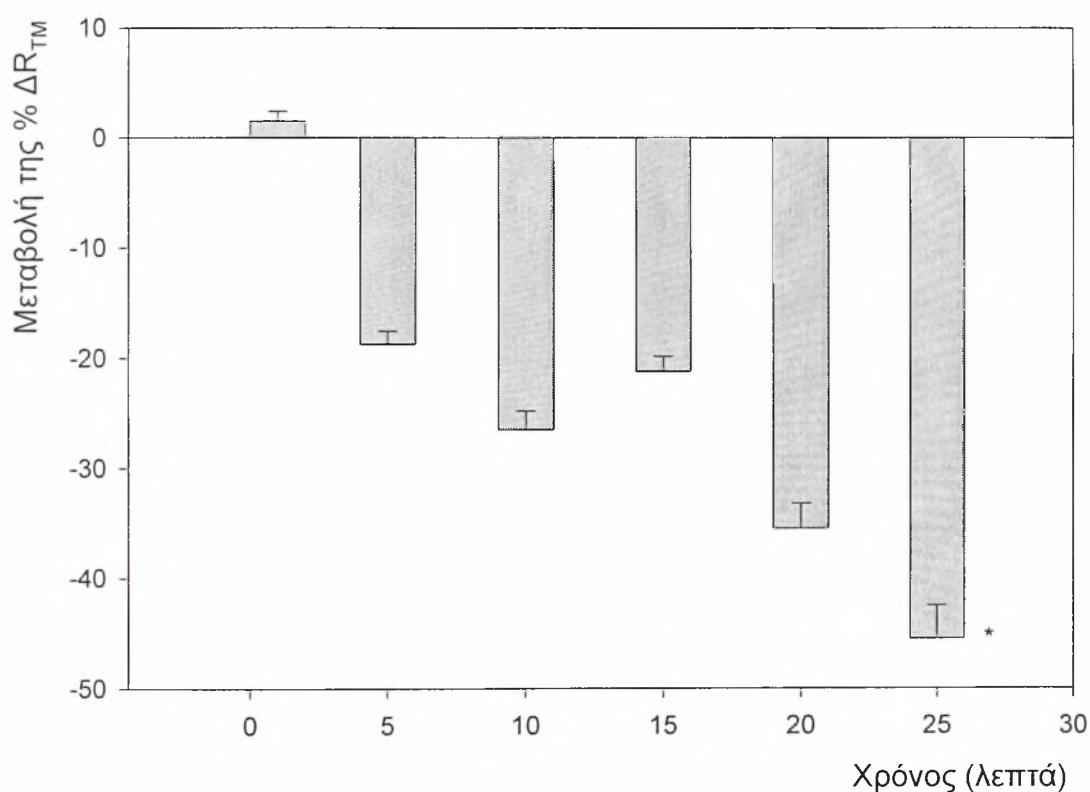


Αρχικά, έγινε η προσθήκη διαλύματος λεπτίνης 1 ng/ml στην κορυφαία και βασική επιφάνεια του τοιχωματικού (n=7, n=8) και πνευμονικού (n=10, n=12) υπεζωκότα αντίστοιχα. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε η προσθήκη διαλύματος λεπτίνης 50 ng/ml στην κορυφαία και βασική επιφάνεια του τοιχωματικού (n=10, n=9) και πνευμονικού (n=11, n=13) υπεζωκότα αντίστοιχα. Τέλος, πραγματοποιήθηκε κι η προσθήκη διαλύματος λεπτίνης 100 ng/ml στην κορυφαία και βασική επιφάνεια του τοιχωματικού (n=8, n=10) και πνευμονικού (n=12, n=10) υπεζωκότα αντίστοιχα. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πακέτο SPSS για Windows. Όλες οι τιμές των αποτελεσμάτων εκφράστηκαν ως μέσοι όροι  $\pm$  τυπικό σφάλμα (Τ.Σ.). Η στατιστική σύγκριση των αποτελεσμάτων έγινε με ANOVA και paired t-test κι οι τιμές που ανταποκρίθηκαν σε  $P < 0,05$  έγιναν αποδεκτές ως στατιστικά σημαντικές. Τέλος, τα διαγράμματα έγιναν με τα στατιστικά πακέτα Sigma Plot 2001 και Graph Prism 4.0.

### III. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

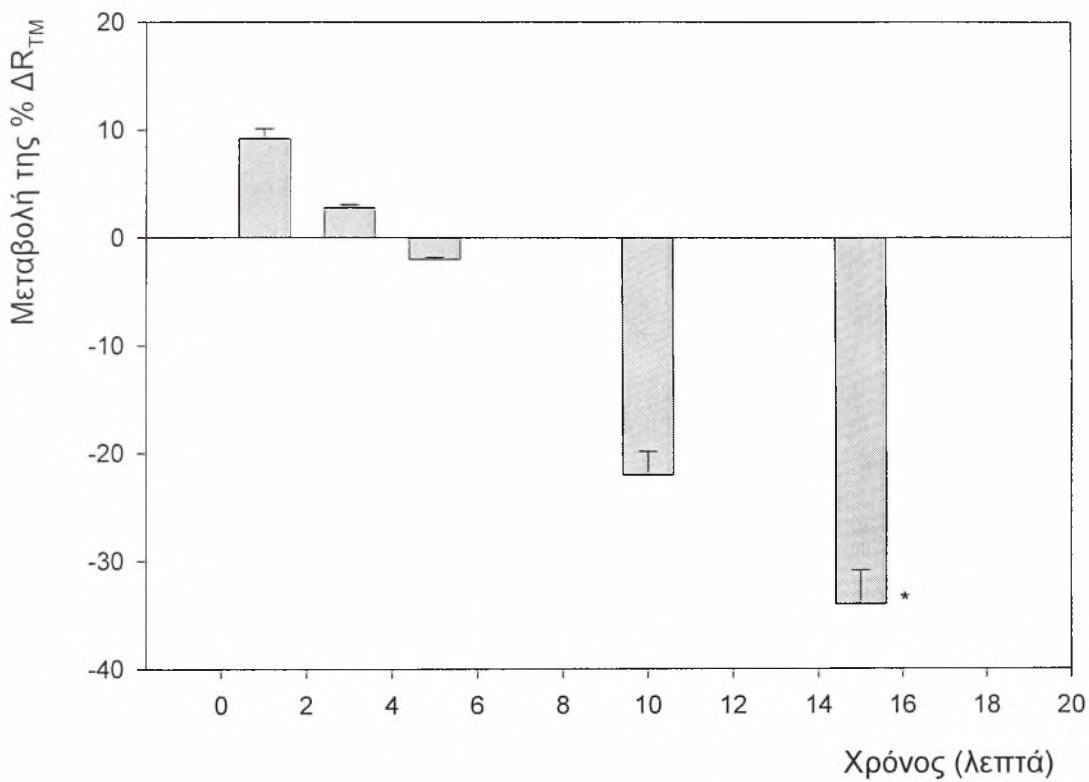
#### Τοιχωματικός Υπεζωκότας

Στον τοιχωματικό υπεζωκότα, η διαμεσοθηλιακή αντίσταση  $R_{TM}$  μειώνεται σταδιακά μετά την προσθήκη λεπτίνης 1ng/ml στη βασική επιφάνειά του (Σχήμα 2). Αυτή η πτώση στην τιμή της αντίστασης εμφανίζεται από το τρίτο λεπτό και συνεχίζεται μέχρι το τέλος του πειράματος, όπου στο 25ο λεπτό παρατηρείται η μεγαλύτερη πτώση με 46,1% σε σχέση με τον ιστό αναφοράς (control).



**Σχήμα 2:** Επίδραση λεπτίνης (1ng/ml) προστιθέμενης στη βασική επιφάνεια του τοιχωματικού υπεζωκότα προβάτου, στη διαμεσοθηλιακή αντίσταση. Οι τιμές είναι μέσοι όροι  $\pm$  Τ.Σ. \* $P < 0,05$ .

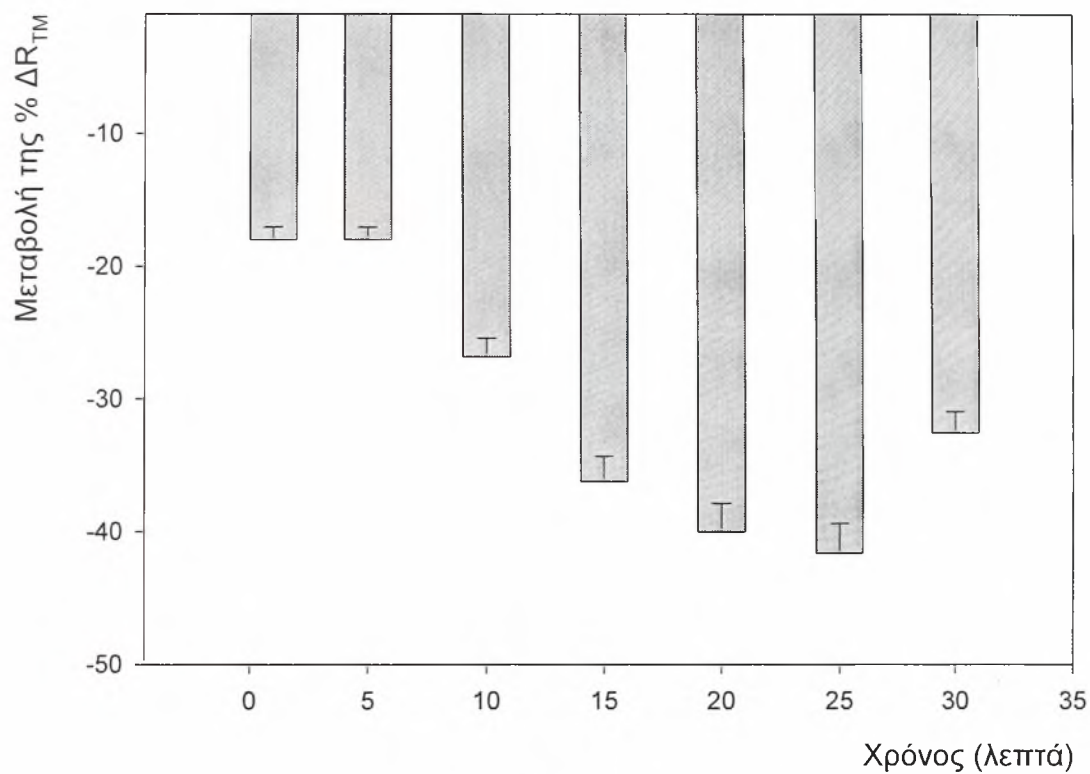
Στο σχήμα 3 φαίνεται η σταδιακή μείωση της  $R_{TM}$  μετά την προσθήκη λεπτίνης 1ng/ml στη κορυφαία επιφάνεια κι αυτή η πτώση στην τιμή της αντίστασης ξεκινά στο 5ο λεπτό και συνεχίζεται μέχρι το τέλος του πειράματος όπου παρατηρείται η μεγαλύτερη πτώση στην τιμή της αντίστασης με 34%.



**Σχήμα 3:** Επίδραση λεπτίνης (1ng/ml) προστιθέμενης στη κορυφαία επιφάνεια του τοιχωματικού υπεζωκότα προβάτου, στη διαμεσοθηλιακή αντίσταση. Οι τιμές είναι μέσοι όροι  $\pm$  Τ.Σ. \* $P < 0,05$ .

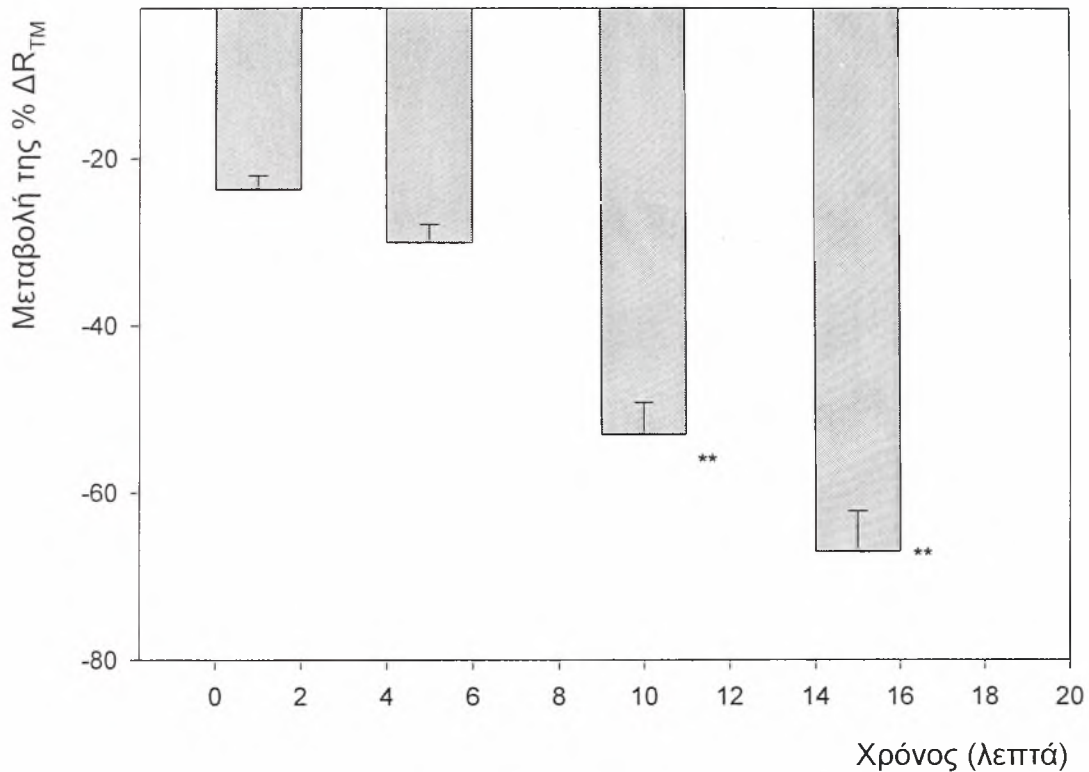


Μετά την προσθήκη λεπτίνης 50ng/ml στη βασική επιφάνεια παρατηρείται σταδιακή πτώση της διαμεσοθηλιακής αντίστασης, η οποία συνεχίζεται μέχρι το 30ό λεπτό (Σχήμα 4). Η μεγαλύτερη πτώση στην τιμή της αντίστασης παρατηρείται στο 25ο λεπτό με 41,6%.



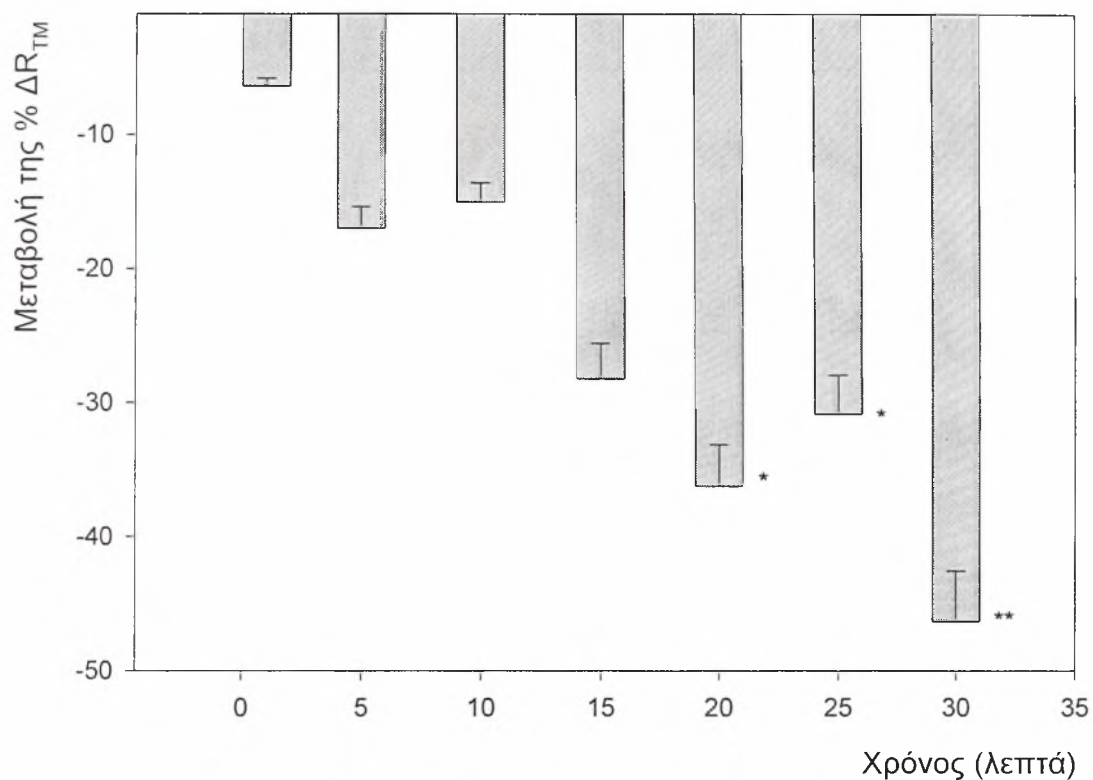
**Σχήμα 4:** Επίδραση λεπτίνης (50ng/ml) προστιθέμενης στη βασική επιφάνεια του τοιχωματικού υπεζωκότα προβάτου, στη διαμεσοθηλιακή αντίσταση. Οι τιμές είναι μέσοι όροι  $\pm$  Τ.Σ.

Ομοίως, μετά την προσθήκη λεπτίνης 50ng/ml στην κορυφαία επιφάνεια, παρατηρείται σταδιακή πτώση της τιμής της διαμεσοθηλιακής αντίστασης, η οποία ξεκινά από το 1ο λεπτό και διαρκεί μέχρι το τέλος του πειράματος (Σχήμα 5). Η μεγαλύτερη πτώση παρατηρείται στο 15ο λεπτό με 67,2%.



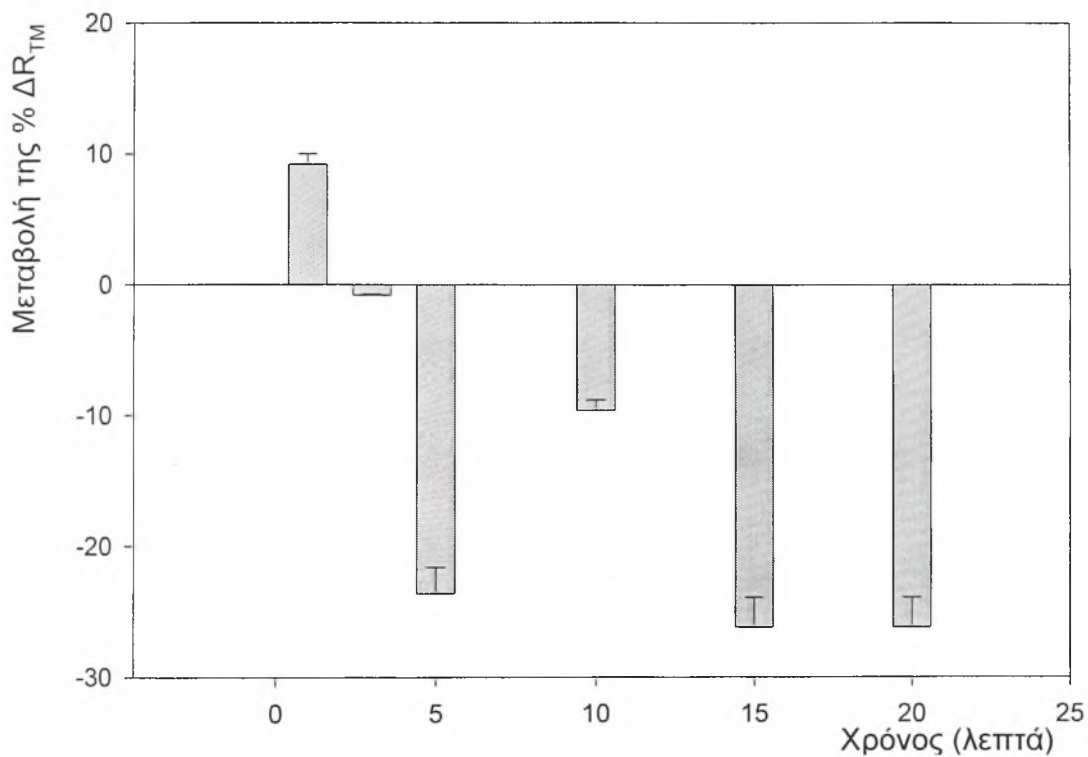
**Σχήμα 5:** Επίδραση λεπτίνης (50ng/ml) προστιθέμενης στην κορυφαία επιφάνεια του τοιχωματικού υπεζωκότα προβάτου, στη διαμεσοθηλιακή αντίσταση. Οι τιμές είναι μέσοι όροι  $\pm$  Τ.Σ. \*\* $P < 0,01$ .

Μετά την προσθήκη λεπτίνης 100ng/ml στη βασική επιφάνεια, παρατηρείται σταδιακή πτώση της τιμής της διαμεσοθηλιακής αντίστασης από το 1ο λεπτό η οποία συνεχίζεται μέχρι το 30ό λεπτό (Σχήμα 6). Η μεγαλύτερη πτώση εμφανίζεται στο 30ο λεπτό με 46,3%.



**Σχήμα 6:** Επίδραση λεπτίνης (100ng/ml) προστιθέμενης στη βασική επιφάνεια του τοιχωματικού υπεζωκότα προβάτου, στη διαμεσοθηλιακή αντίσταση. Οι τιμές είναι μέσοι όροι  $\pm$  Τ.Σ. \*P<0,05, \*\*P<0,01.

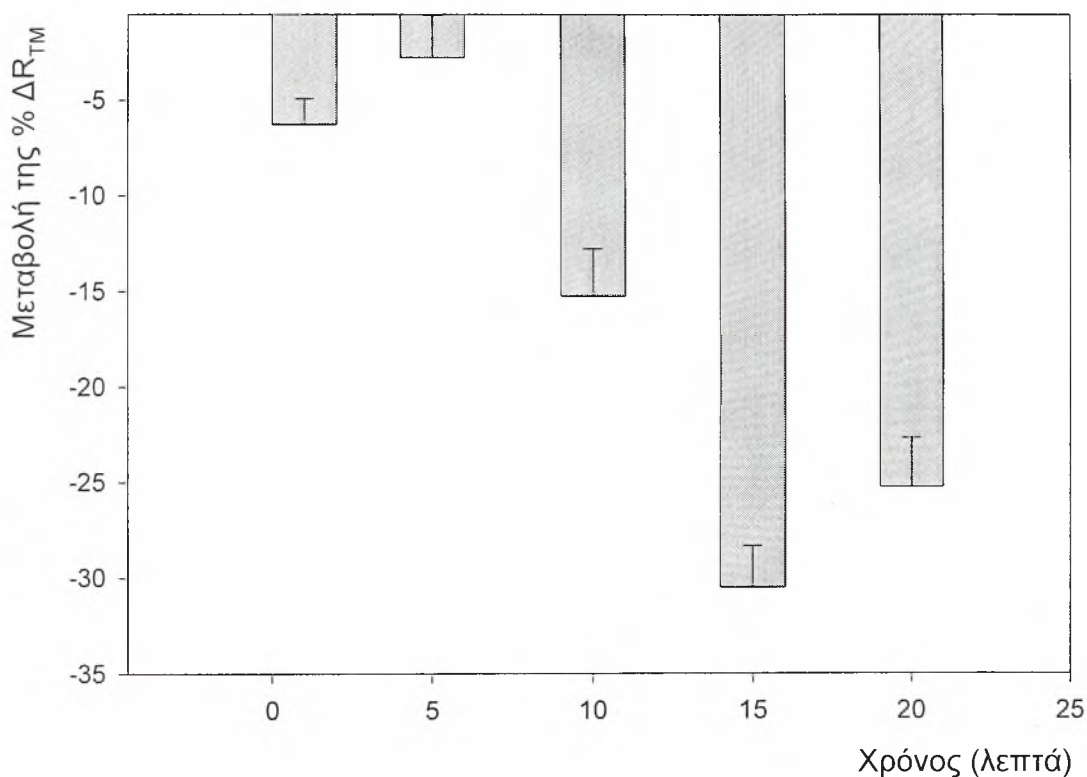
Παρόμοια, σταδιακή πτώση στην τιμή της διαμεσοθηλιακής αντίστασης παρατηρήθηκε και μετά την προσθήκη λεπτίνης 100ng/ml στην κορυφαία επιφάνεια, η οποία ξεκινά στο 3ο λεπτό και συνεχίζεται μέχρι το 20ό λεπτό (Σχήμα 7). Η μεγαλύτερη πτώση στην τιμή της αντίστασης παρατηρείται στο 15ο και 20ό λεπτό με 26.2%.



**Σχήμα 7:** Επίδραση λεπτίνης (100ng/ml) προστιθέμενης στην κορυφαία επιφάνεια του τοιχωματικού υπεζωκότα προβάτου, στη διαμεσοθηλιακή αντίσταση. Οι τιμές είναι μέσοι όροι  $\pm$  Τ.Σ.

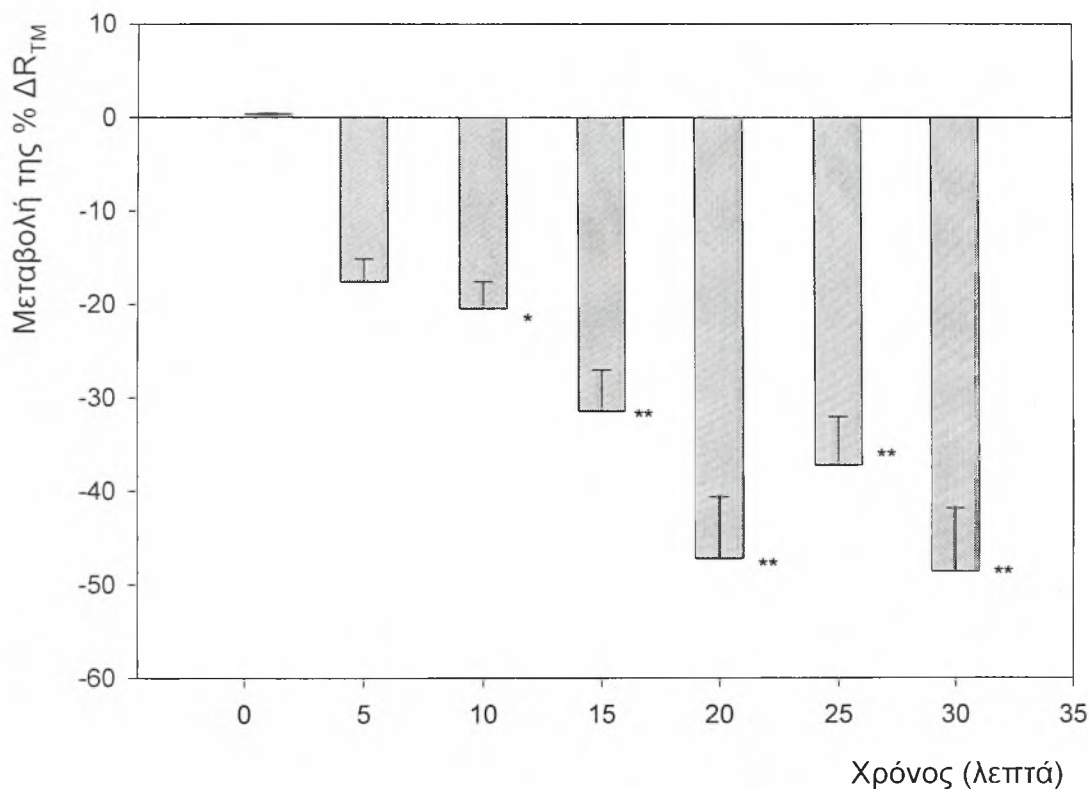
## Πνευμονικός Υπεζωκότας

Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στον πνευμονικό υπεζωκότα όπου η  $R_{TM}$  μειώνεται σταδιακά μετά την προσθήκη λεπτίνης 1ng/ml στη βασική επιφάνειά του. Η πτώση στην τιμή της αντίστασης ξεκινά από το 1ο λεπτό και συνεχίζεται μέχρι το τέλος του πειράματος (Σχήμα 8). Η μεγαλύτερη πτώση στην τιμή της διαμεσοθηλιακής αντίστασης παρατηρείται στο 15ο λεπτό με 23,4% σε σχέση με τον ιστό αναφοράς (control).



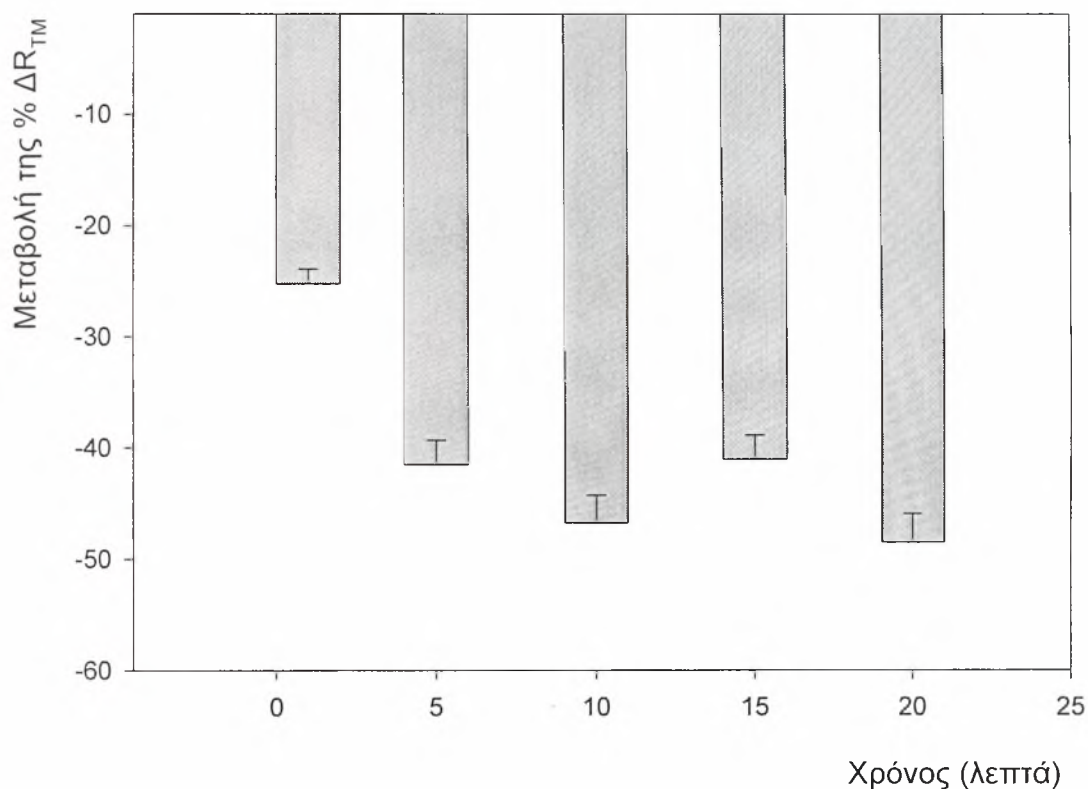
**Σχήμα 8:** Επίδραση λεπτίνης (1ng/ml) προστιθέμενης στη βασική επιφάνεια του πνευμονικού υπεζωκότα προβάτου, στη διαμεσοθηλιακή αντίσταση. Οι τιμές είναι μέσοι όροι  $\pm$  Τ.Σ.

Στο Σχήμα 7 φαίνεται η σταδιακή πτώση της  $R_{TM}$  μετά την προσθήκη λεπτίνης 1ng/ml στην κορυφαία επιφάνειά του κι αυτή η πτώση στην τιμή της αντίστασης ξεκινά από το 3ο λεπτό και συνεχίζεται μέχρι το 30ό λεπτό. Η μεγαλύτερη πτώση στην τιμή της αντίστασης παρατηρείται στο 30ο λεπτό με 48,6%.



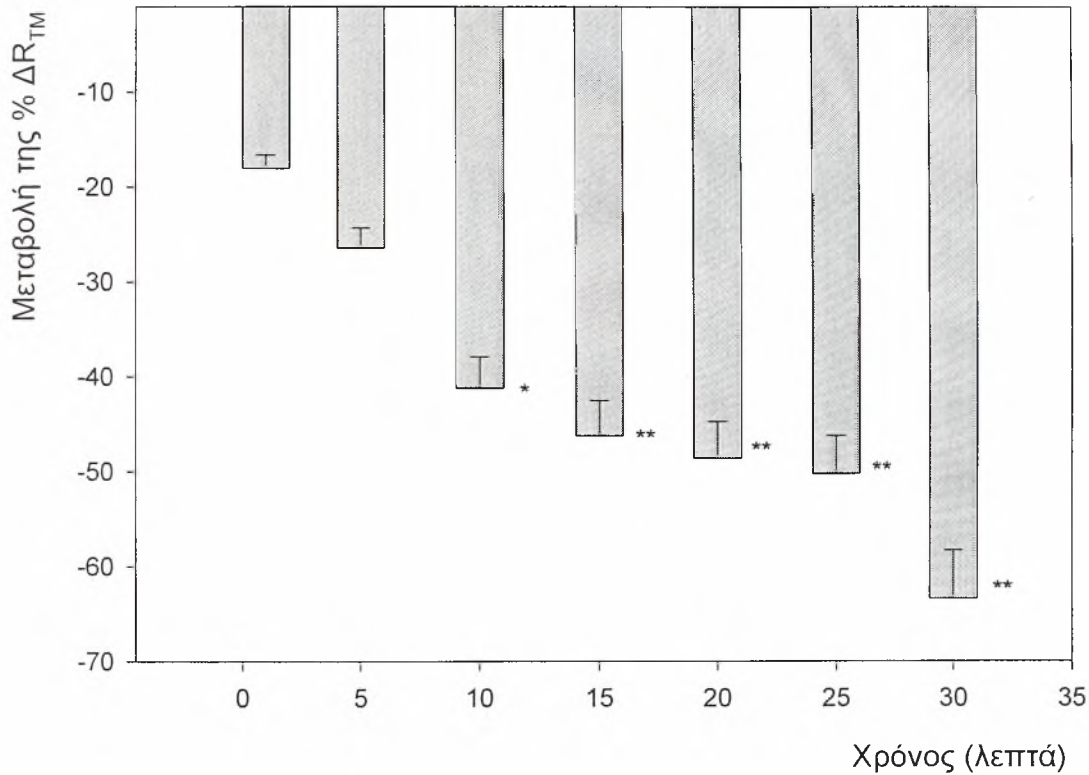
**Σχήμα 9:** Επίδραση λεπτίνης (1ng/ml) προστιθέμενης στην κορυφαία επιφάνεια του πνευμονικού υπεζωκότα προβάτου, στη διαμεσοθηλιακή αντίσταση. Οι τιμές είναι μέσοι όροι  $\pm$  Τ.Σ. \* $P < 0,05$ , \*\* $P < 0,01$ .

Μετά την προσθήκη λεπτίνης 50ng/ml στη βασική επιφάνεια , η διαμεσοθηλιακή αντίσταση μειώνεται σταδιακά και αυτή η πτώση στην τιμή της αντίστασης ξεκινά από το 1ο λεπτό και συνεχίζεται μέχρι το τέλος του πειράματος (Σχήμα 10). Η μεγαλύτερη πτώση εμφανίζεται στο 20ο λεπτό με 48,5%.



**Σχήμα 10:** Επίδραση λεπτίνης (50ng/ml) προστιθέμενης στη βασική επιφάνεια του πνευμονικού υπεζωκότα προβάτου, στη διαμεσοθηλιακή αντίσταση. Οι τιμές είναι μέσοι όροι  $\pm$  Τ.Σ.

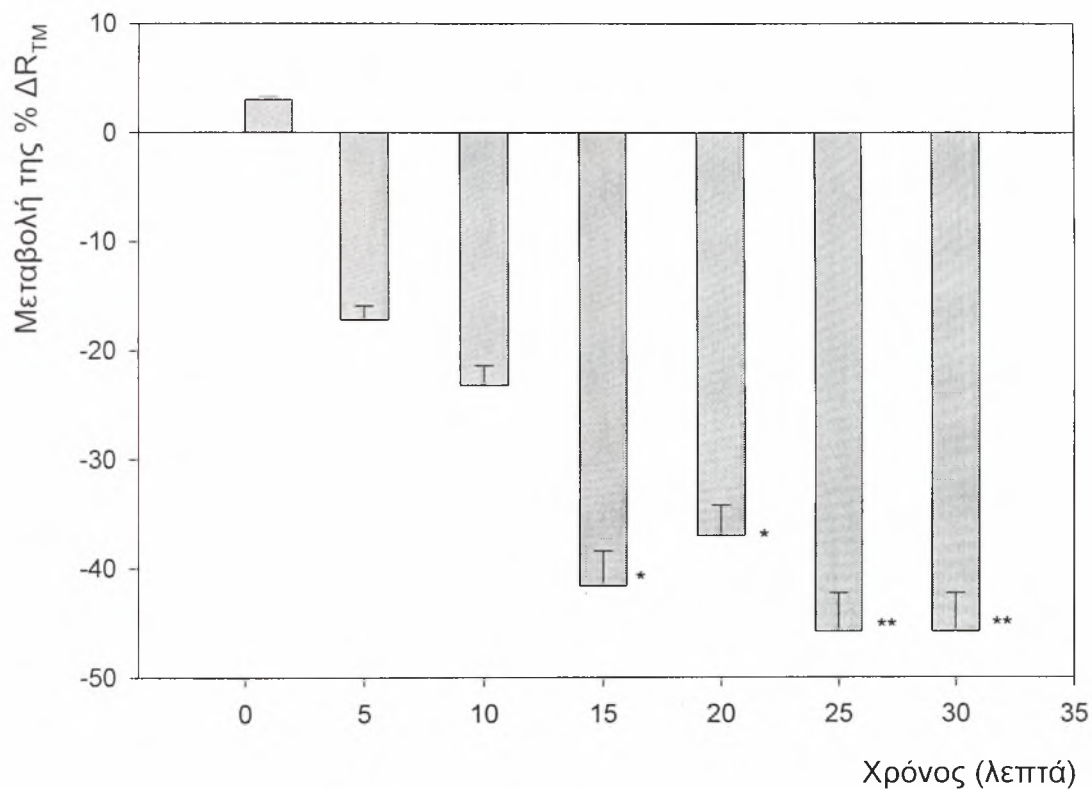
Ομοίως, η διαμεσοθηλιακή αντίσταση μειώνεται σταδιακά μετά την προσθήκη λεπτίνης 50ng/ml στην κορυφαία επιφάνεια. Η πτώση στην τιμή της αντίστασης ξεκινά από το 1ο λεπτό και συνεχίζεται μέχρι το 30ό λεπτό, όπου και παρατηρείται η μεγαλύτερη πτώση με 63,4% (Σχήμα 11).



**Σχήμα 11:** Επίδραση λεπτίνης (50ng/ml) προστιθέμενης στην κορυφαία επιφάνεια του πνευμονικού υπεζωκότα προβάτου, στη διαμεσοθηλιακή αντίσταση. Οι τιμές είναι μέσοι όροι  $\pm$  Τ.Σ. \* $P < 0,05$ , \*\* $P < 0,01$ .

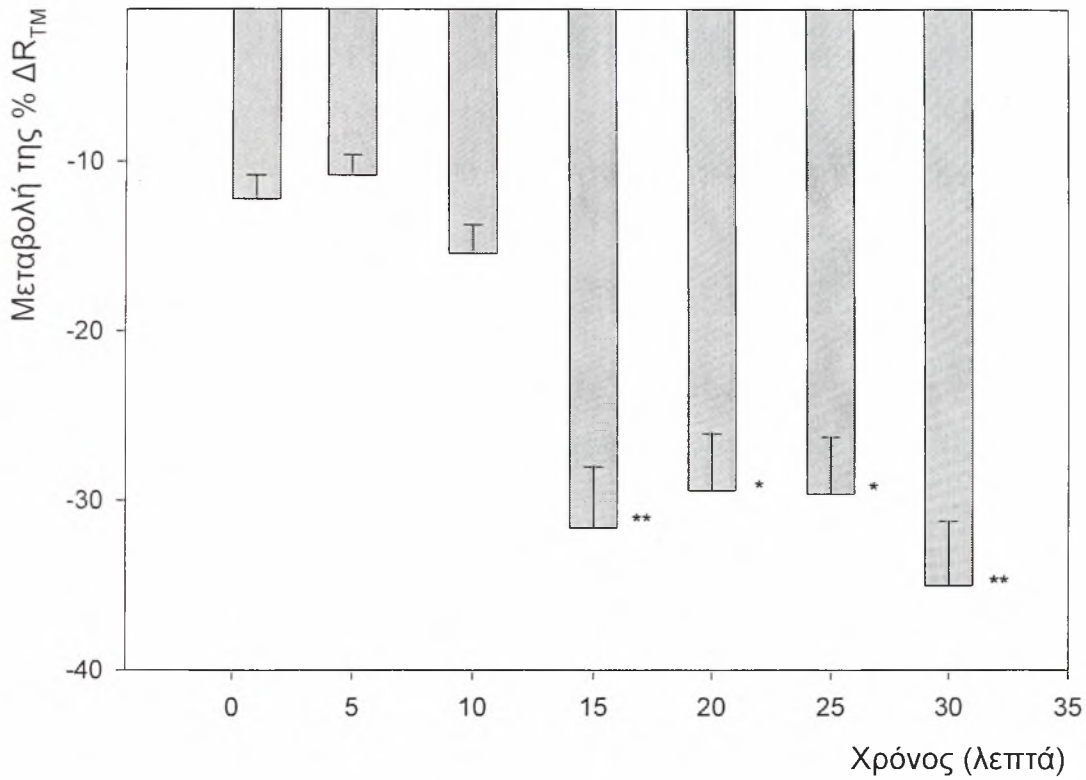


Στον σχήμα 12, φαίνεται η σταδιακή πτώση της διαμεσοθηλιακής αντίστασης μετά την προσθήκη λεπτίνης 100ng/ml στη βασική επιφάνεια και αυτή η πτώση στην τιμή της αντίστασης ξεκινά από το 3ο λεπτό και συνεχίζεται μέχρι το 30ό λεπτό. Η μεγαλύτερη πτώση στην τιμή της αντίστασης παρατηρείται στο 25ο και 30ό λεπτό με 45.8%.



**Σχήμα 12:** Επίδραση λεπτίνης (100ng/ml) προστιθέμενης στη βασική επιφάνεια του πνευμονικού υπεζωκότα προβάτου, στη διαμεσοθηλιακή αντίσταση. Οι τιμές είναι μέσοι όροι  $\pm$  Τ.Σ. \* $P < 0,05$ , \*\* $P < 0,01$ .

Παρόμοια, η διαμεσοθηλιακή αντίσταση μειώνεται σταδιακά μετά την προσθήκη λεπτίνης 100ng/ml στην κορυφαία επιφάνεια και αυτή η πτώση στην τιμή της αντίστασης ξεκινά από το 1ο λεπτό και συνεχίζεται μέχρι το 30ό λεπτό (Σχήμα 13). Η μεγαλύτερη πτώση στην τιμή της αντίστασης παρατηρείται στο 30ό λεπτό με 35%.



**Σχήμα 13:** Επίδραση λεπτίνης (100ng/ml) προστιθέμενης στην κορυφαία επιφάνεια του πνευμονικού υπεζωκότα προβάτου, στη διαμεσοθηλιακή αντίσταση. Οι τιμές είναι μέσοι όροι  $\pm$  Τ.Σ. \*\* $P < 0,01$ , \* $P < 0,05$ .

## IV. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Από τα αποτελέσματα της μελέτης, φαίνεται πως μετά τη χορήγηση των διαλυμάτων λεπτίνης στις δύο επιφάνειες του τοιχωματικού και του πνευμονικού υπεζωκότα παρατηρήθηκε πτώση στην τιμή της διαμεσοθηλιακής αντίστασης ( $R_{TM}$ ). Δηλαδή, παρατηρείται αύξηση της διαπερατότητας του μεσοθηλίου και των δύο πετάλων του υπεζωκότα. Πιο συγκεκριμένα, διαπιστώθηκε πτώση της  $R_{TM}$  μετά την προσθήκη και των τριών διαφορετικών διαλυμάτων λεπτίνης (1ng/ml, 50ng/ml και 100ng/ml) στη βασική και στην κορυφαία επιφάνεια του τοιχωματικού και πνευμονικού υπεζωκότα προβάτου.

Όσο αφορά τον τοιχωματικό υπεζωκότα, μεγαλύτερη πτώση στην τιμή της  $R_{TM}$  σε σχέση με τον ιστό αναφοράς παρατηρήθηκε όταν διάλυμα λεπτίνης 50 ng/ml προστέθηκε στην κορυφαία επιφάνειά του με 67,2%. Η μικρότερη πτώση στην τιμή της  $R_{TM}$  σε σχέση με τον ιστό αναφοράς παρατηρήθηκε όταν διάλυμα λεπτίνης 100 ng/ml προστέθηκε στην κορυφαία επιφάνειά του με 26,2%.

Επιπλέον, όσο αφορά τον πνευμονικό υπεζωκότα, η μεγαλύτερη πτώση της  $R_{TM}$  παρατηρήθηκε μετά την προσθήκη διαλύματος λεπτίνης 50 ng/ml στην κορυφαία επιφάνειά του με 63,4%. Η μικρότερη πτώση της  $R_{TM}$  παρατηρήθηκε μετά την προσθήκη λεπτίνης 1 ng/ml στη βασική επιφάνειά του με 23,4%.

Η αύξηση της διαπερατότητας λοιπόν που προκαλεί η λεπτίνη και στα δύο πέταλα του υπεζωκότα μπορεί να οφείλεται στο ότι:

- 1) Πιθανόν να υπάρχουν υποδοχείς λεπτίνης (Ob-Rs) στο μεσοθήλιο του πνευμονικού και τοιχωματικού υπεζωκότα και η λεπτίνη μέσω της σύνδεσής της σε αυτούς ασκεί τη δράση της αυξάνοντας τη διαπερατότητα του
- 2) Υπάρχουν διαφορετικός αριθμός και κατανομή υποδοχέων στα μεσοθηλιακά κύτταρα του υπεζωκότα, που σχετίζονται με τις διακυμάνσεις στην πτώση της τιμής της διαμεσοθηλιακής αντίστασης ( $R_{TM}$ )
- 3) Η λεπτίνη πιθανώς να μεταβάλλει τη φυσιολογία των μεσοθηλιακών κυττάρων ή τις στενές τους συνδέσεις (tight junctions), με αποτέλεσμα την αύξηση της διαπερατότητας του υπεζωκότα

- 4) Η λεπτίνη ενδεχομένως να επάγει την απελευθέρωση ουσιών που αυξάνουν τη διαπερατότητα του μεσοθηλίου

Η δημιουργία υπεζωκοτικών συλλογών δηλώνει την ύπαρξη ασθένειας. Επίσης, θεωρείται ότι αποτελεί αμυντικό κι αντισταθμιστικό μηχανισμό του οργανισμού κατά το πνευμονικό οίδημα, όπου το μεσοθήλιο του πνευμονικού υπεζωκότα είναι ο κύριος φραγμός σχηματισμού τους (40-44). Ακόμη, από πρόσφατες και συνεχείς μελέτες είναι φανερό πως η λεπτίνη εμπλέκεται σε πολλές λειτουργίες του οργανισμού καθώς και σε καταστάσεις συσσώρευσης υπεζωκοτικού υγρού. Είναι πιθανό λοιπόν, η λεπτίνη να παρουσιάζει κάποια δράση στην παθογένεια των υπεζωκοτικών συλλογών.

Είναι πιθανό, η λεπτίνη να επάγει την απελευθέρωση κιτοκινών όπως η IL-1 και η IL-6 οι οποίες επάγουν με τη σειρά τους την αγγειακή διαπερατότητα και τη διαπερατότητα του μεσοθηλίου δημιουργώντας υπεζωκοτικές συλλογές. Επίσης, ο παράγοντας TNF-α είναι μία πλειοτροπική κιτοκίνη η οποία πυροδοτεί έναν καταρράκτη άλλων κιτοκινών, αυξάνοντας της αγγειακή διαπερατότητα (45). Πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι η εξωγενής χορήγηση λεπτίνης ρύθμιζε θετικά τη φαγοκυττάρωση καθώς και την παραγωγή κιτοκινών που συμμετέχουν στη φλεγμονή. Αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν μία καινούρια και σημαντική λειτουργία της λεπτίνης η οποία ίσως να παρέχει μηχανισμούς σε πολλές παθολογικές καταστάσεις (46). Ακόμη, νέες μελέτες υποδεικνύουν τη συνεργιστική δράση της λεπτίνης και του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF) σε παθοφυσιολογικές καταστάσεις, μεταβάλλοντας της αγγειακή διαπερατότητα και τη διαπερατότητα του μεσοθηλίου προκαλώντας έκλυση υγρού.

Με βάση νέες μελέτες λοιπόν, ο ρόλος της λεπτίνης στην παθοφυσιολογία των υπεζωκοτικών συλλογών που παρατηρούνται στο σύνδρομο Meigs', στο OHSS και στη φλεγμονή πιθανώς να είναι πολύ σημαντικός. Βέβαια, είναι απαραίτητες οι επιπλέον έρευνες για την καλύτερη κατανόηση των μοριακών μηχανισμών που εμπλέκουν τη δράση της λεπτίνης με άλλους παράγοντες σε παθολογικές καταστάσεις (33).

## V. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Σύμφωνα με αποτελέσματα της παρούσας διπλωματικής εργασίας μπορούν να εξαχθούν τα ακόλουθα συμπεράσματα:

- Τόσο ο τοιχωματικός όσο και ο πνευμονικός υπεζωκότας προβάτου παρουσιάζουν αύξηση της διαπερατότητας τους μετά από την έκθεσή τους σε λεπτίνη.
- Η δράση της λεπτίνης είναι ταχεία και στα δύο πέταλα του υπεζωκότα, όπου η πτώση της  $R_{TM}$  ξεκινά αμέσως μετά την προσθήκη λεπτίνης.
- Η μεταβολή της μείωσης της διαπερατότητας είναι πιθανό να συμμετέχει στην ομοιόσταση του όγκου και της σύστασης του υπεζωκοτικού υγρού.
- Ο ρόλος της λεπτίνης στην άθροιση του υγρού στην υπεζωκοτική κοιλότητα και την παθογένεση των υπεζωκοτικών συλλογών, πιθανώς να είναι σημαντικός.

## VI. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Light RW. Anatomy of the pleura. In: *Pleural Diseases*, ed. Light RW. 2001; pp 1-8. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
2. Wang NS. Anatomy and physiology of the pleural space. *Clin Chest Med*. 1985; 6:3-16.
3. Wang NS. Anatomy of the pleura. *Clin Chest Med*. 1998; 19:229-240.
4. Albertine KH, Wiener-Kronish JP, Staub NC. The structure of the parietal pleura and its relationship to pleural liquid dynamics in sheep. *Anat Rec*. 1984; 208:401-409.
5. Albertine KH, Wiener-Kronish JP, Roos PJ, Staub NC. Structure, blood supply, and lymphatic vessels of the sheep's visceral pleura. *Am J Anat*. 1982; 165:277-294.
6. Jaurand MC, Fleury-Feith J, Bernaudin JF, et al. *The Lung: Scientific Foundations*. Pleural mesothelial cells. Lippincott-Raven, Philadelphia. 1997; 961-969.
7. Gaudio E, Rendina EA, Pannarale L, Ricci C, Marinozzi G. Surface morphology of the human pleura: a scanning electron microscopic study. *Chest*. 1988; 92:149-153.
8. Mariassy AT, Wheeldon EB. The pleura: A combined light microscopic, scanning, and transmission electron microscopic study in the sheep. *Exp Lung Res*. 1983; 4:293-313.
9. Wang NS. The perforated stomas connecting the pleural cavity and the lymphatics in the parietal pleura. *Am Rev Respir Dis*. 1975; 111: 2-20.
10. Lai-Fook SJ, Kaplowitz M. Pleural space thickness in situ by light microscopy in five mammalian species. *J Appl Physiol*. 1985; 59:603-610.
11. Noppen M, De Waele M, Li R, Gucht KV, et al. Volume and cellular content of normal pleural fluid in humans examined by pleural lavage. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000; 162:1023-1026.
12. Rolf LL, Travis DM. Pleural fluid-plasma bicarbonate gradients in oxygenotoxic and normal rats. *Am J Physiol*. 1973; 224:857-861.
13. Zocchi L. Physiology and pathophysiology of pleural fluid turnover. *Eur Respir J*. 2002; 20:1545-1558.
14. Agostoni E. Mechanics of the pleura space. *Physiol Rev*. 1972; 52:57-128.
15. Miserocchi G, Negrini D. *The Lung: Scientific Foundations*. Pleural space: pressure and fluid dynamics. Lippincott-Raven, Philadelphia. 1997; 1217-1225.

16. Bodega F, Zocchi L, Agostoni E. Albumin transcytosis in mesothelium. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2002; 282:3-11.
17. Agostoni E, Bodega F, Zocchi L. Albumin transcytosis from the pleural space. *J Appl Physiol.* 2002; 93:1806-1818.
18. Agostoni E, and Zocchi L. Solute-coupled liquid absorption from the pleural space. *Respir Physiol.* 1990; 81:19-27.
19. Zocchi L, Agostoni E, and Cremaschi D. Liquid volume, Na<sup>+</sup> and mannitol concentration in hypertonic manitol-ringer hydrothorax. *Respir Physiol.* 1992; 89:341-315.
20. Zocchi L, Agostoni E, and Cremaschi D. Electrolyte transport across the pleura of rabbits. *Respir Physiol.* 1991; 86:125-138.
21. Marel M, Arustova M, Stansy B, et al. Incidence of pleural effusion in well-defined region: epidemiologic study in central Bohemia. *Chest.* 1993; 104:1486-1489.
22. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature.* 1994; 372:425–32.
23. Mantzoros CS. The role of leptin in human obesity and disease: a review of current evidence. *Ann Intern Med.* 1999; 130:671-80.
24. Robert Ducroc, Sandra Guilmeau, Khalil Akasbi, He' le'ne Devaud, Marion Buyse, and Andre' Bado. Luminal leptin induces rapid inhibition of active intestinal absorption of glucose mediated by sodium-glucose cotransporter 1. *Diabetes.* 2005; 54:348-354.
25. DA Zieba, M Amstalden, GL Williams. Regulatory roles of leptin in reproduction and metabolism: A comparative review. *Domestic Animal Endocrinology.* 2005; 29:166-185.
26. Stergios Moschos, MD Jean . Chan, MD and Christos S Mantzoros, MD, ScD. Division of Endocrinology, Beth Israel Deaconess Medical Center, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts. Leptin and reproduction: a review. *Fertility and sterility.* March 2002; 77: no 3.
27. Darrell W Brann, Marlene F Wade, Krishnan M Dhandapani, Virendra B Mahesh, Clint D Buchanan. Leptin and reproduction. Review article. *Steroids.* 2002; 67:95-104.
28. M Ma'c'ajova', D Lamos'ova' and M Zeman. Role of Leptin in Farm Animals: a Review. Institute of Animal Biochemistry and Genetics, Slovak Academy of Sciences, Ivanka pri Dunaji, Slovakia. 2004 Blackwell Verlag, Berlin. *J. Vet. Med.* 2004; 51: 157–166.
29. [http://www.iatrikionline.gr/e\\_m\\_g\\_14b/goulis.htm](http://www.iatrikionline.gr/e_m_g_14b/goulis.htm)



30. <http://www.kiveli.gr/epist/epist1.cfm>
31. Ayustawati, MD, Hiroaki Shibahara, MD, Yuki Hirano, MD, Tatsuya Suzuki, MD, Satoru Takamizawa, MD and Mitsuaki Suzuki, MD. Department of Obstetrics and Gynecology, Jichi Medical School, Tochigi, Japan. Serum leptin concentrations in patients with severe ovarian hyperstimulation syndrome during in vitro fertilization–embryo transfer treatment. *Fertility and sterility*. September 2004; 82:3.
32. Yoram Abramov, MD Shaoul O Anteby, MD Mohammad Fatum, MD, Sozos J Fasouliotis, MD, and Vivian Barak, PhD. The Kinetics of Leptin in Meigs' Syndrome. *Gynecologic Oncology*. 2001; 83:316–318.
33. [http://www.femalepatient.com/html/arc/sel/march03/028\\_03\\_015.asp](http://www.femalepatient.com/html/arc/sel/march03/028_03_015.asp)
34. <http://health.in.gr/print.asp?lngArticleID=47253>
35. N. Sagawaa, C, S Yuraa, H Itoha, H Misea, K Kakuia, D Koritaa, M Takemuraa, M A Nuamaha, Y Ogawab, H Masuzakib, K Nakaob and S Fujiiia. Role of Leptin in Pregnancy-A Review. *Placenta* 23, Supplement A, *Trophoblast Research*. 2002; 16:80–86.
36. Oreste Gualillo, Sonia Eiras, Francisca Lago, Carlos Diéguez, Felipe F Casanueva. Elevated serum leptin concentrations induced by experimental acute inflammation. *Life Sciences*. 2000; 67:2433–2441.
37. Schultz SG, Leaf A Hans Ussing memorial issue: Epithelial membrane transport. *J Membrane Biol*. 2001; 184:199-202.
38. Ussing HH, Zerhan K Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuited isolated frog skin. *Acta Physiol Scand*. 1950; 23:110-127.
39. Li H, Sheppard D, Hug M. Transepithelial electrical measurements with the Ussing Chamber. *J Cystic Fibrosis*. 2004; 3:123-126.
40. Staub NC. Alveolar flooding and clearance. *Am Rev Resp Dis*. 1983; 127:44-50.
41. Staub NC. New concepts about the pathophysiology of pulmonary edema. *J Thorac Imag*. 1988; 3:8-14.
42. Wiener-Kronish JP, Broaddus VC, Albertine KH, Gropper MA, Matthay MA, Staub NC. Relationship of pleural effusions to increased permeability pulmonary edema in anesthetized sheep. *J Clin Invest*. 1988; 82:1422-1429.
43. Wiener-Kronish JP, Matthay MA. Pleural effusions associated with hydrostatic and increased permeability pulmonary edema. *Chest*. 1988; 93:852–858.

44. Ashino Y, Tanita T, Ono S, Suzuki S, Koike K, Fujimura S. Roles of the visceral pleura in the production of pleural effusion in permeability pulmonary edema. *Tohoku J Exp Med.* 1997; 182:283-296.
45. <http://www.bio.davidson.edu/courses/immunology/Students/spring2000/wolf/tnfalp ha.html>
46. S Loffreda, SQ Yang, HZ Lin, CL Karp, ML Brengman, DJ Wang, AS Klein, GB Bulkley, C Bao, PW Noble, MD Lane and AM Diehl. Leptin regulates proinflammatory immune responses. Departments of Medicine, Molecular Microbiology and Immunology, Surgery, and Biological Chemistry, Johns Hopkins University, Baltimore, Maryland 21205, USA.
47. Gorodeski G, Goldfarb J. Seminal fluid factor increases the resistance of the tight junctional complex of cultured human cervical epithelium CaSki cells. *Fertility and Sterility.* 1998; 69,2:309-17.
48. Misfeldt DS, Hamamoto S, Pitelka D. Transepithelial transport in cell culture. *Cell Biology.* 1976; 73:1212-1216.
49. Sperelakis N. Origin of resting membrane potentials. In Sperelakis N. *Cell Physiology Sourcebook 3<sup>rd</sup> edition.* Academic press. 2001; 219-236.
50. Sperelakis N. Review of electricity and cable properties. In Sperelakis N. *Cell Physiology Sourcebook 3<sup>rd</sup> edition.* Academic press. 2001; 1205-1213.
51. Negrini D, Pistolesi M, Miniati M, Bellina CR, Giuntini C, Miserocchi G. Regional protein absorption rate from the pleura cavity in dogs. *J Appl Physiol.* 1985; 58:2062-2067.
52. Broaddus VC, Kronish-Wiener JP, Berthiaume Y, Staub NC. Removal of pleural liquid and protein by lymphatics in awake sheep. *J Appl Physiol.* 1988; 64:384-390.