

---

**ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΑΛΔΟΣΤΕΡΟΝΗΣ ΚΑΙ  
ΑΝΤΙΔΙΟΥΡΗΤΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ ΣΤΗ  
ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ**

---

**ΓΑΛΑΤΕΙΑ ΜΑΤΑΦΙΑ  
ΕΙΔΙΚΗ ΠΑΙΔΙΑΤΡΟΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

---

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ  
Διευθυντής Καθηγητής Π. Α. ΜΟΥΥΒΔΑΣ  
ΠΝΕΥΜΟΝΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ  
Διευθυντής Καθηγητής Κ. Ι. ΓΟΥΡΓΟΥΔΙΑΝΗΣ**

---

**ΛΑΡΙΣΑ 2007**

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

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

Αριθ. Εισ.: 7882/1

Ημερ. Εισ.: 07-12-2009

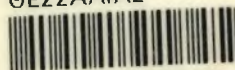
Δωρεά: Π.Θ.

Ταξιθετικός Κωδικός: Δ

612.2

ΜΑΤ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000083840

---

**ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΑΛΔΟΣΤΕΡΟΝΗΣ ΚΑΙ  
ΑΝΤΙΔΙΟΥΡΗΤΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ ΣΤΗ  
ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ**

---

**ΓΑΛΑΤΕΙΑ ΜΑΤΑΦΙΑ  
ΕΙΔΙΚΗ ΠΑΙΔΙΑΤΡΟΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

---

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ  
Διευθυντής Καθηγητής Π. Α. ΜΟΥΥΒΔΑΣ  
ΠΝΕΥΜΟΝΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ  
Διευθυντής Καθηγητής Κ. Ι. ΓΟΥΡΓΟΥΛΙΑΝΗΣ**

---

**ΛΑΡΙΣΑ 2007**

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μελέτη εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Φυσιολογίας του Ιατρικού Τμήματος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, κατά το χρονικό διάστημα 2002-2007, υπό την καθοδήγηση του Καθηγητή Κωνσταντίνου Γουργουλιάνη.

Παρακάτω αναφέρονται εκείνοι που συνέβαλλαν ποικιλοτρόπως στην τελειοποίηση αυτής της μελέτης και στους οποίους οφείλω να εκφράσω τις ευχαριστίες και την ευγνωμοσύνη μου.

Ευχαριστώ θερμά,

→ τον Καθηγητή Πασχάλη-Αδάμ Μολυβδά για τις πολύτιμες συμβουλές και παρατηρήσεις του και για την παρουσία του στο Εργαστήριο.

→ τον Καθηγητή Κωνσταντίνο Γουργουλιάνη, επιστημονικό υπεύθυνο αυτής της διατριβής, για την ευκαιρία που μου έδωσε να διεκπεραιώσω την παρούσα μελέτη, καθώς και για την κατανόηση που επέδειξε στις δύσκολες στιγμές.

→ τον Επίκουρο Καθηγητή Γεώργιο Κουκούλη για τη συμβολή του στη διόρθωση και στην παρουσίαση της διατριβής.

→ τη φίλη και συνάδελφο γενική ιατρό, Λέκτορα Χρύσα Χατζόγλου, χωρίς την πολύτιμη βοήθεια της οποίας η παρούσα μελέτη δε θα είχε ολοκληρωθεί.

→ το φίλο και συνάδελφο ιατρό Βασίλη Κουρίτα, όχι μόνο για τη συνεργασία που είχαμε στη διάρκεια της παρούσας έρευνας, αλλά και για την αμέριστη ηθική συμπαράστασή του.

- το συνάδελφο ιατρό Κώστα Βογιατζίδα, για την εξαιρετη συνεργασία που είχαμε κατά τη διάρκεια της παρούσας έρευνας.
- το συνεργάτη βιοχημικό Σωτήρη Ζαρογιάννη, για την εξαιρετη συνεργασία που είχαμε κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης.
- τον τεχνικό του Εργαστηρίου Φυσιολογίας Γιάννη Μακαντάση, για τη βοήθειά του και την εξαιρετη τεχνική του υποστήριξη.
- το σύζυγο, οικονομολόγο Κωνσταντίνο Γκατζούλη, για τη συμβολή του στη συγγραφή και διόρθωση της διατριβής και την πολύπλευρη και αδιάκοπη υποστήριξή του.
- τη φίλη και συνάδελφο ιατρό Κλεοπάτρα Μπαζούκη, για την ακατάπαυστη ηθική της συμπαράσταση.
- τους γονείς μου, για την ανιδιοτελή, ανεξάντλητη και μακροχρόνια υλική και ψυχική βοήθειά τους.

## **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**ΠΑΣΧΑΛΗΣ ΑΔΑΜ ΜΟΛΥΒΔΑΣ**

Καθηγητής Φυσιολογίας

**ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΓΟΥΡΓΟΥΛΙΑΝΗΣ**

Καθηγητής Πνευμονολογίας

**ΧΡΥΣΗ ΧΑΤΖΟΓΛΟΥ**

Λέκτορας Φυσιολογίας

## **ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**ΠΑΣΧΑΛΗΣ ΑΔΑΜ ΜΟΛΥΒΔΑΣ**

Καθηγητής Φυσιολογίας

**ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΓΟΥΡΓΟΥΛΙΑΝΗΣ**

Καθηγητής Πνευμονολογίας

**ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΟΥΚΟΥΛΗΣ**

Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής

**ΜΙΧΑΗΛ ΜΕΛΕΚΟΣ**

Καθηγητής Ουρολογίας

**ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΟΥΚΟΥΛΗΣ**

Επίκουρος Καθηγητής Ενδοκρινολογίας

**ΑΠΟΣΤΟΛΙΑ ΧΑΤΖΗΕΥΘΥΜΙΟΥ**

Επίκουρη Καθηγήτρια Φυσιολογίας

**ΧΡΥΣΗ ΧΑΤΖΟΓΛΟΥ**

Λέκτορας Φυσιολογίας

# ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ



## ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ	Γαλάτεια Ματαφιά
ΗΜ/ΝΙΑ ΓΕΝΝΗΣΗΣ	6 Αυγούστου 1973
Δ/ΝΣΗ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	Κοζάνης 26 Γιάννουλη 41500 Λάρισα
ΤΗΛΕΦΩΝΟ	2410593900
Fax	2410593858
E-mail	<a href="mailto:gmatafia@med.uth.gr">gmatafia@med.uth.gr</a>

## ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

1998	Πτυχίο Ιατρικής Σχολή Επιστημών Υγείας Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
2000-2004	Ειδικότητα Παιδιατρικής Π/Δ Κλινική Πανεπιστημιακό Γ.Ν.Λάρισας
2002	Διασώστης Παίδων APLS Provider Advanced Life Support Group European Resuscitation Council
2002-2007	Εκπόνηση Διδακτορικής Διατριβής Εργαστήριο Φυσιολογίας Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

## ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΣΕ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

1. Αλεξόπουλος Ε, Καδίτης Α, **Ματαφιά Γ**, Μικράκη Β, Κωσταδήμα Ε, Σκεντέρης Ν, Γουργουλιάνης Κ. (Πρόδρομη Ανακοίνωση). Θεραπεία του πρωτοπαθούς ροχαλητού στα παιδιά με ρινικό εκνέφωμα βουδεσονίδης. Ελληνική Ιατρική 67: 46, 2001.
2. Alexopoulos E, Mikraki V, Kalampuka E, Chatzopoulou V, **Matafia G**, Manetas G, Kostadima E, Kaditis A, Skenteris N. Epidemiology of asthma in children living in Thessaly (Central Greece) assessed by the ISAAC questionnaire. Acta Paediatrica Scandinavica 60: 482, 2002.
3. Παπαδημητρίου Ε, **Ματαφιά Γ**, Χατζοπούλου Β, Μικράκη Β, Σκεντέρης Ν. Νόσος Caroli με συγγενή ηπατική ίνωση. Περιγραφή περίπτωσης. Παιδιατρική 68: 140-143, 2005.
4. Vogiatzidis K, Hatzoglou C, Zarogiannis S, **Matafia G**, Gourgoulisanis K, Molyvdas PA. μ-Opioid influence on transmesothelial resistance of isolated sheep pleura and parietal pericardium. Eur J Pharmacol 530: 276-280, 2006.
5. Zarogiannis S, Hatzoglou C, Stefanidis I, **Matafia G**, Vogiatzidis K, Gourgoulisanis K, Molyvdas PA. Effect of adrenaline on transmesothelial resistance of isolated sheep pleura. Respir Physiol Neurobiol 150: 165-172, 2006.

## ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. Θεοδόσης-Γεωργιάς Α, Κορδονούρη Θ, Κυρίτση Μ, **Ματαφιά Γ**, Νάτσιου Μ, Χαμαλίδου Χ, Μαρκώνης Α. (Στρογγυλή τράπεζα, συντονιστής Φεζουλίδης Ι). Απόψεις και θέσεις γυναικείου πληθυσμού και κλινικών ιατρών μιας ελληνικής επαρχιακής πόλης για το μαστογραφικό έλεγχο. 2<sup>ο</sup> Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδας, 2<sup>ο</sup> Πανευρωπαϊκό Συμπόσιο Φοιτητών Ιατρικής, Θεσσαλονίκη 1996.
2. Αλεξόπουλος Ε, **Ματαφιά Γ**, Χατζοπούλου Β, Μανέτας Γ, Μικράκη Β, Σκεντέρης Ν. (Αναρτημένη ανακοίνωση). Το κοινωνικοοικονομικό επίπεδο ως παράγοντας κινδύνου άσθματος σε παιδιά ηλικίας 6-7 ετών στη Λάρισα. 13<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρίας Κοινωνικής Παιδιατρικής και Προαγωγής της Υγείας, Πάτρα 2001.
3. Αλεξόπουλος Ε, Καδίτης Α, **Ματαφιά Γ**, Κωσταδήμα Ε, Μικράκη Β, Σκεντέρης Ν, Γουργουλιάνης Κ. (Περιγραφή περιστατικού). Υποχώρηση νυκτερινής ενούρησης μετά από θεραπεία αποφρακτικής άπνοιας στον ύπνο. 39<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Κρήτη 2001.
4. Μάρκου Α, **Ματαφιά Γ**, Τατσίδου Ε, Κατσάβα Α, Σκεντέρης Ν. (Περιγραφή περιστατικού). Φλεγμονώδης ψευδοόγκος ουροδόχου κύστης. 39<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Κρήτη 2001.
5. Αλεξόπουλος Ε, Καδίτης Α, **Ματαφιά Γ**, Μικράκη Β, Κωσταδήμα Ε, Σκεντέρης Ν, Γουργουλιάνης Κ. (Πρόδρομη Ανακοίνωση).

Θεραπεία του πρωτοπαθούς ροχαλητού στα παιδιά με ρινικό εκνέφωμα βουδεσονίδης. 11<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Θεσσαλονίκη 2001.

6. Αλεξόπουλος Ε, Μικράκη Β, Καλαμπούκα Ε, **Ματαφιά Γ**, Κωσταδήμα Ε, Καδίτης Α, Σκεντέρης Ν. (Ελεύθερη ανακοίνωση). Η συχνότητα της αλλεργικής ρινοεπιπεφυκίτιδας και του εκζέματος στα παιδιά ηλικίας 6 και 7 ετών στη Θεσσαλία. 40<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Θεσσαλονίκη 2002.

7. Αλεξόπουλος Ε, Καδίτης Α, Μικράκη Β, **Ματαφιά Γ**, Κωσταδήμα Ε, Σκεντέρης Ν, Γουργουλιάνης Κ. (Αναρτημένη Ανακοίνωση). Βελτίωση των κλινικών συμπτωμάτων σε παιδιά με πρωτοπαθές ροχαλητό μετά από θεραπεία με ρινικό εκνέφωμα βουδεσονίδης. 40<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Θεσσαλονίκη 2002.

8. Αλεξόπουλος Ε, Μικράκη Β, Καλαμπούκα Ε, **Ματαφιά Γ**, Τατσίδου Ε, Καδίτης Α, Σκεντέρης Ν. (Αναρτημένη ανακοίνωση). Η συχνότητα του άσθματος στα παιδιά ηλικίας 6 και 7 ετών στη Θεσσαλία. 40<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Θεσσαλονίκη 2002.

9. Αλεξόπουλος Ε, Καδίτης Α, Καλαμπούκα Ε, **Ματαφιά Γ**, Μικράκη Β, Σκεντέρης Ν, Γουργουλιάνης Κ. (Αναρτημένη Ανακοίνωση). Προσωρινή υποχώρηση νυκτερινής ενούρησης μετά από θεραπεία συνδρόμου αποφρακτικής άπνοιας στον ύπνο με ρινικό εκνέφωμα βουδεσονίδης. 40<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Θεσσαλονίκη 2002.

10. Καδίτης Α, Αλεξόπουλος Ε, Καλαμπούκα Ε, Παπαδημητρίου Ε, Κουτέ Β, **Ματαφιά Γ**, Χαλβατζά Ε, Κωσταδήμα Ε, Μικράκη Β,

Γουργουλιάνης Κ. (Read by title). Επιπολασμός και κλινικοί παράγοντες σχετιζόμενοι με τις διαταραχές της αναπνοής στον ύπνο παιδιών και εφήβων: Πληθυσμιακή μελέτη στην κεντρική Ελλάδα. 41<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Ρόδος 2003.

11. Zarogiannis S, **Matafia G**, Vogiatzidis K, Hatzoglou C, Gourgoulisanis K, Molyvdas PA. Effect of adrenaline on transepithelial resistance of isolated sheep visceral pleura. 15<sup>th</sup> IFCC-FESCC European Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Barcelona, Spain 2003.

12. Ζαρογιάννης Σ, **Ματαφιά Γ**, Βογιατζίδης Κ, Χατζόγλου Χ, Γουργουλιάνης Κ, Μολυβδάς ΠΑ. Η επίδραση της αδρεναλίνης στη διεπιθηλιακή αντίσταση υπεζωκότα προβάτου. 12<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2003.

13. Κουρίτας Β, Χατζόγλου Χ, **Ματαφιά Γ**, Γουργουλιάνης Κ, Μολυβδάς ΠΑ. Δράση ινσουλίνης στο σπλαγγνικό και τοιχωματικό υπεζωκότα προβάτου. 12<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα 2003.

14. Kouritas V, Foroulis C, Hatzoglou C, **Matafia G**, Gourgoulisanis K, Molyvdas PA. Effect of insulin on human parietal pleura, through Na<sup>+</sup> channels and Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> pumps. Annual Congress of European Respiratory Society, Glasgow 2004.

15. **Matafia G**, Hatzoglou C, Kouritas V, Gourgoulisanis K, Molyvdas PA. The role of nitric oxide to the rapid actions of aldosterone on sheep visceral and parietal pleura. Annual Congress of European Respiratory Society, Glasgow 2004.

16. Βογιατζίδης Κ, Ζαρογιάννης Σ, **Ματαφιά Γ**, Χατζόγλου Χ, Γουργουλιάνης Κ, Μολυβδάς ΠΑ. Η επίδραση της μορφίνης στη διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού. Ηλεκτροφυσιολογική μελέτη σε υπεζωκότα προβάτου. 13<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Πνευμονολογικό συνέδριο, Πάτρα 2004.

17. **Ματαφιά Γ**, Χατζόγλου Χ, Κουρίτας Β, Γουργουλιάνης Κ, Μολυβδάς ΠΑ. Ταχεία επίδραση αντιδιουρητικής ορμόνης στην ανάπτυξη υπεζωκοτικών συλλογών. 13<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Πνευμονολογικό συνέδριο, Πάτρα 2004.

18. Κουρίτας Β, Φορούλης Χ, Χατζόγλου Χ, **Ματαφιά Γ**, Γουργουλιάνης Κ, Μολυβδάς ΠΑ. Διαφοροποιήσεις της φυσιολογίας στον ανθρώπινο και πρόβειο υπεζωκότα: μεταβολές των ιδιοτήτων των μεσοθηλιακών κυττάρων ή συμμετοχή της αποχέτευσης μέσω λεμφαγγείων; 13<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Πνευμονολογικό συνέδριο, Πάτρα 2004.

19. **Ματαφιά Γ**, Χατζόγλου Χ, Κουρίτας Β, Γουργουλιάνης Κ, Μολυβδάς ΠΑ. Αμεση επίδραση αλδοστερόνης στην ανάπτυξη υπεζωκοτικών συλλογών διαμέσου παραγωγής οξειδίου του αζώτου. (Ελεύθερη ανακοίνωση). 30<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα 2004.

20. Κουρίτας Β, Χατζόγλου Χ, **Ματαφιά Γ**, Γουργουλιάνης Κ, Μολυβδάς ΠΑ. (Ελεύθερη ανακοίνωση). Επίδραση ισοουλίνης στην πλευριτική συλλογή μέσω καναλιών  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ . 30<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο, Αθήνα 2004.

21. Κουτέ Β, Παπαγιάννη Μ, Τατσίδου Ε, **Ματαφιά Γ**, Μικράκη Β, Σκεντέρης Ν. Περίπτωση εμφάνισης σακχαρώδη διαβήτη τύπου Ι σε

παιδί με λοίμωξη από αδενοϊό. (Read by title). 42<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Κρήτη 2004.

22. Κουρίτας Β, Φορούλης Χ, Χατζόγλου Χ, Χέβας Α, Καλαφάτη Γ, Δεσιμόνας Ν, **Ματαφιά Γ**, Γουργουλιάνης Κ, Μολυβδάς ΠΑ. Ανθρώπινος μεσαυλικός υπεζωκότας: ενεργή μεσοθηλιακή μεμβράνη ή μια απλή στηρικτική δομή; 14<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Πνευμονολογικό συνέδριο, Θεσσαλονίκη 2005.

23. **Matafia G**, Hatzoglou C, Kouritas V, Gourgoulisanis K, Molyvdas PA. Rapid actions of vasopressin on sheep visceral and parietal pleurae. Annual Congress of European Respiratory Society, Copenhagen 2005.

24. Kouritas V, Hatzoglou C, **Matafia G**, Gourgoulisanis K, Molyvdas PA. Physiology variations of sheep pleura: variations in capability of mesothelial cells to transport electrolyte as a response to insulin action. Annual Congress of European Respiratory Society, Copenhagen 2005.

25. Kouritas V, Foroulis C, Hatzoglou C, **Matafia G**, Gourgoulisanis K, Molyvdas PA. Variation of capability of human and sheep pleural mesothelial cells to transport Na<sup>+</sup> and H<sub>2</sub>O. Involvement of lymphatic drainage? Annual Congress of European Respiratory Society, Copenhagen 2005.

26. Kouritas V, Foroulis C, Hatzoglou C, **Matafia G**, Gourgoulisanis K, Molyvdas PA. Variation of capability of human and sheep pleural mesothelial cells to recycle K<sup>+</sup>-Na<sup>+</sup> and involvement of lymphatic drainage. Annual Congress of European Respiratory Society, Copenhagen 2005.

*Στην πρόωρη φυγή του Γρηγόρη,  
Στον πρόωρο ερχομό της Μαρίζας*



## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η μελέτη της φυσιολογίας του υπεζωκότα έχει αποκτήσει ιδιαίτερο ενδιαφέρον τις τελευταίες δεκαετίες, όχι μόνο γιατί αποτελεί έναν ιστό του οργανισμού που δεν είχε μελετηθεί αρκετά ως τώρα, αλλά και γιατί πληθώρα ασθενειών παρουσιάζουν ως κύριο κλινικό εύρημα ή ως επιπλοκή τους την υπεζωκοτική συλλογή.

Οι υπεζωκοτικές συλλογές εμφανίζονται σε ασθενείς που πάσχουν κυρίως από νοσήματα του αναπνευστικού συστήματος, αλλά και σε μία ποικιλία νοσημάτων από άλλα συστήματα. Για αυτόν το λόγο, η μελέτη τους και η εξιχνίαση των παθοφυσιολογικών μηχανισμών που εμπλέκονται στη δημιουργία τους αποτελεί αντικείμενο έρευνας πολλών μελετητών των τελευταίων χρόνων.

Η πρόσφατη μελέτη του μεσοθηλιακού ιστού από τον οποίο αποτελείται ο υπεζωκότας, επιτρέπει τη σύγκρισή του με τις λειτουργίες που φέρουν ο επιθηλιακός και ο ενδοθηλιακός ιστός άλλων οργάνων του σώματος. Παρόμοιοι μηχανισμοί ηλεκτροφυσιολογικών ιδιοτήτων φαίνεται να διέπουν αυτούς τους ιστούς, ώστε με την επίδραση διαφόρων ουσιών να επέρχονται μεταβολές στη διαπερατότητά τους. Τέτοιες μεταβολές στη διαπερατότητα του υπεζωκότα ενδεχομένως παρέχουν εναρκτήρια δράση ανάπτυξης υπεζωκοτικής συλλογής.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελ.
<b>ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b> .....	1
<b>ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b> .....	4
<b>ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ</b> .....	5
<b>Ιστολογία</b> .....	6
<b>Μεσοθηλιακά κύτταρα: δομή και λειτουργίες</b> .....	7
<b>Αιμάτωση</b> .....	9
<b>Λεμφική κυκλοφορία</b> .....	9
<b>ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ</b> .....	11
<b>Σύντομη ιστορική αναδρομή</b> .....	12
<b>Σύντομη αναφορά στους νόμους που διέπουν τη φυσιολογία της υπεζωκοτικής κοιλότητας</b> .....	13
<b>ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ</b> .....	16
<b>Υπεζωκοτικό υγρό</b> .....	16
<b>Διακίνηση υπεζωκοτικού υγρού υπό φυσιολογικές συνθήκες</b> .....	17
<b>Υπεζωκοτικές συλλογές</b> .....	22
<b>ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ</b> .....	26
<b>Μελέτη διαπερατότητας βιολογικών μεμβρανών</b> .....	26
<b>Χρήση ουσιών για μελέτη διαπερατότητας</b>	

βιολογικών μεμβρανών.....	28
Αμιλορίδη.....	28
Ουαμπαΐνη.....	29
Οξείδιο του αζώτου (NO).....	29
Αλδοστερόνη.....	31
Σπειρολακτόνη.....	38
Αντιδιουρητική ορμόνη (ADH).....	40
<b>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....</b>	<b>47</b>
<b>ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ.....</b>	<b>48</b>
<b>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>54</b>
Χρονική επίδραση αλδοστερόνης.....	54
Συγκεντρωτική επίδραση αλδοστερόνης.....	55
Επίδραση της σπειρολακτόνης στη δράση της αλδοστερόνης.....	58
Χρονική επίδραση σπειρολακτόνης.....	60
Συγκεντρωτική επίδραση σπειρολακτόνης.....	60
Επίδραση του L-NAME στη δράση της αλδοστερόνης.....	63
Επιδράσεις της ουαμπαΐνης και της αμιλορίδης στη δράση της αλδοστερόνης.....	66
Χρονική επίδραση αντιδιουρητικής ορμόνης (ADH).....	69
Επίδραση του L-NAME στη δράση της ADH.....	71
Επίδραση της ουαμπαΐνης στη δράση της ADH.....	74
Επίδραση της αμιλορίδης στη δράση της ADH.....	77

<b>ΣΥΖΗΤΗΣΗ</b> .....	80
<b>ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b> .....	95
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b> .....	97
<b>SUMMARY</b> .....	100
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b> .....	102

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η φυσιολογία της υπεζωκοτικής κοιλότητας και οι μηχανισμοί που διέπουν τη διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού έχουν αποκτήσει ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τους μελετητές τις τελευταίες δεκαετίες.

Τα μεσοθηλιακά κύτταρα από τα οποία αποτελείται ο υπεζωκότας, αναγνωρίζονται σήμερα ως ενεργά κύτταρα με πολλές δομικές και μεταβολικές λειτουργίες [ 13, 54, 69, 90, 103, 200]. Μία λειτουργία-κλειδί αποτελεί η διαμεσοθηλιακή μεταφορά [69]. Τα μεσοθηλιακά κύτταρα συνδέονται στο μεσοκυττάριο χώρο μέσω συμπλεγμάτων αποτελούμενων από 1-5 στενές συνδέσεις (tight junctions). Η διάνοιξή τους διευκολύνει τη δίοδο μικρών ουσιών [118, 137, 166, 167], καθιστώντας τη διαπερατότητα του μεσοθηλίου παρόμοια με αυτήν του ενδοθηλίου [7, 25, 209].

Το υπεζωκοτικό υγρό φαίνεται πως αποτελεί ένα μικροαγγειακό φίλτρο που καθαίρεται από τα λεμφαγγεία του υπεζωκότα [114]. Έχουν ανευρεθεί στον τοιχωματικό υπεζωκότα χαρακτηριστικές δομές (<<στόματα>>) μεταξύ των μεσοθηλιακών κυττάρων, τα οποία αποτελούν ανοίγματα άμεσης επικοινωνίας του υπομεσοθηλιακού λεμφικού συστήματος με την υπεζωκοτική κοιλότητα [94, 146, 199, 200].

Οι μηχανισμοί που διέπουν τη διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού είναι: διήθηση διαμέσου του τοιχωματικού και απορρόφηση διαμέσου του σπλαγγχνικού μεσοθηλίου [2, 3], λεμφική παροχέτευση διαμέσου των στομάτων του τοιχωματικού υπεζωκότα [145, 148, 183, 199] και διπλή ηλεκτρολυτική μεταφορά/απορρόφηση διαμέσου των

μεσοθηλιακών ιστών των δύο επιφανειών [4, 6]. Η διαπερατότητα για τις πρωτεΐνες συσχετίζεται με την τελική διυπεζωκοτική κολλοειδωσμοτική πίεση [114, 210]. Η διακυττάρια μεταφορά υγρών και διαλυμάτων, συχνά συμβαίνει διαμέσου ειδικών διαύλων νερού της κυτταρικής μεμβράνης (υδατοπορίνες) και όπως και η παρακυττάρια μεταφορά, απαιτεί αλλαγή της ηλεκτρικής πολικότητας της μεμβράνης [19, 106].

Η υπεζωκοτική τριχοειδική πίεση επηρεάζει την πίεση ισορροπίας για τη διαμεσοθηλιακή ροή του υγρού [22]. Η νεώτερη θεωρία για τη διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού υποθέτει πως η πίεση επιφανείας που επιδρά στην έκπτυξη του πνεύμονα είναι ίση και αντίθετη από την πίεση έκπτυξης του θωρακικού τοιχώματος. Μεταφέρεται με υδραυλικό τρόπο κατά μήκος της υπεζωκοτικής κοιλότητας και είναι ίση με την πίεση του υπεζωκοτικού υγρού. Επομένως, η πίεση επιφανείας του υπεζωκότα αποτελεί το μέγιστο καθοριστή της πίεσης του υπεζωκοτικού υγρού. Η διαφορά ανάμεσα στις κάθετες δυνάμεις της πίεσης επιφανείας του υπεζωκότα και της υδροστατικής πίεσης οδηγεί σε μία δυναμική ροή του υγρού κατά μήκος της υπεζωκοτικής κοιλότητας [108, 110, 112].

Όταν η λεμφική κάθαρση επηρεάζεται, η ισορροπία της διυπεζωκοτικής πίεσης μεταβάλλεται, ή/και η διαπερατότητα του μεσοθηλίου αυξάνεται, επέρχεται αύξηση του όγκου του υπεζωκοτικού υγρού και εμφάνιση υπεζωκοτικής συλλογής [140, 150]. Σε κάποιες υπεζωκοτικές συλλογές παρατηρούνται υψηλά επίπεδα αλδοστερόνης. Αυτές κλινικά παρουσιάζονται σε ασθενείς με συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, κίρρωση του ήπατος με ασκίτη ή νεφρωσικό σύνδρομο.

[162]. Επίσης, σε γυναίκες με καλοήθη υπεζωκοτική συλλογή εγκυμοσύνης, σοβαρό σύνδρομο υπερδιέγερσης ωοθηκών ή σύνδρομο Meigs (ίνωμα ωοθήκης, υδροθώρακας, ασκίτης) ανευρίσκονται υψηλά επίπεδα αλδοστερόνης [46, 47, 56, 77, 116, 130, 205] και αντιδιουρητικής ορμόνης [55].

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να εξετάσει τις επιδράσεις της αλδοστερόνης και της αντιδιουρητικής ορμόνης στη διαπερατότητα του πνευμονικού και τοιχωματικού υπεζωκότα. Επιπλέον, εξετάζεται η δράση της σπειρολακτόνης στη διαπερατότητα του υπεζωκότα, η οποία αποτελεί κλασσικό ενδοκυττάριο ανταγωνιστή της αλδοστερόνης και αναστέλλει τη μακράς περιόδου γονιδιακή δράση της [159].

Πιθανοί μηχανισμοί για τη δράση της αλδοστερόνης και της αντιδιουρητικής ορμόνης στη διαπερατότητα του υπεζωκότα είναι η διακίνηση ιόντων, ή/και η απελευθέρωση οξειδίου του αζώτου. Γι' αυτό, μαζί με τις ορμόνες χρησιμοποιούνται ουσίες όπως η αμιλορίδη (αναστολέας διαύλων  $\text{Na}^+$ , αναστολέας ανταλλαγής  $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ , αναστολέας ανταλλαγής  $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{+2}$ ) [95, 148, 156], η ουαμπαΐνη (αναστολέας της αντλίας  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ) [20, 191] και ο L-NAME ( $\text{N}^{\omega}$ -νίτρο-L-αργινίνη-μέθυλο-εστέρας, αναστολέας της συνθετάσης του οξειδίου του αζώτου) [61, 105].

## ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



## ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ

Ο υπεζωκότας αποτελείται από δύο πέταλα: η μεμβράνη που καλύπτει τον πνεύμονα και τις μεσολόβιες σχισμές είναι το πνευμονικό πέταλο, ενώ η μεμβράνη που καλύπτει το εσωτερικό του θωρακικού κλωβού, το μεσαύλιο και το διάφραγμα είναι το τοιχωματικό πέταλο του υπεζωκότα. Ο πνευμονικός υπεζωκότας μεταπίπτει στον τοιχωματικό υπεζωκότα στις πύλες των πνευμόνων.

Ο Mc Laughlin και συν. [132] ταξινόμησαν τα θηλαστικά σε τρεις ομάδες σύμφωνα με το πάχος του πνευμονικού τους υπεζωκότα: α) **παχέως** υπεζωκότα, π.χ. χοίρος, πρόβατο, αγελάδα, β) **ενδιάμεσου** υπεζωκότα, π.χ. άλογο, άνθρωπος και γ) **λεπτού** υπεζωκότα, π.χ. αρουραίος, κουνέλι, γάτα, σκύλος.

Στο πρόβατο, το πάχος του πνευμονικού υπεζωκότα κυμαίνεται από 25μm στις κορυφαίες περιοχές έως 85μm στις κατώτερες περιοχές (διαφραγματική επιφάνεια) [8]. Αυτή η περιοχική διαφορά σχετίζεται με την κίνηση κατά την αναπνοή [183]. Επίσης στο πρόβατο, ο τοιχωματικός υπεζωκότας είναι μέσου πάχους 23μm [9], ενώ στον άνθρωπο είναι 30-40μm [164].

Η συνολική επιφάνεια του πνευμονικού υπεζωκότα είναι περίπου η ίδια με του τοιχωματικού και κυμαίνεται μεταξύ των διαφόρων ειδών από 220cm<sup>2</sup> (κουνέλι), 1000cm<sup>2</sup> (σκύλος), έως 4000cm<sup>2</sup> (άνθρωπος) [139].

Μεταξύ πνευμονικού και τοιχωματικού υπεζωκότα εκτείνεται η υπεζωκοτική κοιλότητα μέσου πάχους 15-20μm, η οποία εμπεριέχει το υπεζωκοτικό υγρό, η ποσότητα του οποίου κυμαίνεται μεταξύ των

διαφόρων ειδών από 1mL (κουνέλι), έως 2,5mL (πρόβατο, άνθρωπος) [139, 151].

## **Ιστολογία**

Ο υπεζωκότας προέρχεται από τον εξωκυττάριο ιστό κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης [71] και αποτελείται από μία υπερκείμενη στοιβάδα μεσοθηλιακών κυττάρων και μία υποκείμενη στοιβάδα συνδετικού ιστού [8, 90, 131, 183, 198, 200].

Ο υποκείμενος συνδετικός ιστός περιέχει αιμοφόρα αγγεία και λεμφαγγεία [8, 21, 60, 69, 89, 183, 185, 198, 200]. Ίνες (κολλαγόνο τύπου I και III, ελαστίνη) είναι κατανεμημένες με ποικίλλη πυκνότητα, οριοθετώντας τη μεσοκυττάρια ουσία (γλυκοπρωτεΐνες, πρωτεογλυκάνες και νερό), οργανωμένες σε διάφορα επίπεδα. Νερό και διαλύματα ρέουν μέσω ελεύθερων διαύλων μεταξύ των ινών. Ο περιορισμός στη διάχυση νερού και διαλυμάτων, συμπεριλαμβανομένων μακρομορίων, διαμέσου του συνδετικού ιστού είναι αμελητέος [7, 24, 25, 209]. Το πάχος του συνδετικού ιστού που καθορίζει το πάχος μίας ορογόνου επιφάνειας, στα μεσοθηλιακά κύτταρα είναι μόνο 2μm και ποικίλλει ανάλογα με το είδος του ζώου, την ορογόνο επιφάνεια και την περιοχή. Το πάχος του τοιχωματικού υπεζωκότα αυξάνεται με το μέγεθος του ζώου (από ~7μm στο ποντίκι σε 30-40 μm στον άνθρωπο) και είναι ομοιογενές κατά μήκος της υπεζωκοτικής κοιλότητας.

## Μεσοθηλιακά κύτταρα: Δομή και λειτουργίες

Τα κυτταρολογικά, βιοχημικά και δομικά χαρακτηριστικά των μεσοθηλιακών κυττάρων είναι κοινά για όλες τις ορογόνες επιφάνειες των διαφόρων ειδών (άνθρωπος, πρόβατο, χοίρος, σκύλος, κουνέλι) [60, 89, 185, 200]. Σήμερα, τα μεσοθηλιακά κύτταρα αναγνωρίζονται ως ενεργά κύτταρα με πολλές δομικές και μεταβολικές λειτουργίες [13, 54, 69, 90, 103, 200]. Είναι εξοπλισμένα με σημαντικά οργανίδια, εκτενή κυτταροσκελετό, RNA, αποθήκες γλυκογόνου και ένζυμα [54, 90, 185, 200]. Συνθέτουν μακρομόρια του υποκείμενου συνδετικού ιστού και βιολογικά ενεργά μόρια [13, 200]. Αποτελούν δραστικά κύτταρα που απαντούν σε φλεγμονώδεις εξεργασίες με απελευθέρωση κυτταροκινών, αυξητικών παραγόντων και χημειοτακτικών πεπτιδίων [13, 90, 104, 200].

Μία λειτουργία-κλειδί αποτελεί η διαμεσοθηλιακή μεταφορά [69]. Τα μεσοθηλιακά κύτταρα φέρουν κορυφαίες μικρολάχνες [8, 12, 60, 89, 90, 131, 185, 198, 200], αυξάνοντας την επιφάνεια του υπεζωκότα που είναι απαραίτητη για ανταλλαγή και διακυττάρια μεταφορά [126, 200]. Η πυκνότητά τους κυμαίνεται από  $2\text{-}6\mu\text{m}^{-2}$  έως  $30\mu\text{m}^{-2}$  [12, 131] ανάλογα την περιοχή: περισσότερες μικρολάχνες στις κατώτερες παρά στις κορυφαίες περιοχές και στον πνευμονικό παρά στον τοιχωματικό υπεζωκότα [198]. Επίσης, συμβάλλουν στη μείωση των τριβών μεταξύ πνευμονικού και τοιχωματικού υπεζωκότα μέσω γλυκοπρωτεϊνών πλούσιων σε υαλουρονικό οξύ που εκκρίνεται από τα μεσοθηλιακά κύτταρα [12].

Φωσφολιπίδια απορροφώνται στην κορυφαία επιφάνεια των μεσοθηλιακών κυττάρων [83, 84] παρέχοντας λιπαντικό φραγμό, απαραίτητο για την αργή υπεζωκοτική κίνηση, σε σημεία όπου δεν μπορεί να διεισδύσει υπεζωκοτικό υγρό μεταξύ των κυττάρων και μειώνοντας τη διαμεσοθηλιακή διαπερατότητα [25, 209], όπως συμβαίνει στα επιθήλια [85]. Τα μεσοθηλιακά κύτταρα συνδέονται στο μεσοκυττάριο χώρο μέσω συμπλεγμάτων αποτελούμενων από 1-5 στενές συνδέσεις (**tight junctions**) εύρους 8-9 nm, παρόμοιων με του μικροαγγειακού ενδοθηλίου [200].

Μορφολογικά, δύο είδη κυττάρων έχουν περιγραφεί για το μεσοθήλιο του υπεζωκότα: τα επίπεδα κύτταρα που είναι περισσότερα και έχουν καλά αναπτυγμένες στενές συνδέσεις και τα κυβοειδή κύτταρα που είναι λιγότερα σε αριθμό και έχουν λιγότερες στενές συνδέσεις. Η διάνοιξη αυτών των συνδέσεων διευκολύνει τη δίοδο μικρών ουσιών [118, 137, 166, 167], συμπεραίνοντας πως η διαπερατότητα του μεσοθηλίου για μικρές ουσίες είναι παρόμοια με αυτήν του μικροαγγειακού ενδοθηλίου [7, 25, 209].

Πολυάριθμα ελεύθερα κυτταροπλασματικά μόρια, διαμέτρου 40-60 nm, παρατηρούνται μέσα στα μεσοθηλιακά κύτταρα [60, 69, 89, 90, 131, 185, 198, 200], πολλά από τα οποία ευθύνονται για ενδοκύττωση ρυθμιζόμενη μέσω υποδοχέων [90]. Ανάλογα με αυτά που είναι γνωστά για το ενδοθήλιο [137], οι έρευνες δίνουν έμφαση τα τελευταία χρόνια στο ρόλο του μεσοθηλίου για πρωτεϊνική μεταφορά και ανταλλαγή κατά μήκος του υπεζωκότα [69, 90, 198, 200].

## Αιμάτωση

Η παροχή αίματος στον πνευμονικό υπεζωκότα εξαρτάται από την ομάδα πάχους του. Τα μικρά θηλαστικά που ανήκουν στην ομάδα του λεπτού πνευμονικού υπεζωκότα (~15-35μm) τροφοδοτούνται από τις πνευμονικές αρτηρίες (γάτα, σκύλος, κουνέλι) [21]. Τα μεγαλύτερα θηλαστικά ενδιάμεσου και παχέως πνευμονικού υπεζωκότα (άνθρωπος, πρόβατο, χοίρος) τροφοδοτούνται από τις συστηματικές βρογχικές αρτηρίες [8, 21, 45].

Αυτή η διαφορά πάχους υπεζωκότα συνήθως αναφέρεται στους κατώτερους λοβούς, αφού ακόμη και στο ίδιο είδος ποικίλλει ανάλογα με την περιοχή: στο πρόβατο, το πάχος είναι 15-86μm στις κατώτερες περιοχές και 9-27μm στις μεσαίες και κορυφαίες [8, 183]. Όμως, η υπεζωκοτική τριχοειδική πίεση, η οποία επηρεάζει την πίεση ισορροπίας για τη διαμεσοθηλιακή ροή υγρού, είναι παρόμοια στα είδη παχέως και λεπτού υπεζωκότα, αφού και στις δύο περιπτώσεις τα τριχοειδή παροχετεύουν στις χαμηλής πίεσης πνευμονικές φλέβες [22].

## Λεμφική κυκλοφορία

Στον τοιχωματικό υπεζωκότα των κατώτερων τμημάτων του μεσαυλίου, των κατώτερων μεσοπλεύριων διαστημάτων και του διαφράγματος, το υπομεσοθηλιακό λεμφικό σύστημα επικοινωνεί άμεσα με την υπεζωκοτική κοιλότητα διαμέσου ανοιγμάτων μεταξύ των μεσοθηλιακών κυττάρων («**στόματα**») [94, 146, 199, 200]. Το εκτεταμένο υπομεσοθηλιακό λεμφικό δίκτυο παροχετεύει τη λέμφο μέσα στο φλεβικό δίκτυο, η οποία ρέει προς το δεξιό θωρακικό πόρο

[146, 176], μέσω μεσοπλεύριων και μεσαυλιακών λεμφαγγείων. Η διάμετρος των στομάτων ποικίλλει από 1-6 $\mu\text{m}$  [199] και αυξάνει με την εισπνευστική κίνηση [146]. Η πυκνότητά τους ποικίλλει μεταξύ των ειδών: 1-80 $\text{mm}^{-2}$  στο κουνέλι [146, 199], 300-400 $\text{mm}^{-2}$  στο ποντίκι [94], 1000-2000 $\text{mm}^{-2}$  στο πρόβατο [183]. Επίσης, η πυκνότητα των στομάτων ποικίλλει ανάλογα με την περιοχή του τοιχωματικού υπεζωκότα, π.χ. στο κουνέλι είναι ~80 φορές πιο πυκνά στο διαφραγματικό παρά στο μεσοπλεύριο υπεζωκότα, ενώ απουσιάζουν στις κορυφαίες περιοχές [146, 199].

Πρόσφατα, λεμφικά στόματα ανευρέθησαν και στον ανθρώπινο υπεζωκότα [161]. Τα στόματα είναι η μόνη δίοδος για κυτταρική και μοριακή έξοδο, ενώ οι πρωτεΐνες θα μπορούσαν να εξέλθουν από την υπεζωκοτική κοιλότητα και μέσω παθητικής διάχυσης ή εξωκυττάρωσης [3, 5, 29]. Στόματα δεν ανευρίσκονται στον πνευμονικό υπεζωκότα [198, 200]. Έτσι, δεν υπάρχει άμεση επικοινωνία μεταξύ της υπεζωκοτικής κοιλότητας και του πλούσιου δικτύου των υπομεσοθηλιακών λεμφαγγείων που καλύπτουν την πνευμονική επιφάνεια. Αυτό το σύστημα συλλέγει τις πρωτεΐνες και μέρος του υγρού που διασχίζει τον πνευμονικό υπεζωκότα, ρέει προς τα περιβρογχοαγγειακά λεμφαγγεία και τελικά παροχετεύεται μέσα στο δεξιό θωρακικό πόρο μέσω του μεσαυλιακού λεμφικού συστήματος [210].

## ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ

Το υπεζωκοτικό υγρό αποτελεί αντικείμενο μακροχρόνιας έρευνας και διχογνωμίας μεταξύ των μελετητών. Η κατανόηση των μηχανισμών φυσιολογίας που διέπουν την υπεζωκοτική κοιλότητα είναι μεγάλης σημασίας για τους εξής λόγους:

A) Το ποσό του υπεζωκοτικού υγρού αυξάνεται σε ορισμένες φυσιολογικές συνθήκες, σε μερικές νόσους του αναπνευστικού και σε κάποιες νόσους άλλων συστημάτων.

B) Η κλινική εξέταση μπορεί να αποκαλύψει μία υπεζωκοτική συλλογή.

Γ) Η λήψη του υπεζωκοτικού υγρού και η εξέτασή του είναι εύκολη.

Δ) Η διάγνωση της νόσου αποκαλύπτεται συνήθως, μετά την εξέταση του υπεζωκοτικού υγρού.

Σε κάθε χρονική στιγμή, το ποσό του υπεζωκοτικού υγρού μέσα στην υπεζωκοτική κοιλότητα των θηλαστικών, εξαρτάται από την επίδραση της πνευμονικής και συστηματικής κυκλοφορίας, της λεμφικής παροχέτευσης, της μηχανικής του θωρακικού κλωβού, της βαρύτητας, της στάσης του σώματος, των καρδιακών και αναπνευστικών κινήσεων. Το αποτέλεσμα είναι η συνεχής διακίνηση διαμέσου μεσοθηλίου του υπεζωκοτικού υγρού, το οποίο λειτουργεί ως λιπαντικό μεταξύ πνευμονικού και τοιχωματικού υπεζωκότα, ώστε οι πνεύμονες να μετακινούνται στη διάρκεια της αναπνοής με όσο το δυνατό μικρότερο όγκο υγρού στην υπεζωκοτική κοιλότητα [114].

Το υπεζωκοτικό υγρό φαίνεται πως αποτελεί ένα μικροαγγειακό φίλτρο που καθαίρεται από τα λεμφαγγεία του υπεζωκότα, διαδικασία

παρόμοια με αυτήν του διάμεσου χώρου και άλλων οργάνων του σώματος των θηλαστικών [114].

## **Σύντομη ιστορική αναδρομή**

Η μεταφορά των δυνάμεων μεταξύ θωρακικού τοιχώματος και πνεύμονα κατά μήκος της υπεζωκοτικής κοιλότητας, επιχειρήθηκε να εξηγηθεί από δύο διαφορετικές θεωρίες.

Αρχικά, ο Setnikar και συν.[174] και ο Agostoni και συν.[1] υπέθεσαν πως το υπεζωκοτικό υγρό, παρόμοια με το τριχοειδικό αίμα, βρίσκεται σε υδροστατική ισορροπία με την κάθετη δύναμη πίεσης ίση με 1cm H<sub>2</sub>O/cm ύψους. Υπέθεσαν πως η υδροστατική ισορροπία επιτυγχάνεται μέσω απορρόφησης του υπεζωκοτικού υγρού από το αίμα, μέχρι να συμβεί εξισορρόπηση των υδροστατικών και κολλοειδωσμοτικών δυνάμεων ανάμεσά τους. Η πίεση απορρόφησης υπολογίσθηκε σε -11cm H<sub>2</sub>O χαμηλότερη από την πίεση επιφανείας που απαιτείται για να ισορροπήσει ο πνεύμονας στον τελοεκπνευστικό του όγκο. Η διαφορά μεταξύ πίεσης υπεζωκοτικού υγρού και πίεσης επιφανείας εξαρτάται από τα σημεία επαφής ανάμεσα στον πνευμονικό και τοιχωματικό υπεζωκότα. Αυτή η θεωρία των μηχανισμών της υπεζωκοτικής κοιλότητας υπήρξε το επίκεντρο πολλών ερευνών από τον Agostoni και συν.[2, 3, 5, 6].

Η δεύτερη νεώτερη θεωρία [108, 110, 112], υποθέτει πως η πίεση επιφανείας που επιδρά στην έκπτυξη του πνεύμονα είναι ίση και αντίθετη από την πίεση έκπτυξης του θωρακικού τοιχώματος και μεταφέρεται με υδραυλικό τρόπο κατά μήκος της υπεζωκοτικής



κοιλότητας, ενώ ταυτόχρονα ισούται με την πίεση του υπεζωκοτικού υγρού. Έτσι, η πίεση επιφανείας του υπεζωκότα αποτελεί το μέγιστο καθοριστή της πίεσης του υπεζωκοτικού υγρού. Η διαφορά ανάμεσα στις κάθετες δυνάμεις της πίεσης επιφανείας του υπεζωκότα και της υδροστατικής πίεσης οδηγεί σε μία δυναμική ροή του υγρού κατά μήκος της υπεζωκοτικής κοιλότητας.

### **Σύντομη αναφορά στους νόμους που διέπουν τη φυσιολογία της υπεζωκοτικής κοιλότητας**

- (1)  $\sigma = \nu V / h$ . Νόμος του Newton της κολλοειδωσμοτικότητας. Αναφέρεται στη λίπανση του υπεζωκοτικού υγρού, ώστε ο πνεύμονας να γλυστράει μέσα στο θωρακικό τοίχωμα κατά τη διάρκεια της αναπνοής, με τρόπο που η τριβή μεταξύ των υπεζωκοτικών επιφανειών να είναι αμελητέα. Η μείωση της τριβής ( $\sigma$ ) του υπεζωκοτικού υγρού μέσα στο θωρακικό τοίχωμα, σχετίζεται με την ταχύτητα ( $V$ ), την κολλοειδωσμοτικότητα ( $\nu$ ) και το πάχος ( $h$ ) του υπεζωκοτικού υγρού [27].
- (2)  $pg - dP / dz = 12\nu Q / (L h^3)$ . Αναφέρεται στην κυκλοφορία του υπεζωκοτικού υγρού. Η μηχανική των υγρών συσχετίζει την πίεση ( $P$ ) του υγρού με τη ροή ( $Q$ ) προς τα κάτω, στην κατεύθυνση της βαρύτητας [108, 110, 112].  $dP / dz$  είναι η δύναμη της πίεσης στην προς τα κάτω  $z$  κατεύθυνση,  $pg$  είναι η δύναμη της βαρύτητας ανά μονάδα ύψους που επιδρά στο υγρό και  $L$  είναι η πλάγια κατεύθυνση. Όταν οι απώλειες της

δυναμικής πίεσης που οφείλονται στη ροή ανά μονάδα ύψους είναι αμελητέες, τότε  $dP / dz = \rho g$ , σύμφωνα με το νόμο του Pascal για ένα υγρό σε ηρεμία.

(3)  $h = (T / \Delta P) v (U / T)^{2/3}$ . Αναφέρεται στο ρόλο της αναπνευστικής αντλίας στις εγκάρσιες ροές του υπεζωκοτικού υγρού. Το πάχος του υπεζωκοτικού υγρού ( $h$ ) σχετίζεται με την ταχύτητα του πνεύμονα ( $U$ ) και με τη διαφορά πίεσης ( $\Delta P$ ) μεταξύ υπεζωκοτικής επιφάνειας - πνευμονικών λοβών κατά τη διάρκεια της αναπνοής, όπου  $T$  είναι η τάση της μεμβράνης. In vivo μελέτες συμπεραίνουν πως το πάχος του υπεζωκοτικού υγρού αυξάνεται με την αναπνοή [33].

(4)  $Q_b = LA (P_c - P_{pl}) - \sigma_o (\pi_c - \pi_{pl})$ . Ο νόμος του Starling [182] συσχετίζει το ρυθμό διήθησης ( $Q_b$ ) κατά μήκος του τριχοειδικού ενδοθηλιακού φραγμού με την υδροστατική πίεση ( $P$ ) και την κολλοειδωσμοτική πίεση ( $\pi$ ) διαφοράς μεταξύ τριχοειδικού αίματος και υπεζωκοτικού υγρού, όπου  $c$  και  $p_l$  αντιστοιχούν στο μικροαγγειακό και υπεζωκοτικό υγρό αντίστοιχα,  $L$  είναι η υδραυλική αγωγιμότητα,  $A$  η περιοχή επιφάνειας και  $\sigma_o$  η δύναμη ανάκλασης που συνεπικουρεί στο πρωτεϊνικό φορτίο μέσω του φραγμού ενδοθηλίου-διάμεσου χώρου.

(5)  $Q_s = C_m (1 - \sigma d) Q_b + DA (C_c - C_{pl}) / l$ . Η εξίσωση των διαλυμάτων ροής [41, 111] αναφέρεται στη ροή ενός διαλύματος κατά μήκος του φραγμού ενδοθηλίου - διάμεσου χώρου, όπου  $C_m$  είναι η μέση συγκέντρωση διαλύματος στη μεμβράνη,  $\sigma d$  είναι η συνεπικουρος δύναμη ανάκλασης του

διαλύματος,  $D$  είναι η συνεπίκουρος διάχυση,  $A$  είναι η περιοχή επιφανείας της μεμβράνης,  $l$  είναι το πάχος της μεμβράνης και  $C$  είναι η συγκέντρωση του διαλύματος.

(6)  $1/L_o = (1/L_c) + (1/L_i)$ . Αναφέρεται στην υδραυλική αγωγιμότητα. Καθώς η ροή κατά μήκος του ενδοθηλίου και του διάμεσου χώρου είναι σε σειρά, οι αντιστάσεις ροής τους προστίθενται. Τα σύμβολα  $o$ ,  $c$ ,  $i$  αντιστοιχούν στην ολική, ενδοθηλιακή και διάμεσου χώρου υδραυλική αγωγιμότητα, αντίστοιχα.

(7)  $1 / (L_o \sigma_o) = 1 / (L_c \sigma_c) + 1 / (L_i \sigma_i)$ .

(8)  $\sigma_o / \sigma_c = (1 + L_c/L_i) / [1 + (L_c/L_i) (\sigma_c/\sigma_i)]$ .

Αναφέρονται στη συνεπίκουρο ανάκλαση. Η ωσμωτική πίεση της πρωτεΐνης που εξέρχεται κατά μήκος του τριχοειδικού ενδοθηλίου και του διάμεσου χώρου του υπεζωκότα εξαρτάται από τη συνολική δύναμη συνεπίκουρης ανάκλασης των δύο ιστών. Το ενδοθήλιο αποτελεί τον πρωτογενή φραγμό για τη μεταφορά της πρωτεΐνης μέσα στην υπεζωκοτική κοιλότητα.

(9)  $1 / Pe_o = 1 / Pe_c + 1 / Pe_i$ . Αναφέρεται στη διαπερατότητα διάχυσης. Η συνολική διαπερατότητα ( $Pe_o$ ) συσχετίζεται με αυτήν του διάμεσου χώρου ( $Pe_i$ ) και του ενδοθηλίου ( $Pe_c$ ). Οι μελέτες δείχνουν πως το ενδοθήλιο επικρατεί στο συνολικό φραγμό διάχυσης [99, 100].

(10)  $h \sim M^{0,20}$ . Αναφέρεται στη σχέση αλλομετρίας [179, 181] μεταξύ του πάχους του υπεζωκοτικού υγρού ( $h$ ) και της μάζας σώματος του θηλαστικού ( $M$ ) [109].

## ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ

### Υπεζωκοτικό υγρό

Το υπεζωκοτικό υγρό αποτελεί το μικροαγγειακό φίλτρο που καθαίρεται από τα λεμφαγγεία του υπεζωκότα, ο όγκος του οποίου κυμαίνεται από 1ml (κουνέλι) έως 2,5 ml (πρόβατο, άνθρωπος) [139, 151]. Η σύσταση του υπεζωκοτικού υγρού προέρχεται από τη διήθηση του πλάσματος μεταξύ δύο μεμβρανών με παρόμοια χαρακτηριστικά, του τριχοειδικού ενδοθηλίου και του μεσοθηλίου του τοιχωματικού υπεζωκότα [7, 24, 25, 147, 149, 209].

Η συγκέντρωση πρωτεϊνών στο υπεζωκοτικό υγρό και η αναλογία της με αυτήν του πλάσματος είναι χαμηλή, γεγονός που υποδηλώνει χαμηλή διαπερατότητα του υπεζωκότα ως προς την πρωτεΐνη, ενώ μειώνεται ακόμη περισσότερο με την αύξηση του μεγέθους του θηλαστικού και με την ηλικία. Αυτό οφείλεται στην αύξηση της συχνότητας διήθησης που προκαλείται από την αυξημένη συστηματική αγγειακή πίεση και τη μειωμένη πίεση υπεζωκοτικού υγρού, καθώς και στη λεμφική παροχέτευση [30, 111, 140]. Η συγκέντρωση πρωτεϊνών στο υπεζωκοτικό υγρό ποικίλλει από 0,9-2,5g/dL και η αναλογία της με αυτήν του πλάσματος είναι ~0,17 - 0,5 [30, 31, 111, 139, 170, 206]. Η συγκέντρωση πρωτεϊνών του υγρού αυξάνεται με τον αερισμό, υποθέτοντας έτσι πως αυξάνεται η διαπερατότητα του υπεζωκότα [113]. Η αλβουμίνη αποτελεί το μεγαλύτερο τμήμα των ολικών πρωτεϊνών του υπεζωκοτικού υγρού σε σχέση με το πλάσμα [111, 139].

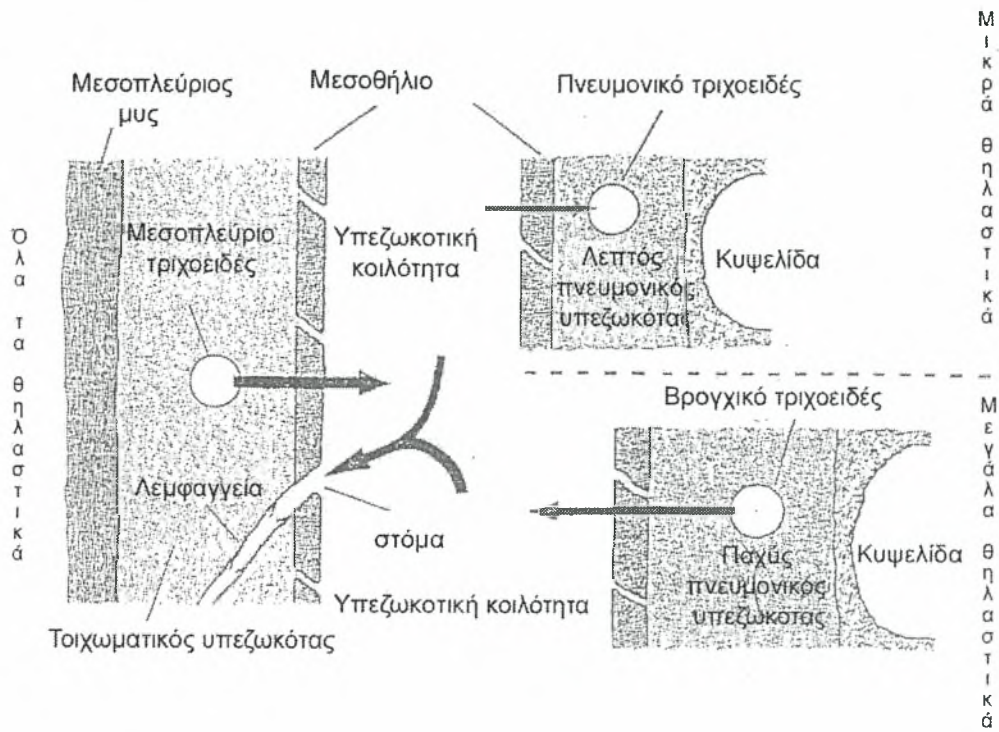
Η συγκέντρωση  $\text{Na}^+$  είναι χαμηλότερη και η συγκέντρωση  $\text{HCO}_3^-$  υψηλότερη στο υπεζωκοτικό υγρό από ό,τι στον ορό, το pH είναι υψηλότερο από αυτό του ορού (~7,6), η συγκέντρωση  $\text{Cl}^-$  είναι χαμηλότερη από του ορού και η συγκέντρωση γλυκόζης παρόμοια με αυτήν του ορού [170, 208].

Το φυσιολογικό ανθρώπινο υπεζωκοτικό υγρό περιέχει περίπου 1700 κύτταρα/ $\text{mm}^3$ , 75% μακροφάγα, 23% λεμφοκύτταρα και 1% μεσοθηλιακά κύτταρα. Πολυμορφοπύρνα λευκοκύτταρα μπορεί να προσεγγίζουν την υπεζωκοτική κοιλότητα από τα υπεζωκοτικά τριχοειδή, λεμφοκύτταρα επίσης, διαμέσου των λεμφικών στομάτων, ενώ μονοκύτταρα/μακροφάγα μπορεί να προέρχονται από τα μεσοθηλιακά κύτταρα, με τα οποία μοιράζονται μία κοινή μεσοδερμική καταγωγή [151].

### **Διακίνηση υπεζωκοτικού υγρού υπό φυσιολογικές συνθήκες**

Ο όγκος του υπεζωκοτικού υγρού είναι το αποτέλεσμα εξισορρόπησης ενδογενούς και εξωγενούς ροής που επιτυγχάνεται μέσω του νόμου του Starling: διήθηση διαμέσου του τοιχωματικού και απορρόφηση διαμέσου του σπλαχνικού μεσοθηλίου [2, 3], λεμφική παροχέτευση διαμέσου των στομάτων του τοιχωματικού υπεζωκότα [145, 148, 183, 199] και διπλή ηλεκτρολυτική μεταφορά/απορρόφηση διαμέσου του μεσοθηλίου και των δύο επιφανειών [4, 6] (Εικόνα 1). Η διαπερατότητα στην πρωτεΐνη σχετίζεται με την τελική δια-υπεζωκοτική κολλοειδωσμοτική πίεση (Εικόνα 2).

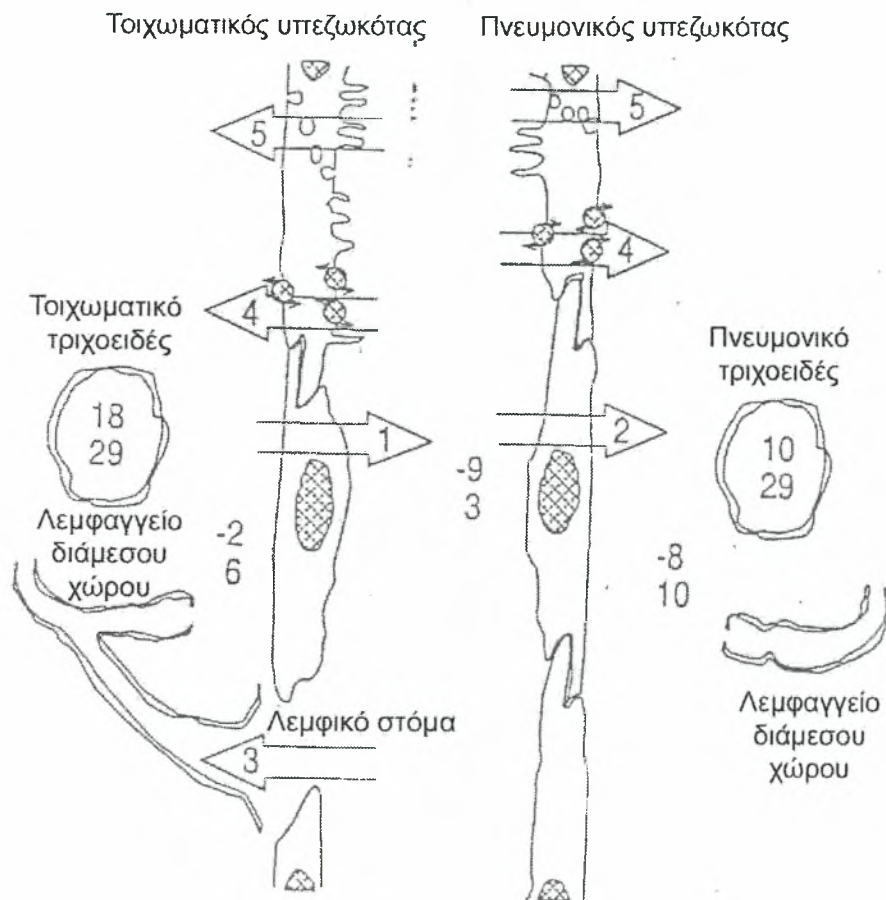
Στην εικόνα 1 διαφαίνεται η φυσιολογική ροή του υπεζωκοτικού υγρού. Σε όλα τα θηλαστικά, μικρά και μεγάλα, το υπεζωκοτικό υγρό αποτελεί το κύριο φίλτρο διήθησης των τριχοειδών του τοιχωματικού υπεζωκότα κατά μήκος του θωρακικού τοιχώματος. Στα μεγάλα είδη με παχύ σπλαγγνικό υπεζωκότα, κάποια ποσότητα του υπεζωκοτικού υγρού διηθείται από τα βρογχικά τριχοειδή του σπλαγγνικού υπεζωκότα κατά μήκος του πνεύμονα. Στα μικρά είδη με λεπτό σπλαγγνικό υπεζωκότα, μικρή ποσότητα του υπεζωκοτικού υγρού επαναρροφάται από τα πνευμονικά τριχοειδή. Η παροχέτευση του υπεζωκοτικού υγρού από την υπεζωκοτική κοιλότητα γίνεται διαμέσου των λεμφικών στομάτων του τοιχωματικού υπεζωκότα. Η υπεζωκοτική κοιλότητα, ο σπλαγγνικός υπεζωκότας και οι κυψελίδες είναι παχύτερα στα μεγάλα θηλαστικά από ό,τι στα μικρά θηλαστικά [114].



**Εικόνα 1.** Σχηματικό διάγραμμα των οδών φυσιολογικής ανταλλαγής του υπεζωκοτικού υγρού. Τα βέλη υποδεικνύουν την κατεύθυνση της ροής. (Προσαρμοσμένο κατά Lai-Fook SJ, 2004).

Στην εικόνα 2 σκιαγραφείται η δια-υπεζωκοτική ροή του υγρού. Μεσοθηλιακά κύτταρα και συνορεύοντες διάμεσοι χώροι, με ενσωματωμένα τριχοειδή και λεμφαγγεία είναι εμφανή σε κάθε πλευρά. Επίσης, είναι εμφανής η διήθηση τύπου Starling στον τοιχωματικό υπεζωκότα, η απορρόφηση τύπου Starling στον πνευμονικό υπεζωκότα, η άμεση κάθαρση διαμέσου των λεμφικών στομάτων, η ροή υγρού διπλής μεταφοράς ηλεκτρολυτών και η ροή υγρού μεταφοράς κυστιδίων που συνοδεύουν τη διακύττωση πρωτεϊνών. Απεικονίζεται επίσης, η ισορροπία Starling μεταξύ υδραυλικών και κολλοειδωσμοτικών πιέσεων. Οι υδραυλικές πιέσεις αναφέρονται στο επίπεδο της καρδιάς: πρόκειται για λειτουργικές μέσες τιμές των τριχοειδών και για μέσους όρους τιμών του υπεζωκοτικού υγρού κατά τη διάρκεια μίας αναπνευστικής κίνησης, ενώ οι τιμές των διάμεσων ιστών είναι έμμεσες και αβέβαιες. Οι κολλοειδωσμοτικές πιέσεις του διάμεσου χώρου είναι επίσης αβέβαιες [210].





**Εικόνα 2.** Σχηματική αναπαράσταση της διυπεζωκοτικής ροής του υγρού (μεγάλα βέλη) υπό φυσιολογικές συνθήκες στο κουνέλι. Τα μεσοθηλιακά κύτταρα της κορυφής εμφανίζουν κυτταρικούς μηχανισμούς που παίρνουν μέρος στην ανταλλαγή του υπεζωκοτικού υγρού [μικρολάχνες, κυστίδια, μεταφορείς ιόντων (διαγεγραμμένοι κύκλοι)]. 1: Διήθηση τύπου Starling 2: Απορρόφηση τύπου Starling. 3: Άμεση κάθαρση διαμέσου των λεμφικών στομάτων. 4: Ροή υγρού διπλής μεταφοράς ηλεκτρολυτών. 5: Ροή υγρού μεταφοράς κυστιδίων που συνοδεύουν τη διακύττωση πρωτεϊνών. Τα ζεύγη των αριθμών αποτελούν την υδραυλική (πάνω αριθμός) και την κολλοειδωσμοτική (κάτω αριθμός) πίεση σε cmH<sub>2</sub>O συμπεριλαμβάνοντας την ισορροπία Starling, από αριστερά προς τα δεξιά ως εξής: τοιχωματικό τριχοειδές, τοιχωματικός διάμεσος χώρος, υπεζωκοτικό υγρό, σπλαγγνικός διάμεσος χώρος, σπλαγγνικό τριχοειδές. (Προσαρμοσμένο κατά Zocchi L, 2002).

Η μεταφορά υγρών και διαλυμάτων σε κυτταρικό επίπεδο, συχνά περιγράφεται να συμβαίνει διαμέσου διαύλων νερού («πόροι»). Η θεωρία των πόρων ως προς τη διαπερατότητα διαμορφώθηκε για το μικροαγγειακό ενδοθήλιο από τον Pappenheimer και συν. [137, 158]. Σε αυτό το μοντέλο, μικρές ουσίες μεγέθους ινουλίνης διηθούνται διαμέσου μικρών πόρων ακτίνας 4-5 nm, που αντιπροσωπεύουν σχισμές στις ενδοκυττάρειες συνδέσεις. Αρκετά μεγάλα μακρομόρια χρησιμοποιούν μεγάλους πόρους ακτίνας 20-30 nm, λιγότερους σε αριθμό από τους μικρούς πόρους (1:1000 έως 1:4000), που μπορεί να είναι είτε αληθινά ανοίγματα, είτε να δημιουργούνται λόγω παροδικής κυτταρικής διακύττωσης [136, 137]. Η διακύττωση συνεισφέρει στη μεταφορά όλων των μορίων και είναι σημαντική ιδίως για τη μεταφορά μεγάλων μακρομορίων.

Επιπρόσθετα σε αυτές τις οδούς, το νερό επίσης ρέει διαμέσου ειδικών διαύλων της κυτταρικής μεμβράνης (**υδατοπορίνες**). Η γραφική ανάλυση επιτρέπει τον υπολογισμό του μεγέθους των πόρων από τις μετρήσεις της διαπερατότητας [98, 115, 118, 137, 158, 160, 166, 167]. Αν και το δομικό μοντέλο των παραπάνω οδών πιθανώς να είναι πιο περίπλοκο [137], το μοντέλο των πόρων αποτελεί μία χρήσιμη λειτουργική απλοποίηση.

## **Υπεζωκοτικές συλλογές**

Όταν η διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού διαταράσσεται, με αποτέλεσμα την αύξηση του όγκου του, τότε δημιουργείται υπεζωκοτική συλλογή. Για παράδειγμα, όταν ο ρυθμός διήθησης

υπερβαίνει τη δυναμική για αύξηση της απορρόφησης, ή όταν ένας από τους μηχανισμούς απορρόφησης πρωτοπαθώς μεταβάλλεται, οι επικουρικοί μηχανισμοί ενεργοποιούνται με αποτέλεσμα να επέλθει κορεσμός του λεμφικού μηχανισμού [140, 150]. Απορρόφηση μεγάλων υπεζωκοτικών συλλογών είναι πιθανή, μόνο όταν το ισοζύγιο των πιέσεων Starling, η λεμφική κάθαρση και/ή τα χαρακτηριστικά διαπερατότητας επιστρέψουν σε φυσιολογικές συνθήκες. Αρκετές καταστάσεις μπορεί να διαταράσσουν την ισορροπία των δυνάμεων που εμπλέκονται στη μεταφορά του υγρού κατά μήκος του υπεζωκότα, οδηγώντας σε ανισορροπία μεταξύ συχνότητας παραγωγής και συχνότητας επαναρρόφησης του.

Εκτενείς έρευνες της παθοφυσιολογίας των υπεζωκοτικών συλλογών είναι διαθέσιμες [23, 91, 101, 120, 171]. Τα αίτιά τους μπορούν να υποδιαιρεθούν σε τρεις κύριες υποκατηγορίες : 1) Αυτά που μεταβάλλουν την ισορροπία της διυπεζωκοτικής πίεσης. 2) Αυτά που επηρεάζουν τη λεμφική κάθαρση. 3) Αυτά που προάγουν την αύξηση της διαπερατότητας του μεσοθηλίου και του τριχοειδικού ενδοθηλίου.

Παράγοντες που μεταβάλλουν την ισορροπία των δυνάμεων Starling είναι γενικά εξωυπεζωκοτικοί, εκείνοι που μειώνουν τη λεμφική κάθαρση, πιθανόν πρωτοπαθώς να περιλαμβάνουν είτε ενδοϋπεζωκοτικά, είτε εξωυπεζωκοτικά λεμφαγγεία, ενώ εκείνοι που προκαλούν απώλεια της μεμβρανικής εκλεκτικότητας, υποχρεωτικά περιλαμβάνουν το μεσοθήλιο του υπεζωκότα. Εκτός από την πρώτη περίπτωση, η συγκέντρωση πρωτεϊνών του υπεζωκοτικού υγρού αυξάνεται πάνω από το φυσιολογικό: αυτό το χαρακτηριστικό

επιτρέπει την ταξινόμηση των υπεζωκοτικών συλλογών σε διδρώματα (με φυσιολογική συγκέντρωση πρωτεΐνης) και εξιδρώματα.

Στην κλινική πράξη, ο διαχωρισμός των διδρωμάτων από τα εξιδρώματα γίνεται μέσω των κριτηρίων που παρουσιάστηκαν από τον Light και συν.[120]: τα εξιδρώματα έχουν συγκέντρωση πρωτεΐνης υγρού/πλάσματος  $> 0,5$ , LDH υγρού/ορού  $> 0,6$  ή LDH υγρού  $> 2/3$  του ανώτερου ορίου για τη φυσιολογική τιμή του ορού. Εκτός από την εμφανή απώλεια της υπεζωκοτικής εκλεκτικότητας για τα μακρομόρια, αυτά τα κριτήρια αντιπροσωπεύουν και τη φλεγμονή που συχνά συνοδεύει τα εξιδρώματα. Πραγματικά, η συγκέντρωση των κυττάρων συχνά είναι αυξημένη στα εξιδρώματα [14, 103], κυρίως των πολυμορφοπύρηνων λευκοκυττάρων, καθώς επίσης και τα επίπεδα της γλυκόζης, του pH, της αμυλάσης, της ADA [40, 175], των ερυθροκυττάρων, των λιπιδίων και των ανοσοσφαιρινών.

Τα κλινικά αίτια των υπεζωκοτικών συλλογών [204] αναγράφονται στον Πίνακα 1.

---

---

## ΔΙΔΡΩΜΑΤΑ

---

Συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια	Υπερχορήγηση υγρών
Συμπιεστική περικαρδίτιδα	Υπολευκοματιναιμία
Κίρρωση ήπατος – Ασκίτης	Περιτοναϊκή διύλιση
Απόφραξη άνω κοίλης φλέβας	Ατελεκτασία
Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια	Νεφρωσικό σύνδρομο

---

## ΕΞΙΔΡΩΜΑΤΑ

---

<b>Πνευμονικές λοιμώξεις</b>	<b>Οισοφαγική ρήξη</b>
βακτήρια	<b>Νεοπλάσματα</b>
μυκοβακτηρίδιο TB	πνεύμονα
ιοί	μαστού
μύκητες	λέμφωμα
παράσιτα	μεσοθηλίωμα
<b>Αποστήματα</b>	μεταστατικό
υποδιαφραγματικό	<b>Αιμοθώρακας</b>
ήπατος – σπληνός	<b>Χυλοθώρακας</b>
<b>Ανοσολογικά αίτια</b>	<b>Παγκρεατίτιδα</b>
ρευματοειδής αρθρίτιδα	<b>Αμιάντωση</b>
συστηματικός ερυθρεματώδης λύκος	<b>Ιατρογενή</b>
σύνδρομο Sjogren	ακτινοβολία
<b>Ουραιμία</b>	επεμβάσεις
<b>Σύνδρομο υπερδιέγερσης ωοθηκών</b>	φάρμακα

---

## ΔΙΔΡΩΜΑΤΑ/ΕΞΙΔΡΩΜΑΤΑ

---

Σαρκοείδωση	Πνευμονική εμβολή
Μυξοίδημα	Σύνδρομο Meigs
Καλοήθης υπεζωκοτική συλλογή εγκυμοσύνης	

---

---

Πίνακας 1: Αίτια υπεζωκοτικών συλλογών.

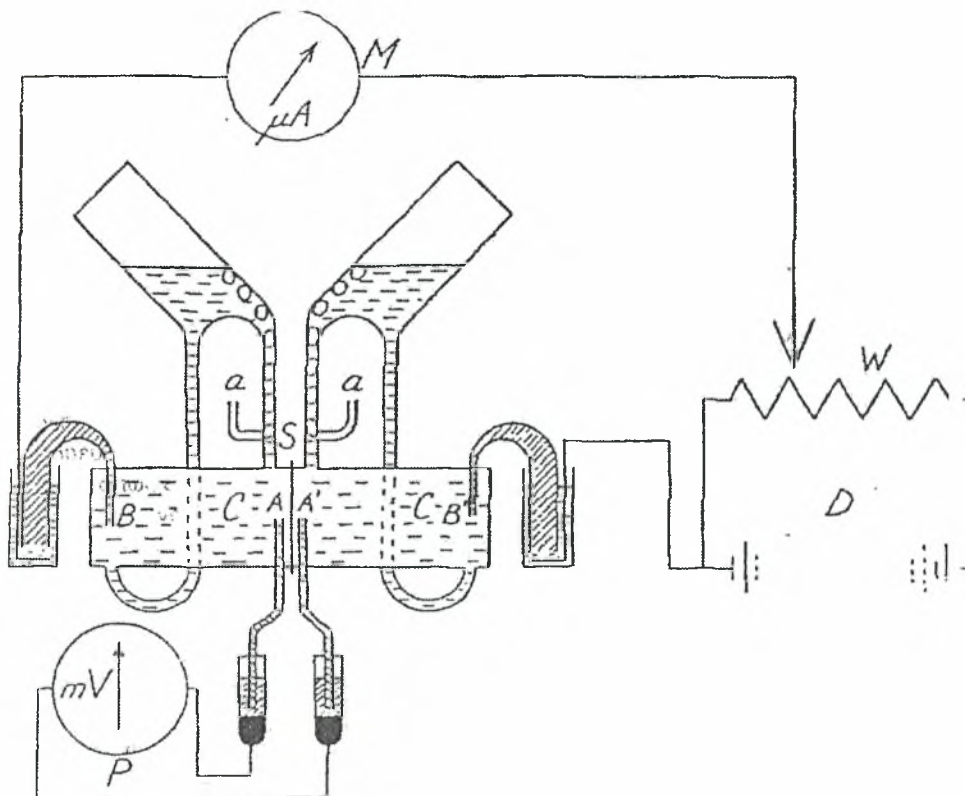
## ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ

Οι βασικοί μηχανισμοί με τους οποίους διακινούνται ουσίες και υγρά διαμέσου της φωσφολιπιδικής διπλοστοιβάδας της κυτταρικής μεμβράνης, είναι η παθητική διάχυση, η ενεργητική μεταφορά και η μεταφορά μέσω επιθηλίων/ενδοθηλίων/μεσοθηλίων. Η τελευταία απαιτεί αλλαγή της ηλεκτρικής πολικότητας της κυτταρικής μεμβράνης και μπορεί να συμβεί είτε μέσα από τα κύτταρα (**διακυττάρια οδός**), είτε ανάμεσα από τα κύτταρα (**παρακυττάρια οδός**) [19, 106].

### Μελέτη διαπερατότητας βιολογικών μεμβρανών

Μία κλασική μέθοδος μελέτης της διαπερατότητας των βιολογικών μεμβρανών είναι η μέθοδος Ussing System [43, 51, 187]. Η αντλία  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  και η ενεργητική μεταφορά αναδείχθηκαν μέσω των ερευνών του Hans Ussing σε ιστό δέρματος βατράχου [193]. Η τεχνική του εξασφάλισε ένα πειραματικό εργαλείο για την έρευνα της φυσιολογίας απομονωμένων επιθηλιακών ιστών [16, 129, 193]. Η αρχή της τεχνικής φαίνεται στην εικόνα 3. Ο ιστός S είναι τοποθετημένος σαν επίπεδο στρώμα σε μια αντλία C και διαχωρίζει ένα διάλυμα Ringer. Η διαφορά δυναμικού κατά πλάτος του ιστού μετρείται από ένα ζεύγος ηλεκτροδίων A/A' που τοποθετούνται όσο πιο κοντά γίνεται στη μεμβράνη, χωρίς να την αγγίζουν. Η διαφορά δυναμικού καταγράφεται από ένα μιλιβολτόμετρο P. Μέσω μίας μπαταρίας D και ενός διαιρέτη τάσης W (potential divider), ηλεκτρικό ρεύμα διαπερνά τον ιστό μέσα από ένα δεύτερο ζεύγος ηλεκτροδίων B/B', τα οποία

τοποθετούνται όσο πιο μακριά γίνεται από τον ιστό. Το ρεύμα αυξάνεται σταδιακά, αντίθετα προς το δυναμικό που αναπτύσσει ο ιστός, ώστε η διαφορά δυναμικού να είναι μηδέν (Εικόνα 3).



Εικόνα 3. Διάγραμμα της συσκευής που χρησιμοποίησε ο H. Ussing, για τον καθορισμό των ηλεκτρικών παραμέτρων σε δέρμα βατράχου. (Προσαρμοσμένο κατά Ussing HH και συν., 1951)

C: αντλία

S: ιστός

α: είσοδοι για οξυγόνο

A και A': ηλεκτρόδια για την καταγραφή της διαφοράς δυναμικού

B και B': ηλεκτρόδια για τη χορήγηση ρεύματος

D: μπαταρία

W: διαιρέτης τάσης

M: μικροαμπερόμετρο

P: μιλιβολτόμετρο

## Χρήση ουσιών για μελέτη διαπερατότητας βιολογικών μεμβρανών

### Αμιλορίδη

Πρόκειται για ένα διουρητικό φάρμακο – αναστολέα των διαύλων  $\text{Na}^+$  [95, 148, 156]. Η αμιλορίδη αναστέλλει τη μεταφορά  $\text{Na}^+$  με τρόπο ταχύ και αναστρέψιμο. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η δράση της αμιλορίδης διαχωρίζεται σε τρεις κύριες κατηγορίες, ανάλογα με την ευαισθησία της αναστολής που προκαλείται σε υψηλές εξωκυττάρειες συγκεντρώσεις  $\text{Na}^+$  [68].

Στην πρώτη κατηγορία ειδικοί διάλυτοι  $\text{Na}^+$  αναστέλλονται από χαμηλές συγκεντρώσεις αμιλορίδης (<μM). Πρόκειται για ειδικούς επιθηλιακούς διαύλους  $\text{Na}^+$  με υψηλή συγγένεια στην αμιλορίδη, η οποία αναφέρεται ως ειδικός δείκτης για αυτούς.

Στη δεύτερη κατηγορία αναφέρονται συστήματα μεταφοράς ιόντων  $\text{Na}^+$  που έχουν πιο χαμηλή συγγένεια με την αμιλορίδη, αφού αναστέλλονται από μεγαλύτερες συγκεντρώσεις του φαρμάκου (της τάξης μM). Τα συστήματα αυτά είναι ηλεκτρικά ουδέτερα και υπό φυσιολογικές συνθήκες ανταλλάσσουν ιόντα  $\text{Na}^+$  με ιόντα  $\text{H}^+$ . Ο βασικός ρόλος αυτών των συστημάτων μεταφοράς είναι η ρύθμιση του ενδοκυττάριου pH και βρίσκονται σε όλες τις κυτταρικές μεμβράνες.

Στην τρίτη κατηγορία ανήκει η αναστολή της αμιλορίδης στην ανταλλαγή ιόντων  $\text{Na}^+ / \text{Ca}^{+2}$ . Η αναστολή αυτού του συστήματος απαιτεί ακόμη μεγαλύτερες συγκεντρώσεις αμιλορίδης (της τάξης mM). Αυτό το σύστημα μεταφοράς παίζει σημαντικό ρόλο στην ενδοκυττάρια ομοιόσταση του  $\text{Ca}^{+2}$ .



## Ουαμπαΐνη

Πρόκειται για έναν ειδικό αναστολέα της αντλίας  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  [20, 191]. Η  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPάση}$  αποτελεί αναπόσπαστο ένζυμο όλων των κυτταρικών μεμβρανών του σώματος. Συνήθως, αντλεί τρία ενδοκυττάρια ιόντα  $\text{Na}^+$  εκτός κυττάρου και δύο εξωκυττάρια ιόντα  $\text{K}^+$  μέσα στο κύτταρο, αντίθετα από το βιοηλεκτρικό πρηνές συγκέντρωσης. Αυτή η διαδικασία απαιτεί κατανάλωση ενέργειας διαμέσου υδρόλυσης ενός μορίου ATP. Αυτή η διαφορά άντλησης κατιόντων δημιουργεί ένα εξωτερικό ρεύμα κατά πλάτος της κυτταρικής μεμβράνης, το οποίο μεταφέρεται μέσω των ιόντων  $\text{Na}^+$  [119, 180].

## Οξειδίο του αζώτου (NO)

Το οξειδίο του αζώτου συντίθεται από το αμινοξύ L-αργινίνη μέσω ενός ενζύμου, της συνθετάσης του οξειδίου του αζώτου (NOS) [36, 141, 157]. Η αργινίνη μέσω της NOS μετατρέπεται σε NO και κιτρουλλίνη. Στη βιβλιογραφία αναφέρονται τρεις τύποι NOS.

Ο τύπος I (NOS I) εκφράζεται κυρίως στα νευρικά κύτταρα, με βασική νευροδιαβιβαστική λειτουργία. Ενεργοποιείται ανάλογα με τη συγκέντρωση ιόντων  $\text{Ca}^{+2}$  και καλμοδουλίνης.

Ο τύπος II (NOS II) αναφέρεται στα μακροφάγα, στα ηπατοκύτταρα και σε νευρογλοιακά κύτταρα του κεντρικού νευρικού συστήματος. Η ενεργοποίησή της είναι ανεξάρτητη της συγκέντρωσης των ιόντων  $\text{Ca}^{+2}$  και καλμοδουλίνης.

Ο τύπος III (NOS III) επικρατεί στα ενδοθηλιακά κύτταρα, αλλά και σε νευρώνες του κεντρικού νευρικού συστήματος. Η ενεργοποίησή της εξαρτάται από τη συγκέντρωση ιόντων  $\text{Ca}^{+2}$  και καλμοδουλίνης, όπως στον τύπο I [134].

Η ενδογενής παραγωγή του NO μπορεί να ανασταλλεί από διάφορα ανάλογα της L-αργινίνης που μπλοκάρουν τη δράση της NOS. Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενοι αναστολείς είναι ο  $\text{N}^{\omega}$ -νίτρο-L-αργινίνη-μέθυλο-εστέρας (L-NAME) και η  $\text{N}^{\text{G}}$ -μονο-μέθυλο-L-αργινίνη (L-NMMA). Εκτός από τα ανάλογα της L-αργινίνης, η παραγωγή του NO μπλοκάρεται και από αναστολείς του  $\text{Ca}^{+2}$ , αναστολείς της καλμοδουλίνης, ουσίες που περιέχουν άζωτο και αναστολείς της  $\text{BH}_4$  σύνθεσης [61, 105].

Το NO παίζει σημαντικό ρόλο σε ευρύ φάσμα φυσιολογικών λειτουργιών του οργανισμού. Μερικές αντιπροσωπευτικές λειτουργίες είναι η ρύθμιση της αιματικής ροής και της αρτηριακής πίεσης [70, 88, 169, 195], η χάλαση των λείων μυϊκών ινών αγγείων και λεμφαγγείων [26, 184], η διακυττάρια επικοινωνία στο ΚΝΣ μέσω ενεργοποίησης της γουανυλικής κυκλάσης (cGMP) στους νευρώνες - στόχους, η ρύθμιση μηχανισμών του ανοσοσοποιητικού κατόπιν εκθέσεως σε μικροβιακά παράγωγα [65] και η ρύθμιση διακίνησης ιόντων [65]. Συγκεκριμένα, το NO φαίνεται να αναστέλλει τους διαύλους  $\text{Na}^+$ , την αντλία  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  και τη διάχυση ιόντων  $\text{Na}^+$  στα κυψελιδικά κύτταρα τύπου II [74, 125], όπως και σε καλλιέργειες επιθηλιακών κυττάρων πνεύμονα [49].

Σε κλινικό επίπεδο, η παραγωγή του NO μπορεί να αποδειχθεί θεραπευτική και εξασφαλίζεται μέσω ποικίλων ουσιών, όπως π.χ.

μερικών αγγειοδιασταλτικών φαρμάκων. Τα φάρμακα αυτά λειτουργούν ως δότες NO, όπως το νιτροπρωσσικό νάτριο (SNP), η νιφεδιπίνη, η S-νιτρο-N-ακετυλο-πενικιλλαμίνη (SNAP) [104, 190].

## **Αλδοστερόνη**

Η αλδοστερόνη ανήκει στη μεγάλη οικογένεια των στεροειδών ορμονών και πιο συγκεκριμένα στα αλατοκορτικοειδή (μεταλλοκορτικοειδή) [173]. Παράγεται από τη σπειροειδή ζώνη του φλοιού των επινεφριδίων και η έκκρισή της ρυθμίζεται από το σύστημα ρενίνης – αγγειοτενσίνης. Οι τιμές της σε φυσιολογική δίαιτα άλατος κυμαίνονται σε ύπτια θέση: 1-16 ng/dl και σε όρθια θέση: 4-31 ng/dl.

Η ελάττωση του κυκλοφορούντος όγκου αίματος λόγω αιμορραγίας, ή απώλειας ύδατος (αφυδάτωση), ή στέρησης νατρίου, ή θεραπείας με διουρητικά, διεγείρει την έκκριση της ρενίνης από τους νεφρούς. Η ρενίνη προάγει την παραγωγή της αγγειοτενσίνης I, η οποία μετατρέπεται σε αγγειοτενσίνη II μέσω του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης (ACE). Η αγγειοτενσίνη II διεγείρει την έκκριση της αλδοστερόνης από τη σπειροειδή ζώνη, δρώντας απευθείας στο φλοιό των επινεφριδίων [50].

Σε κλινικό επίπεδο, αύξηση και μείωση της αλδοστερόνης παρατηρείται στις κλινικές καταστάσεις που αναγράφονται στον Πίνακα 2.

---

---

## ΑΥΞΗΣΗ ΑΛΔΟΣΤΕΡΟΝΗΣ

---

**Πρωτοπαθής υπεραλδοστερονισμός**

επινεφριδιακό αδένωμα (νόσος Cohn)

**Ψευδοπρωτοπαθής υπεραλδοστερονισμός**

αμφοτερόπλευρη υπερπλασία επινεφριδίων

**Δευτεροπαθής υπεραλδοστερονισμός**

καρδιακή ανεπάρκεια

νεφρωσικό σύνδρομο

κίρρωση ήπατος/ασκίτης

κατάχρηση διουρητικών/καθαρτικών

**Σύνδρομο Bartter**

**Υποογκαιμία**

αιμορραγία

**Υπερπλασία παρασπειραματικής συσκευής νεφρού**

**Όγκος νεφρού που εκκρίνει ρενίνη**

**Κακοήθης υπέρταση**

**Κύηση**

**Σύνδρομο υπερδιέγερσης ωοθηκών**

**Ελαττωμένη πρόσληψη νατρίου**

**Νηστεία > 10 ημερών**

---

---

## ΜΕΙΩΣΗ ΑΛΔΟΣΤΕΡΟΝΗΣ

---

Συγγενής υπερπλασία επινεφριδίων

Ανεπάρκεια της συνθετάσης της αλδοστερόνης

Υπερβολική πρόσληψη νατρίου

Νόσος Addison

Υπορενιναιμικός υποαλδοστερονισμός

---

---

**Πίνακας 2.** Κλινικές καταστάσεις αύξησης και μείωσης αλδοστερόνης.

Στην οικογένεια των στεροειδών ορμονών, εκτός από τα μεταλλοκορτικοειδή ανήκουν και τα γλυκοκορτικοειδή, τα οιστρογόνα, τα προγεσταγόνα, τα ανδρογόνα, η βιταμίνη D<sub>3</sub>, τα νευροστεροειδή και οι θυρεοειδικές ορμόνες (T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>). Σύμφωνα με την κλασσική θεωρία, η ομάδα αυτή των ορμονών έχει ένα γονιδιακό μοντέλο δράσης, κατά το

οποίο το στεροειδές φθάνει στα κύτταρα – στόχους μέσω της κυκλοφορίας. Έπειτα, διαπερνά την κυτταρική μεμβράνη και συνδέεται με ειδικούς κυτταροπλασματικούς υποδοχείς. Στη συνέχεια, το σύμπλοκο υποδοχέα – ορμόνης μεταφέρεται στον πυρήνα του κυττάρου, όπου συνδέεται με τον κλασσικό στεροειδικό υποδοχέα. Ακολούθως, ενεργοποιούνται συγκεκριμένα γονίδια και επάγονται οι διαδικασίες μεταγραφής, μετάφρασης και πρωτεϊνοσύνθεσης [35]. Ο χρόνος που απαιτείται για να συντελεστούν αυτές οι γονιδιακές επιδράσεις είναι πάνω από 30 λεπτά της ώρας.

Τις τελευταίες δεκαετίες έχει αναγνωρισθεί ένα μη γονιδιακό μοντέλο δράσης των στεροειδών ορμονών. Πρόκειται για ταχείες, άμεσες επιδράσεις εντός δευτερολέπτων ή λίγων λεπτών της ώρας [173], σύμφωνα με την κατάταξη Mannheim [58], η οποία αναγράφεται στον Πίνακα 3.

---



---

### ΜΗ ΓΟΝΙΔΙΑΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ ΔΡΑΣΗΣ ΣΤΕΡΟΕΙΔΩΝ

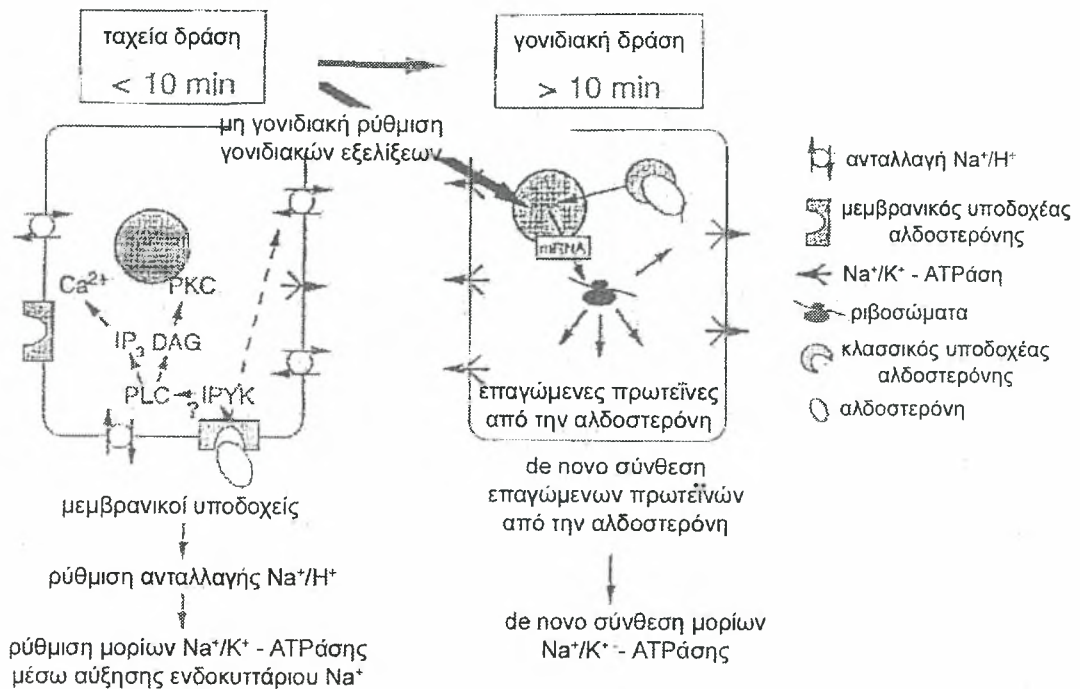
---

<b>ΑΜΕΣΗ ΔΡΑΣΗ</b>	<b>ΕΜΜΕΣΗ ΔΡΑΣΗ</b>
Χωρίς συναγωνιστή	Με συναγωνιστή
↓	↓
↓	↓
↓ ←←←←←←	↓
↓	↓
(οιστραδιόλη) ←	↓
(αλδοστερόνη) ←	↓

Πίνακας 3. Κατάταξη Mannheim.

Σύμφωνα με αυτήν την κατάταξη, όταν η στεροειδής ορμόνη είναι ο μόνος αγωνιστής και δρα μόνη της, τότε έχει άμεση δράση, όπως συμβαίνει με την οιστραδιόλη και την αλδοστερόνη. Όταν όμως χρειάζεται συναγωνιστή (GABA) για την πρόκληση γρήγορων αλλαγών, τότε έχει έμμεση δράση, όπως τα νευροστεροειδή και τα συνθετικά στεροειδή. Επίσης, όταν δεν εμπλέκεται υποδοχέας, η στεροειδής ορμόνη έχει μη ειδική δράση (υποθετική κατηγορία, χωρίς παράδειγμα). Όταν εμπλέκεται ειδικός υποδοχέας, τότε έχει ειδική δράση (οιστραδιόλη, αλδοστερόνη, νευροστεροειδή). Ο υποδοχέας της οιστραδιόλης είναι γνωστός, κλασσικός ενδοκυττάριος, ενώ της αλδοστερόνης, των νευροστεροειδών και των συνθετικών στεροειδών είναι μη κλασσικός.

Σχηματικά, το γονιδιακό και μη γονιδιακό μοντέλο δράσης της αλδοστερόνης φαίνεται στην εικόνα 4, όπου αντιπροσωπεύεται τόσο η γονιδιακή, όσο και η μη γονιδιακή δράση των στεροειδών. Οι στεροειδείς ορμόνες δρουν διαμέσου της κλασσικής γονιδιακής οδού, συνδεδεμένες με ενδοκυττάριους στεροειδικούς υποδοχείς, ρυθμίζοντας τη μεταγραφή και την πρωτεϊνική μετάφραση, αλλάζοντας έτσι την κυτταρική λειτουργία. Η ταχεία μη γονιδιακή οδός δράσης των στεροειδών περιλαμβάνει μεμβρανικούς υποδοχείς, ενδοκυττάρια συστήματα διαβιβαστών δευτέρας τάξης και δεσμευτικά συστήματα στο επίπεδο της κυτταρικής μεμβράνης. Αλλαγές στο ενδοκυττάριο ιοντικό περιβάλλον μπορούν ίσως με τη σειρά τους να επηρεάζουν τις διαδικασίες γονιδιακής μεταγραφής [173].



**Εικόνα 4.** Σχηματικό μοντέλο της διαφασικής δράσης των στεροειδών: Αντιπροσωπεύει τόσο τη γονιδιακή (δεξιά), όσο και τη μη γονιδιακή (αριστερά) δράση των στεροειδών, όπως περιγράφεται για την αλδοστερόνη. Συμβολισμοί: ενδοκυττάριο σύστημα διαβιβαστών δευτέρας τάξης (ενδιάμεση τυροσίνη-κινάση IPYK, τριφωσφορική ινοσιτόλη-1,4,5 IP<sub>3</sub>, διακυλογλυκερόλη DAG, φωσφολιπάση C PLC, ελεύθερο ενδοκυττάριο Ca<sup>2+</sup> [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>, πρωτεΐνη-κινάση C, PKC) και αλδοστερόνη συνδεδεμένη σε μεμβρανικούς υποδοχείς. (Προσαρμοσμένο κατά Schmidt BMW και συν., 2000).

Συνοπτικά, η ταχεία δράση της αλδοστερόνης πραγματοποιείται σε λιγότερο από 10 λεπτά, συνδεδεμένη άμεσα με μεμβρανικούς υποδοχείς. Ως αποτέλεσμα, σε κυτταρικό επίπεδο, αυξάνει την ενεργητική μεταφορά  $\text{Na}^+$ , αυξάνει τη διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης στα ιόντα  $\text{Na}^+$ , αυξάνει τη βιοσύνθεση  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPάσης}$  ρυθμίζοντας την αντλία  $\text{Na}^+$ , αυξάνει την ενδοκυττάρια συγκέντρωση  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^+$ , αυξάνει τον όγκο του κυττάρου, προάγει την απέκκριση  $\text{K}^+$  και  $\text{H}^+$  από το κύτταρο μέσω ανταλλαγής  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  και ρύθμισης διαύλων  $\text{K}^+/\text{Ca}^+$ . Σε οργανικό επίπεδο, παίζει βασικό ρόλο στην ομοιόσταση υγρών και ηλεκτρολυτών (νερού και άλατος), αυξάνει τις περιφερικές αγγειακές αντιστάσεις, αυξάνει την αρτηριακή πίεση και μειώνει την καρδιακή απόδοση [76].

Το γονιδιακό μοντέλο δράσης της αλδοστερόνης φαίνεται να ξεκινάει μετά τα 10 πρώτα λεπτά και σχετίζεται με τις μακροχρόνιες επιδράσεις της ορμόνης. Σε κλινικό επίπεδο, ανωμαλίες του συστήματος ρενίνης - αγγειοτενσίνης - αλδοστερόνης συσχετίζονται με αρτηριακή υπέρταση και συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, καταστάσεις που μπορεί να επιπλακούν με ανάπτυξη υπεζωκοτικής συλλογής.

Αποτελέσματα συγκεκριμένης μελέτης [178] δείχνουν αυξημένη επαναρρόφηση νατρίου σε περιπτώσεις καρδιακής ανεπάρκειας, εκτιμώντας τη συμμετοχή της αλδοστερόνης στην παθογένεια της κατακράτησης νατρίου από τους νεφρούς. Επίσης, σε σοβαρή, χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια η συγκέντρωση της αλδοστερόνης είναι σημαντικά υψηλότερη κάθε στιγμή και οι ασθενείς με υψηλά επίπεδα ρενίνης είναι λιγότερο προστατευμένοι ενάντια σε αρρυθμίες [97].



Ακόμη, πνευμονική συμφόρηση, υπεζωκοτική συλλογή και ασκίτης αναπτύσσονται ταχέως σε αύξηση του όγκου μεταφορτίου σε αρουραίους, μέσω αορτοπυλαίας παράκαμψης και αυτή η ταχεία καρδιακή ανεπάρκεια συσχετίζεται με αυξημένη αλδοστερόνη πλάσματος [86].

Υπερδιέγερση του συστήματος ρενίνης – αγγειοτενσίνης – αλδοστερόνης οδηγεί σε παθολογικές συνέπειες σε καταστάσεις διαβητικής νεφροπάθειας, υπέρτασης, στένωσης νεφρικής αρτηρίας, υπερτροφίας αριστερής κοιλίας, αθηρωσκλήρωσης στεφανιαίων αγγείων, εμφράγματος μυοκαρδίου και συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας [162].

Ασθενείς που αναπτύσσουν υπεζωκοτική συλλογή μετά από καρδιοχειρουργική επέμβαση κατά Glenn και Fontan έχουν αυξημένη δραστηριότητα του συστήματος ρενίνης – αγγειοτενσίνης – αλδοστερόνης [127]. Επιπλέον, η αύξηση των επιπέδων αλδοστερόνης σε ασθενείς με τετραλογία Fallot είναι μεγαλύτερη σε εκείνους που αναπτύσσουν υπεζωκοτικές συλλογές μετεγχειρητικά [128]. Ακόμη, ενεργοποίηση του συστήματος ρενίνης – αγγειοτενσίνης – αλδοστερόνης επιπλέκει αιμοδυναμικά την ηπατική κίρρωση και την πυλαία υπέρταση [81].

Τέλος, υπεζωκοτική συλλογή παρατηρείται σε ορισμένες γυναίκες με σοβαρό σύνδρομο υπερδιέγερσης ωοθηκών (OHSS). Αυτό αποτελεί φαρμακευτική επιπλοκή διέγερσης της ωοθηκικής λειτουργίας με εξωγενείς γοναδοτροπίνες, σε περιπτώσεις πρωτοπαθούς και δευτεροπαθούς υπογονιμότητας. Αυτές οι ασθενείς εμφανίζουν πολύ υψηλή συγκέντρωση αλδοστερόνης στο πλάσμα [46, 47, 56] επειδή

έχουν αυξημένη δραστηριότητα του ωθητικού συστήματος ρενίνης – αγγειοτενσίνης [130, 205]. Το σύνδρομο Meigs συσχετίζεται με όγκους της ωθήκης, συνήθως ίνωμα, υδροθώρακα και ασκίτη, με πιθανή εμπλοκή της αλδοστερόνης στην παθοφυσιολογία του [77]. Φυσιολογικές κυήσεις που επιπλέκονται με υπεζωκοτικές συλλογές [116], καθώς και καταστάσεις προεκλαμψίας που πρωτογενώς επηρεάζουν τον πηκτικό μηχανισμό, τη νεφρική, εγκεφαλική και ηπατική λειτουργία μέσω αυξημένης αρτηριακής πίεσης [32], πιθανώς συμπεριλαμβάνουν στεροειδική επίδραση διαμέσου παρόμοιων μηχανισμών.

Οι ορμονικές αλλαγές που συμβαίνουν στις παραπάνω κλινικές καταστάσεις υπεραλδοστερονισμού φαίνεται να προκαλούν μεταβολές στη διαπερατότητα του υπεζωκότα, επάγοντας ενδεχομένως τη σταδιακή ανάπτυξη υπεζωκοτικών συλλογών.

## **Σπειρολακτόνη**

Φαρμακολογικά, η σπειρολακτόνη αποτελεί ένα συνθετικό στεροειδές καλιοσυντηρητικό διουρητικό, το οποίο μοιάζει στη χημική δομή με την αλδοστερόνη και αποτελεί έναν κλασσικό ανταγωνιστή της. Αναστέλλει την ανταλλαγή του νατρίου με το κάλιο στο απώτερο τμήμα του απομακρυσμένου νεφρικού σωληναρίου.

Επειδή αποτελεί κλασσικό ενδοκυττάριο ανταγωνιστή της αλδοστερόνης, αναστέλλει τη μακράς περιόδου γονιδιακή δράση της. Έτσι, η σπειρολακτόνη είναι πιο δραστική σε καταστάσεις υπεραλδοστερονισμού, όπως η ηπατική κίρρωση και το νεφρωσικό

σύνδρομο, ελαττώνοντας την απώλεια καλίου, αυξάνοντας την απέκκριση του νατρίου και προκαλώντας μετρίου βαθμού ελάττωση της αρτηριακής πίεσης [159].

Η σπειρολακτόνη, κλασσικός αντι-μεταλλοκορτικοειδικός ανταγωνιστής, μειώνει την ικανότητα της αλδοστερόνης να διεγείρει την απέκκριση του καλίου [196]. Επίσης, φαίνεται πως η σπειρολακτόνη δρα πρωτογενώς στην κυτταρική μεμβράνη, μέσω σύνδεσης με βραδείας διάνοιξης διαύλους ασβεστίου, κατά τη φάση ηρεμίας τους, αναστέλλοντας την απελευθέρωση  $Ca^{+2}$  από το σαρκοπλασματικό δίκτυο και εμποδίζοντας τη σύσπαση απομονωμένων κυττάρων πυλαίας φλέβας αρουραίου [42]. Η σπειρολακτόνη φαίνεται να μπλοκάρει τους συγκεκριμένους διαύλους με δοσοεξαρτώμενο τρόπο.

Ακόμη, η σπειρολακτόνη και ο κύριος μεταβολίτης της, το κανρενοϊκό οξύ, μπλοκάρουν συγκεκριμένους ηλεκτρολυτικούς διαύλους, μειώνοντας το διάστημα QT στη χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια [34]. Επιπλέον, οι ίδιες χημικές ουσίες εμποδίζουν την αγγειογένεση, υποσχόμενες θεραπευτικό αποτέλεσμα σε παθολογικές καταστάσεις δημιουργίας νέων αιμοφόρων αγγείων, όπως σε ανάπτυξη συμπαγών όγκων και αθηρωσκλήρωσης [102]. Αυτή η αντι-αγγειογενετική δράση της σπειρολακτόνης δε σχετίζεται με την αντιανδρογονική και αντιμεταλλοκορτικοειδική της δράση, αλλά με την αναστολή του βασικού ινοβλαστικού αυξητικού παράγοντα (bFGF) και του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF) στα ενδοθηλιακά κύτταρα των τριχοειδών.

Τέλος, η σπειρολακτόνη αυξάνει τη βιοδραστικότητα του οξειδίου του αζώτου (NO), βελτιώνει την αγγειοδιασταλτική δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και καταστέλλει τη μετατροπή της αγγειοτενσίνης I σε αγγειοτενσίνη II σε ασθενείς με χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια [59].

## **Αντιδιουρητική ορμόνη (ADH)**

Η αντιδιουρητική ορμόνη (ADH) ή βαζοπρεσσίνη (vasopressin), ανήκει στην οικογένεια των πεπτιδικών ορμονών, όπως και η ωκυτοκίνη. Εκκρίνεται από τον οπίσθιο λοβό της υπόφυσης και οι φυσιολογικές τιμές της είναι: σε άτομα < 60 ετών: <8pg/mL και σε άτομα > 60 ετών: <12pg/mL, με φυσιολογικό εύρος ωσμωτικότητας πλάσματος: 200 – 1192 mOsm/kg.

Παθοφυσιολογικά, η συγκέντρωση της ADH σχετίζεται με την ωσμωτικότητα ούρων και αίματος. Η δράση της παράγει μικρές ποσότητες συμπυκνωμένων ούρων. Όταν η ADH δε δρα παράγονται μεγάλες ποσότητες αραιωμένων ούρων. Η έκκρισή της ρυθμίζεται από υποδοχείς όγκου και ωσμώσεως (ωσμωυποδοχείς). Έτσι, αυξάνεται σε καταστάσεις αφυδάτωσης και αυξημένης ωσμωτικότητας πλάσματος και μειώνεται σε αυξημένο όγκο αίματος ή ελαττωμένη ωσμωτικότητα πλάσματος. Μεγάλο μέρος της ADH διηθείται διαμέσου του σπειράματος και απεκκρίνεται στα ούρα. Έτσι, τα επίπεδα ADH στα ούρα αντανακλούν πρόσφατες συγκεντρώσεις ADH του αίματος. Η συγκέντρωση ADH στα ούρα είναι υψηλότερη από του αίματος [17].

Σε κλινικό επίπεδο, αύξηση και μείωση της ADH παρατηρείται στις κλινικές καταστάσεις που αναγράφονται στον Πίνακα 4.

---

---

## ΑΥΞΗΣΗ ADH

---

### Έκτοπη έκκριση ADH

νεοπλάσματα

### Σύνδρομο απρόσφορης (παράδοξης) έκκρισης ADH

πνευμονικές λοιμώξεις

νόσοι αναπνευστικού συστήματος

όγκοι εγκεφάλου

βρογχογενείς όγκοι

σύνδρομο υπερδιέγερσης ωθηκών

κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις

άλλες νόσοι

### Νεφρογενής άποιος διαβήτης

#### Φάρμακα

φαινοθειαζίνη

καρβαμαζεπίνη

---

## ΜΕΙΩΣΗ ADH

---

### Κεντρικός άποιος διαβήτης

νευρογενής ή υποθαλαμικός

### Ψυχογενής πολυδιψία

### Δηλητηρίαση εξ ύδατος

### Νεφρωσικό σύνδρομο

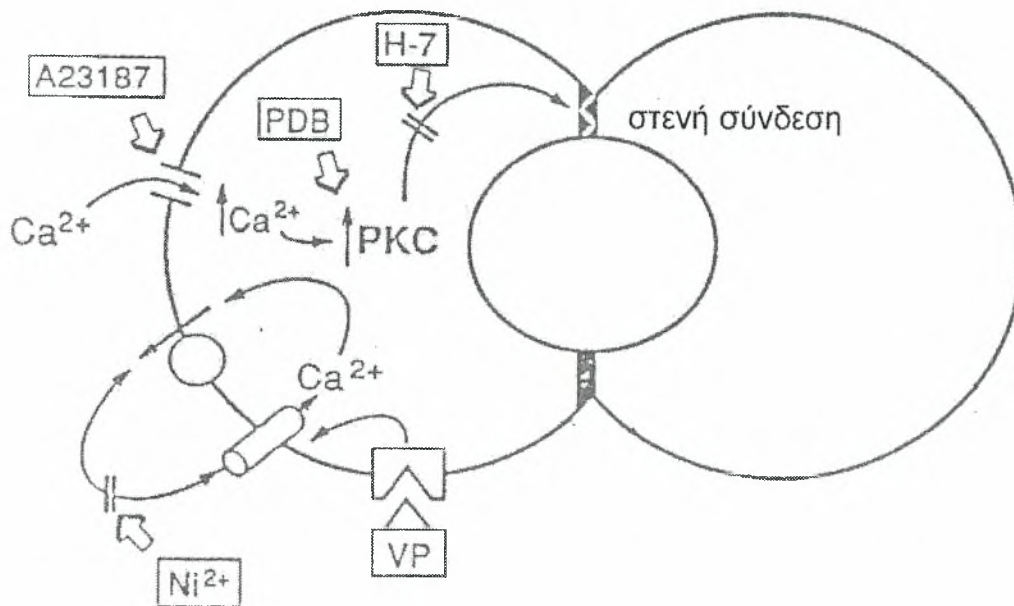
---

Πίνακας 4. Κλινικές καταστάσεις αύξησης και μείωσης αντιδιουρητικής ορμόνης.

Ο κεντρικός άποιος διαβήτης χαρακτηρίζεται από χαμηλά επίπεδα ADH και ωσμωτικότητας ούρων. Ο νεφρογενής άποιος διαβήτης χαρακτηρίζεται από υψηλά επίπεδα ADH και χαμηλά επίπεδα ωσμωτικότητας ούρων. Το σύνδρομο απρόσφορης έκκρισης ADH (SIADH) χαρακτηρίζεται από φυσιολογικά επίπεδα ADH παρά τη χαμηλή ωσμωτικότητα αίματος.

Σε κυτταρικό επίπεδο, η ADH έχει ταχεία δράση, η οποία πραγματοποιείται μέσα σε δευτερόλεπτα. Συνοπτικά, η ADH αυξάνει την ενεργητική μεταφορά  $\text{Na}^+$ , αυξάνει τη διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης στα ιόντα  $\text{Na}^+$ , χωρίς να επηρεάζει τη βιοσύνθεση της αντλίας  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPάσης}$  [155]. Η ADH ρυθμίζει επιθηλιακούς διαύλους ύδατος, προάγοντας την κατακράτησή του σε περιπτώσεις αυξημένης απώλειας όγκου πλάσματος (αιμορραγία), μέσω ενεργοποίησης μεταφοράς  $\text{Na}^+$ . Φαίνεται πως η ADH ρυθμίζει μεταφορικά συστήματα  $\text{Na}^+$  και  $\text{H}_2\text{O}$  μέσω ειδικών ωσμωποδοχέων  $V_2$ , διεγείροντας την έκκριση cAMP ενδοκυτταρίως [68, 202]. Επίσης, η ADH αυξάνει τη συγκέντρωση  $\text{NaCl}$  και μειώνει τη συγκέντρωση ιόντων  $\text{K}^+$ , ενδοεπιθηλιακά [121].

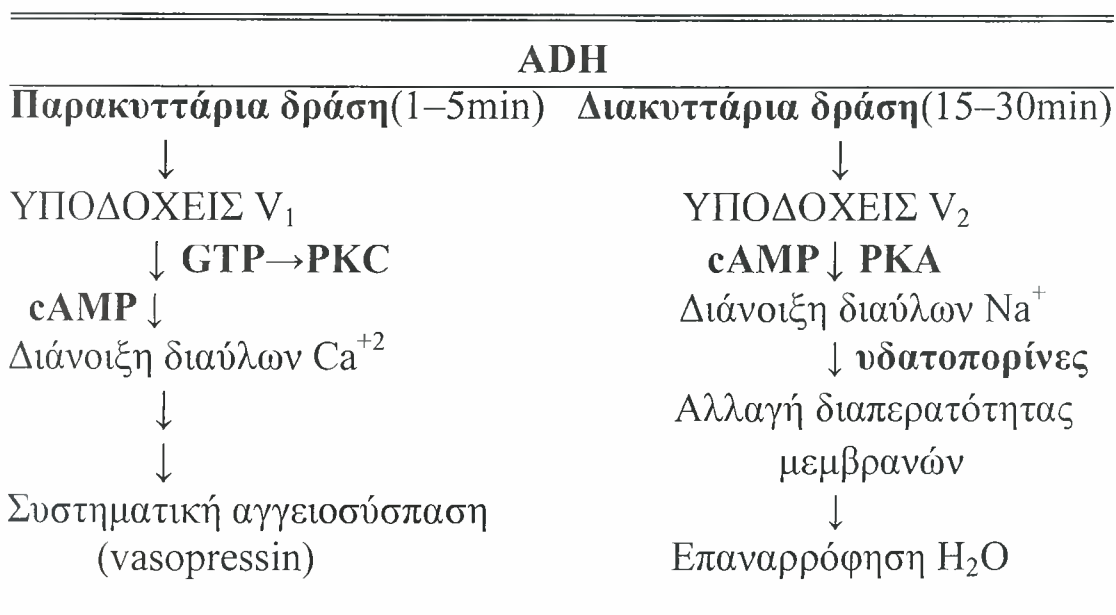
Ένα πιθανό μοντέλο δράσης της ADH φαίνεται στην εικόνα 5 και εμπλέκει υποδοχείς  $V_1$ , αύξηση ενδοκυττάριου  $\text{Ca}^{+2}$ , σύνθεση προσταγλανδινών και διάνοιξη στενών συνδέσεων κυτταροσκελετού ακτίνης – μυοσίνης (tight junctions), δρώντας παρακυττάρια (1-5min) [68, 144]. Με τους υποδοχείς  $V_1$  ενδεχομένως εμπλέκεται και η απελευθέρωση οξειδίου του αζώτου (NO), για τη ρύθμιση της δράσης των πεπτιδικών ορμονών [62] και την αναστολή της άμεσης αγγειοσύσπασης που προκαλεί η βαζοπρεσσίνη [52]. Το γεγονός αυτό θεωρείται λογικό, αφού η ενεργοποίηση της συνθετάσης του οξειδίου του αζώτου (NOS I και III) εξαρτάται από τη συγκέντρωση ιόντων  $\text{Ca}^{+2}$  [134], ενώ το NO εμπλέκεται και στην ενεργοποίηση της γουανυλικής κυκλάσης (cGMP) [125].



**Εικόνα 5.** Προτεινόμενος ορμονικός μηχανισμός αύξησης της παρακυττάριας διαπερατότητας στα ηπατοκύτταρα. Η αντιδιουρητική ορμόνη-βαζοπρεσσίνη (VP) συνδέεται σε έναν ειδικό υποδοχέα ( $V_1$ ), ο οποίος προκαλεί τη διάνοιξη συγκεκριμένου διαύλου  $Ca^{+2}$ . Αυτό συνεπάγεται τη μεταφορά του ιόντος  $Ca^{+2}$  κατά μήκος της κυτταρικής μεμβράνης που οδηγεί στην ενεργοποίηση της πρωτεΐνης-κινάσης C (PKC). Εναλλακτικά, ο A23187 μπορεί να οδηγήσει στην ενεργοποίηση της PKC, μέσω της δράσης του ως ιοντοφορέας  $Ca^{+2}$  και η φορβόλη (PDB) μπορεί να επάγει την ενεργοποίηση της PKC άμεσα. Τελικά, η διέγερση του συστήματος της PKC έχει σαν αποτέλεσμα την αύξηση της διαπερατότητας στις στενές συνδέσεις (tight junction). Η εισροή εξωκυττάριας  $Ca^{+2}$  (και κατ'επέκταση η μεταφορά τους κατά μήκος της κυτταρικής μεμβράνης) μπλοκάρεται από ιόντα  $Ni^{+2}$  (ανταγωνιστής εισόδου  $Ca^{+2}$ ) και η διέγερση της PKC μπλοκάρεται άμεσα από τον ανταγωνιστή της H-7, ο οποίος μπλοκάρει όλες τις c-AMP εξαρτώμενες κινάσες. (Προσαρμοσμένο κατά Nathanson MH και συν., 1992).

Η διακυττάρια δράση της ADH επιτυγχάνεται μετά από 15 – 30 λεπτά της ώρας και σχετίζεται με συστήματα μεταφοράς νατρίου και νερού, εμπλέκοντας τους υποδοχείς  $V_2$  [156], όπως προαναφέρθηκε. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αντιδιουρητικού αγωνιστή των  $V_2$  υποδοχέων αποτελεί η δεσμοπρεσσίνη, η οποία προκαλεί χάλαση του ενδοθηλιακού τοιχώματος σε ανθρώπινες νεφρικές αρτηρίες [133], διαμέσου ρύθμισης  $V_2$  υποδοχέων και απελευθέρωσης προσταγλανδινών.

Συνοψίζοντας, το πιθανό μοντέλο δράσης της ADH θα μπορούσε να ερμηνευτεί με τον τρόπο που αναγράφεται στον Πίνακα 5.



Πίνακας 5. Πιθανό μοντέλο δράσης αντιδιουρητικής ορμόνης.

Σε οργανικό επίπεδο, ο μηχανισμός της ADH για τη ρύθμιση της ωσμωτικότητας και της συγκέντρωσης του εξωκυττάριου νατρίου είναι πολύ σημαντικός. Μία αύξηση της συγκέντρωσης του νατρίου προκαλεί μία σχεδόν παράλληλη αύξηση της ωσμωτικότητας, που με τη σειρά της ενεργοποιεί τους ωσμωυποδοχείς του υποθαλάμου. Αυτοί



οι υποδοχείς στη συνέχεια, προκαλούν την έκκριση της ADH η οποία αυξάνει την επαναρρόφηση νερού στα ουροφόρα σωληνάκια. Έτσι, πολύ μικρό ποσό νερού εκκρίνεται στα ούρα, ενώ εξακολουθούν να αποβάλλονται οι διαλυμένες ουσίες των ούρων.

Ως αποτέλεσμα, αυξάνεται η σχετική αναλογία του νερού στο εξωκυττάριο υγρό, ενώ αντίθετα ελαττώνεται η αναλογία των διαλυμένων ουσιών. Με αυτόν τον τρόπο, η συγκέντρωση των ιόντων νατρίου του εξωκυττάριου υγρού, όπως και η ωσμωτικότητα, αυξάνονται και προσεγγίζουν τα φυσιολογικά επίπεδα, μηχανισμός που έμμεσα εμπλέκεται και στη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης [75], συνεισφέροντας στην παθογένεια της συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας και υπέρτασης.

Σε κλινικό επίπεδο, φαίνεται πως το σύνδρομο παράδοξης έκκρισης ADH (SIADH) συσχετίζεται με ανάπτυξη κακοήθους υπεζωκοτικής συλλογής που αναπτύσσεται μετά χημειοθεραπεία με σισπλατίνη σε αδενοκαρκίνωμα πνεύμονα [92]. Επίσης, παρόμοια υπεζωκοτική συλλογή αναπτύσσεται σε ασθενείς με μεταστατικό καρκίνο μαστού και εμφάνιση SIADH [11].

Ασθενείς με πνευμοπεριτόναιο [177] ή θηλωματώδες καρκίνωμα περιτοναίου [168] παρουσιάζουν SIADH με παράλληλη ανάπτυξη υπεζωκοτικής συλλογής. Πλευρο-πνευμονικές λοιμώξεις [66] και υπεζωκοτικές μάζες [163] αναφέρονται πως προκαλούν στους ασθενείς SIADH με επακόλουθη ανάπτυξη υπεζωκοτικών συλλογών. Ακόμη, ασθενείς που αναπτύσσουν υπεζωκοτική συλλογή μετά από καρδιοχειρουργική επέμβαση κατά Glenn και Fontan φέρουν αυξημένα επίπεδα ADH πλάσματος [127].

Τέλος, σε σοβαρό σύνδρομο υπερδιέγερσης ωοθηκών (OHSS) όπου υπάρχει και ανάπτυξη υπεζωκοτικής συλλογής εκτός των άλλων κλινικών ευρημάτων, φαίνεται πως η αύξηση της ADH στο πλάσμα εμπλέκεται στην παθοφυσιολογία του [55].

Οι ορμονικές αλλαγές που συντελούνται στις προηγούμενες κλινικές περιπτώσεις αυξημένης ADH φαίνεται πως μάλλον προκαλούν μεταβολές στη διαπερατότητα του υπεζωκότα, επάγοντας έτσι τη σταδιακή ανάπτυξη υπεζωκοτικών συλλογών.

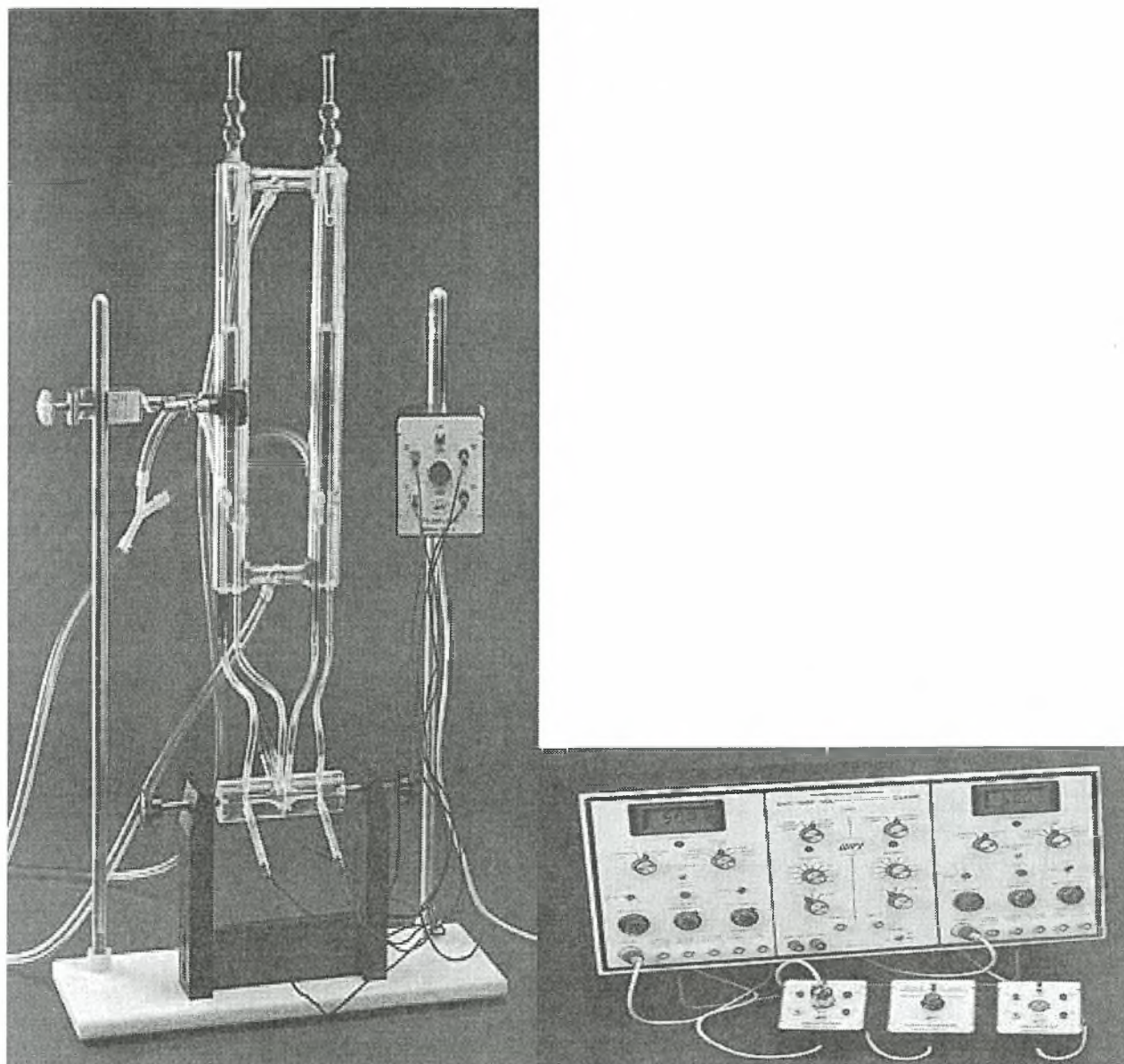
## **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Για την παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν ακέραια τμήματα πνευμονικού και τοιχωματικού υπεζωκότα, τα οποία ελήφθησαν από 150 ενήλικα, υγιή πρόβατα, αρσενικά και θηλυκά. Η συλλογή έγινε αμέσως μετά τη θανάτωση του ζώου από το επίσημο τοπικό σφαγείο. Ο πνευμονικός υπεζωκότας απογυμνώθηκε προσεκτικά από το υποκείμενο πνευμονικό παρέγχυμα μέσα στο εργαστήριο, υπό συνεχή οξυγόνωσή του και με όσο το δυνατό λιγότερους χειρισμούς στην επιφάνεια των δειγμάτων. Τα δείγματα του τοιχωματικού υπεζωκότα απογυμνώθηκαν από το θωρακικό κλωβό (πλευρές και διάφραγμα) επί τόπου στο σφαγείο. Κατόπιν, τοποθετήθηκαν σε προ-εμπλουτισμένο διάλυμα με οξυγόνο (95%O<sub>2</sub> - 5%CO<sub>2</sub>) KREBS-RINGER (KRB) στους 4°C για να διατηρηθούν μέχρι τη μεταφορά τους στο εργαστήριο, η οποία έγινε μέσα σε 30' από τη θανάτωση του ζώου. Το διάλυμα KRB εξισορροπήθηκε σε pH=7,4 και παρέμεινε σταθερό με συγκεντρώσεις (σε mM) 117,5NaCl, 1,15NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 24,99NaHCO<sub>3</sub>, 5,65KCl, 1,18MgSO<sub>4</sub>, 2,52CaCl<sub>2</sub> και 5,55 Glucose.

Όλα τα πρόβατα που χρησιμοποιήθηκαν εξετάστηκαν σχολαστικά από κτηνίατρο, ο οποίος επιβεβαίωσε πως ήταν υγιή και ο υπεζωκότας ήταν επίσης υγιής, χωρίς σημεία φλεγμονής. Τα δείγματα του υπεζωκότα εξετάστηκαν μακροσκοπικά για τυχόν ανοίγματα, τυχόν προσκολλημένο πνευμονικό παρέγχυμα, λιπώδη ιστό ή πύγματα αίματος που να παρέμειναν από το σφαγείο.

Ο υπεζωκότας τοποθετήθηκε ως επίπεδο στρώμα ιστού σε μία αντλία τύπου Ussing, ανάμεσα σε δύο δεξαμενές με υγρό (Εικόνα 6).



Εικόνα 6. Αντλία τύπου Ussing με την οποία πραγματοποιήθηκε η πειραματική διαδικασία.

Μία πολύ μικρή ποσότητα σιλικόνης (SYLGAR D Silicone – elastomer kit) εφαρμοζόταν ανάμεσα στους δύο κυλινδρικούς δακτύλιους όπου βρισκόταν ο ιστός, με στόχο να υπάρχει ελαστικότητα και να ελαχιστοποιείται η βλάβη που τυχόν προκαλείται από την πίεση της αντλίας επάνω στον ιστό [79]. Οι δύο δεξαμενές είχαν κωνοειδές σχήμα και ο ολικός τους όγκος ήταν 20 ml. Η επιφάνεια του προσφυόμενου ιστού ανάμεσα στις δύο δεξαμενές ήταν  $1,43\text{cm}^2$ . Όλες οι μετρήσεις της διαμεσοθηλιακής ηλεκτρικής διαφοράς δυναμικού έγιναν στους  $37^\circ\text{C}$ . Ο ιστός διαβρεχόταν από διάλυμα KRB και από τις δύο επιφάνειές του, το οποίο συνεχώς ελάμβανε οξυγόνο από μείγμα αερίου  $95\%\text{O}_2 - 5\%\text{CO}_2$ , που παρέμενε σταθερό κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας, με σκοπό να εξασφαλίζει τη ζωτικότητα του ιστού.

Η διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική διαφορά δυναμικού κατά μήκος του πνευμονικού και του τοιχωματικού υπεζωκότα μετρήθηκε με ηλεκτρόδια Ag/AgCl (3M KCl, 3% άγαρ) τοποθετημένα σε απόσταση 3mm από κάθε επιφάνεια. Η συνολική απόδοση των ηλεκτροδίων ενισχύθηκε (model DVC-3 with input impedance  $10^{12} \Omega$ , World Precision Instruments, USA). Για να καθορισθεί η ανταπόκριση του δυναμικού σε εξωγενή χορήγηση ρεύματος, συνεχές ρεύμα χορηγήθηκε από μία συσκευή voltage-clamp (model DVC-1000, World Precision Instruments, USA) (Εικόνα 6).

Η μεσοθηλιακή κυτταρική μεμβράνη που βρίσκεται in vivo προς την υπεζωκοτική κοιλότητα, θα αναφέρεται ως έσω, τόσο για τον πνευμονικό, όσο και για τον τοιχωματικό υπεζωκότα. Παρομοίως, η

μεσοθηλιακή κυτταρική μεμβράνη που βρίσκεται in vivo προς το διάμεσο ιστό (προς την παροχή αίματος), θα αναφέρεται ως έξω, για πνευμονικό και τοιχωματικό υπεζωκότα εξίσου.

Μετά την τοποθέτηση του υπεζωκότα μεταξύ των δεξαμενών της αντλίας, ο ιστός αφήνεται να ισορροπήσει τουλάχιστον για 30'. Μετά την περίοδο εξισορρόπησης, η ηλεκτρική διαφορά δυναμικού μετράται για 60' (1ο, 5ο, 10ο, 15ο, 30ο, 45ο, 60ο min) υπό συνεχή χορήγηση ρεύματος ποικίλης έντασης (0 – 400μΑ, με θετική και αρνητική πολικότητα) [79]. Αυτές οι μετρήσεις διαφοράς δυναμικού αντιπροσωπεύουν τα πειράματα ελέγχου των ιστών αναφοράς (control). Η ηλεκτρική διαφορά δυναμικού (PD) μετράται σε όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας, για να πιστοποιείται η ακεραιότητα και η ζωτικότητα του ιστού που χρησιμοποιήθηκε [18]. Η διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση ( $R_{TM}$ ) υπολογίστηκε από τη διαφορά δυναμικού (PD) σύμφωνα με το νόμο του Ohm, καθώς τόσο ο πνευμονικός, όσο και ο τοιχωματικός υπεζωκότας συμπεριφέρονται ως ωμικοί αντιστάτες [79].

Ο αριθμός των πειραμάτων ελέγχου (control) που διεξήχθησαν ήταν πενήντα (50) για τον πνευμονικό και πενήντα (50) για τον τοιχωματικό υπεζωκότα, ιστικά δείγματα των οποίων ελήφθησαν είτε από το ίδιο, είτε από διαφορετικά πρόβατα. Μετά την περίοδο εξισορρόπησης του ιστού, διαλύματα αλδοστερόνης (d-aldosterone, Sigma Chemicals Co, USA), καθώς και διαλύματα αντιδιουρητικής ορμόνης (arginine vasopressin, Sigma Chemicals Co, USA) προστέθηκαν να επιδράσουν στην έσω επιφάνεια του πνευμονικού υπεζωκότα (αριθμός πειραμάτων

n=6). Μετά 60' από την προσθήκη του διαλύματος, νέο δείγμα ιστού αντικαθιστούσε το προηγούμενο και μετά την περίοδο εξισορρόπησης σε διάλυμα KRB, διαλύματα αλδοστερόνης ή αντιδιουρητικής ορμόνης (ADH) εφαρμόζονταν στην έξω επιφάνεια αυτή τη φορά (αριθμός πειραμάτων n=6) και μετρήσεις PD γίνονταν επίσης για 60'. Κατά τον ίδιο τρόπο διεξήχθησαν και τα πειράματα του τοιχωματικού υπεζωκότα. Η συνεχής ανακατανομή του διαλύματος που εφαρμοζόταν στον ιστό, εξασφαλιζόταν μέσω της συνεχούς παροχής οξυγόνου.

Τα διαλύματα αλδοστερόνης παρασκευάζονταν μέσω διάλυσης σε αιθανόλη [72, 138, 155], λόγω αδυναμίας υδατοδιαλυτότητας των στεροειδών. Διεξήχθησαν πειράματα με προσθήκη μόνο αιθανόλης 0,95% και τα αποτελέσματα δεν ανέδειξαν αλλαγές στη PD και στη  $R_{TM}$  του ιστού (μη στατιστικά σημαντική διαφορά).

Τα διαλύματα της ADH παρασκευάζονταν απευθείας σε διάλυμα KRB, λόγω της ικανότητας υδατοδιάλυσης των πεπτιδικών ουσιών – πρωτεϊνών.

Στα πειράματα που διεξήχθησαν εκτιμήθηκε η δοσοεξαρτώμενη επίδραση τόσο της αλδοστερόνης, όσο και της ADH (η συγκέντρωση των διαλυμάτων κυμαινόταν από  $10^{-7}M - 10^{-4}M$ ). Η συγκέντρωση  $10^{-5}M$  επιλέχθηκε τελικά τόσο για την αλδοστερόνη, όσο και για την ADH, γιατί ήταν η καλύτερα μελετώμενη με τη χρήση της λιγότερης ποσότητας ουσίας.

Σε ορισμένα πειράματα (n=6, για κάθε σειρά), εκτιμήθηκε η δοσοεξαρτώμενη επίδραση της σπειρολακτόνης (κλαστικός μεταλλοκορτικοειδικός ανταγωνιστής), της οποίας η συγκέντρωση



κυμαινόταν επίσης από  $10^{-7}\text{M}$  –  $10^{-4}\text{M}$ . Επίσης, διαλύματα αλδοστερόνης  $10^{-5}\text{M}$  με σπειρολακτόνη  $10^{-4}\text{M}$  προστέθηκαν στη έσω και έξω επιφάνεια τόσο του πνευμονικού, όσο και του τοιχωματικού υπεζωκότα και μελετήθηκε η χρονοεξαρτώμενη δράση τους στη PD και  $R_{TM}$  του ιστού.

Με σκοπό να διερευνηθεί αν η αλδοστερόνη επάγει την παραγωγή οξειδίου του αζώτου (NO), διεξήχθησαν πειράματα με διαλύματα αλδοστερόνης  $10^{-5}\text{M}$  με L-NAME (N<sup>ω</sup>-nitro-L-arginine methyl ester)  $10^{-2}\text{M}$ ,  $10^{-3}\text{M}$ ,  $10^{-4}\text{M}$ . Ο L-NAME αποτελεί έναν αναστολέα της σύνθεσης του NO, ο οποίος δεν έχει στατιστικά σημαντική επίδραση στον υπεζωκότα [80]. Διαλύματα L-NAME συγκεντρώσεων  $10^{-2}\text{M}$  –  $10^{-5}\text{M}$  προστέθηκαν μόνα τους στην έσω και έξω επιφάνεια του πνευμονικού (n=6) και του τοιχωματικού (n=6) υπεζωκότα, με σκοπό να μελετηθεί αν μεταβάλλουν τις ηλεκτροφυσιολογικές ιδιότητες του ιστού.

Για τον ίδιο σκοπό διερεύνησης αν η ADH επάγει τη παραγωγή NO, έγιναν πειράματα με διαλύματα ADH  $10^{-5}\text{M}$  με L-NAME  $10^{-3}\text{M}$  και  $10^{-4}\text{M}$  (n=6, για κάθε σειρά).

Προκειμένου να εξετασθούν οι μηχανισμοί δράσης της αλδοστερόνης και της ADH στον υπεζωκότα, καθώς και η πιθανή επίδραση του NO διαμέσου μεταφοράς ηλεκτρολυτών, διεξήχθησαν πειράματα με αλδοστερόνη  $10^{-5}\text{M}$ , καθώς και με ADH  $10^{-5}\text{M}$ , με προσθήκη ουαμπαΐνης  $10^{-3}\text{M}$  και με προσθήκη αμιλορίδης  $10^{-3}\text{M}$  (n=6, για κάθε σειρά). Η ουαμπαΐνη αποτελεί έναν αναστολέα της αντλίας

$\text{Na}^+ - \text{K}^+$  και η αμιλορίδη αποτελεί αναστολέα της μεταφοράς  $\text{Na}^+$  και της ανταλλαγής  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ .

Οι αναφερόμενες συγκεντρώσεις σπειρολακτόνης, L-NAME, ουαμπαΐνης και αμιλορίδης επιλέχθηκαν βάσει της υψηλής ανασταλτικής επίδρασης των συγκεκριμένων ουσιών.

Η στατιστική ανάλυση έγινε σύμφωνα με το πρόγραμμα SPSS V. 11.0 for Windows. Όλα τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέσοι όροι  $\pm$  SE (Standard Error of mean). Η στατιστική σημαντικότητα καθορίστηκε με Paired Student's T-Test και με One-Way ANOVA. Θεωρήθηκε ύπαρξη στατιστικά σημαντικής διαφοράς όταν το p ήταν μικρότερο του 0,05.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

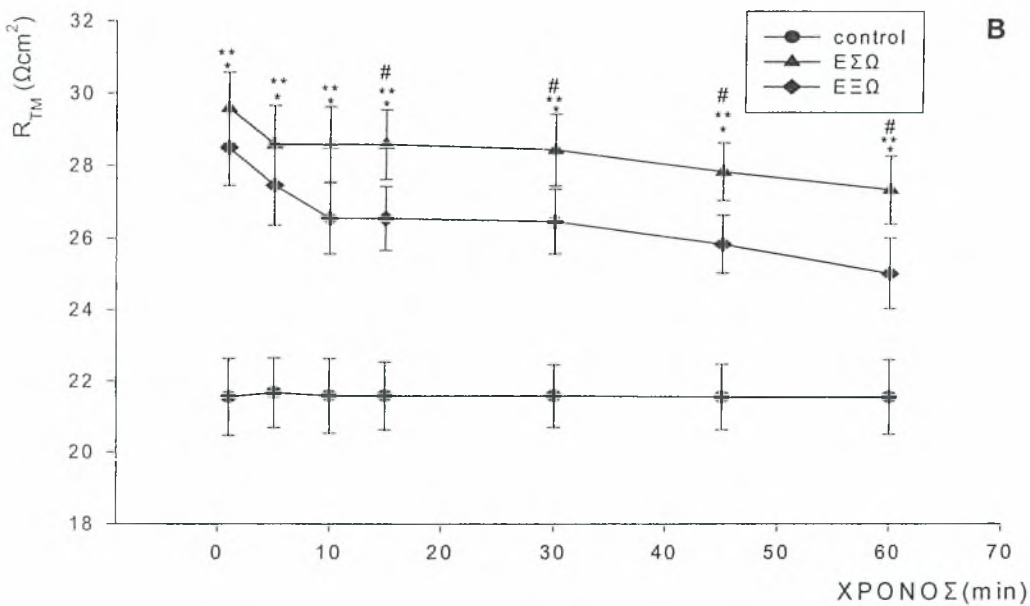
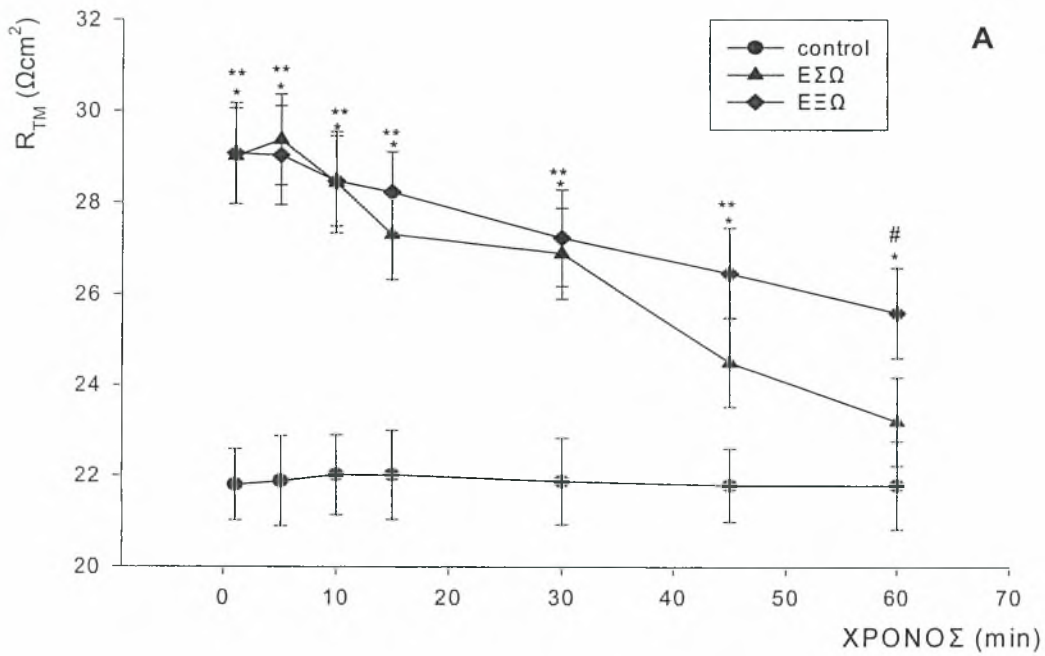
### Χρονική επίδραση αλδοστερόνης

Η προσθήκη της αλδοστερόνης στον υπεζωκότα αύξησε την  $R_{TM}$  ταχέως, μέσα σε ένα λεπτό από το χρόνο μηδέν (Διάγραμμα 1, αλδοστερόνη σε σύγκριση με τον ιστό αναφοράς). Αυτή η επίδραση παρατηρήθηκε και στις δύο επιφάνειες του υπεζωκότα μετά την προσθήκη της αλδοστερόνης και διήρκησε επί 60 λεπτά. Για τον πνευμονικό υπεζωκότα, η  $R_{TM}$  σταδιακά μειώθηκε, αλλά δεν επέστρεψε στο επίπεδο του ιστού αναφοράς 60' μετά την προσθήκη της ουσίας από την έξω επιφάνεια. Από την άλλη μεριά, η  $R_{TM}$  μειώθηκε μέχρι το επίπεδο του ιστού αναφοράς 60' μετά την προσθήκη της ορμόνης από την έσω επιφάνεια (Διάγραμμα 1Α). Για τον τοιχωματικό υπεζωκότα, η  $R_{TM}$  μειώθηκε, αλλά παρέμεινε σταθερή και

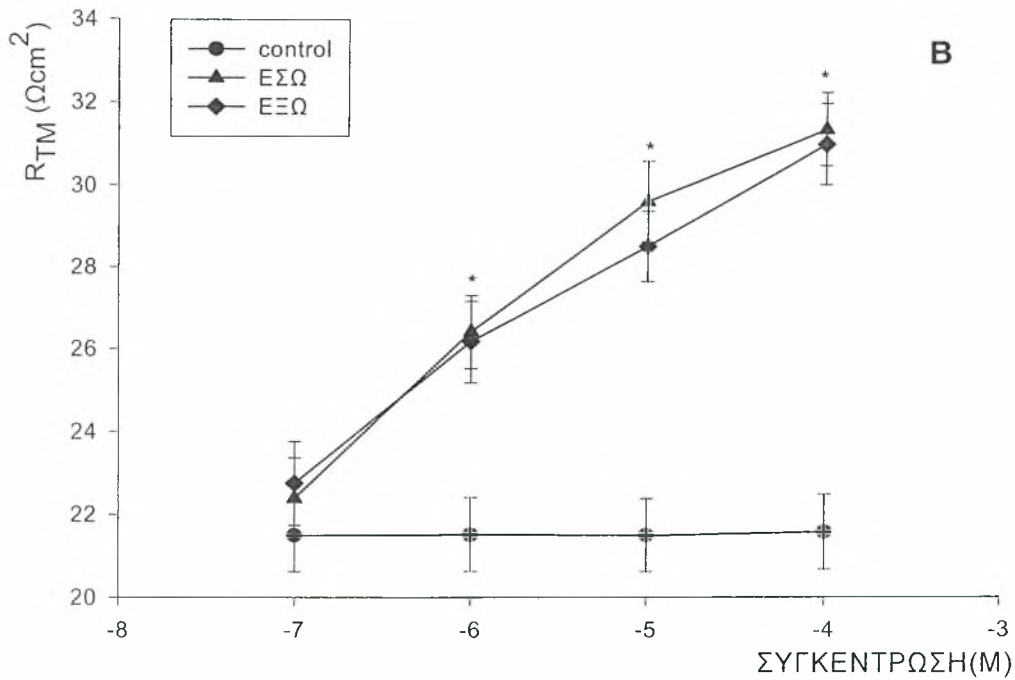
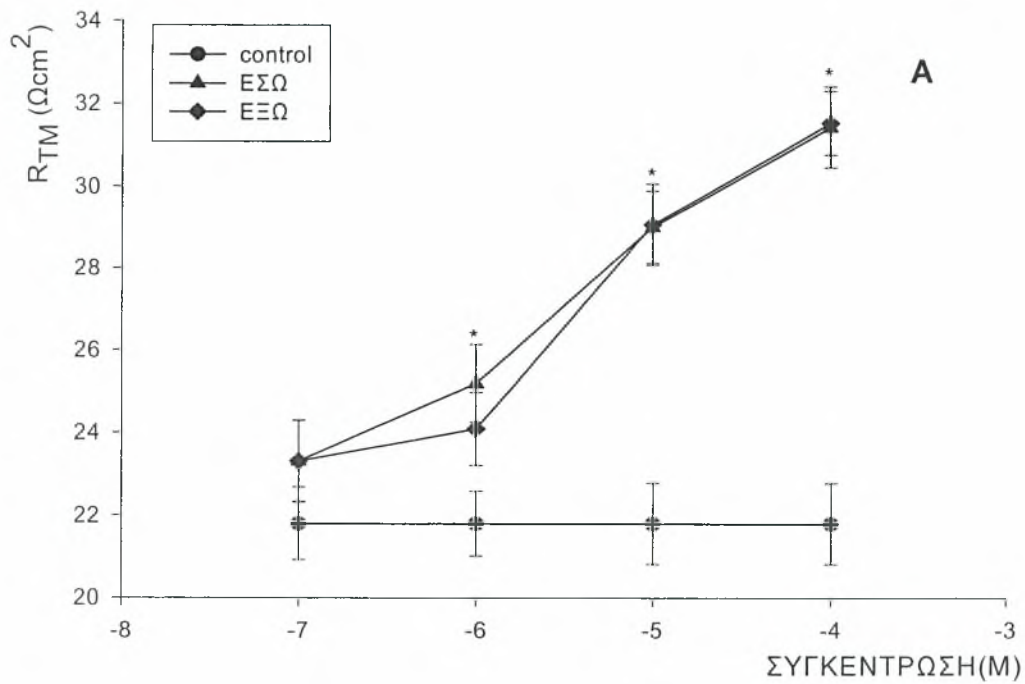
μεγαλύτερη από το επίπεδο του ιστού αναφοράς μετά από 60΄(Διάγραμμα 1B). Το αποτέλεσμα αυτό διαπιστώθηκε μετά την επίδραση της αλδοστερόνης και από τις δύο επιφάνειες του τοιχωματικού υπεζωκότα.

### **Συγκεντρωτική επίδραση αλδοστερόνης**

Το διάγραμμα 2 αναδεικνύει πως η αλδοστερόνη αύξησε την  $R_{TM}$  του υπεζωκότα για συγκεντρώσεις από  $10^{-6}M$  έως  $10^{-4}M$ . Η ορμόνη φαίνεται ότι έχει δοσοεξαρτώμενη επίδραση, τόσο στον πνευμονικό (Διάγραμμα 2A), όσο και στον τοιχωματικό υπεζωκότα (Διάγραμμα 2B).



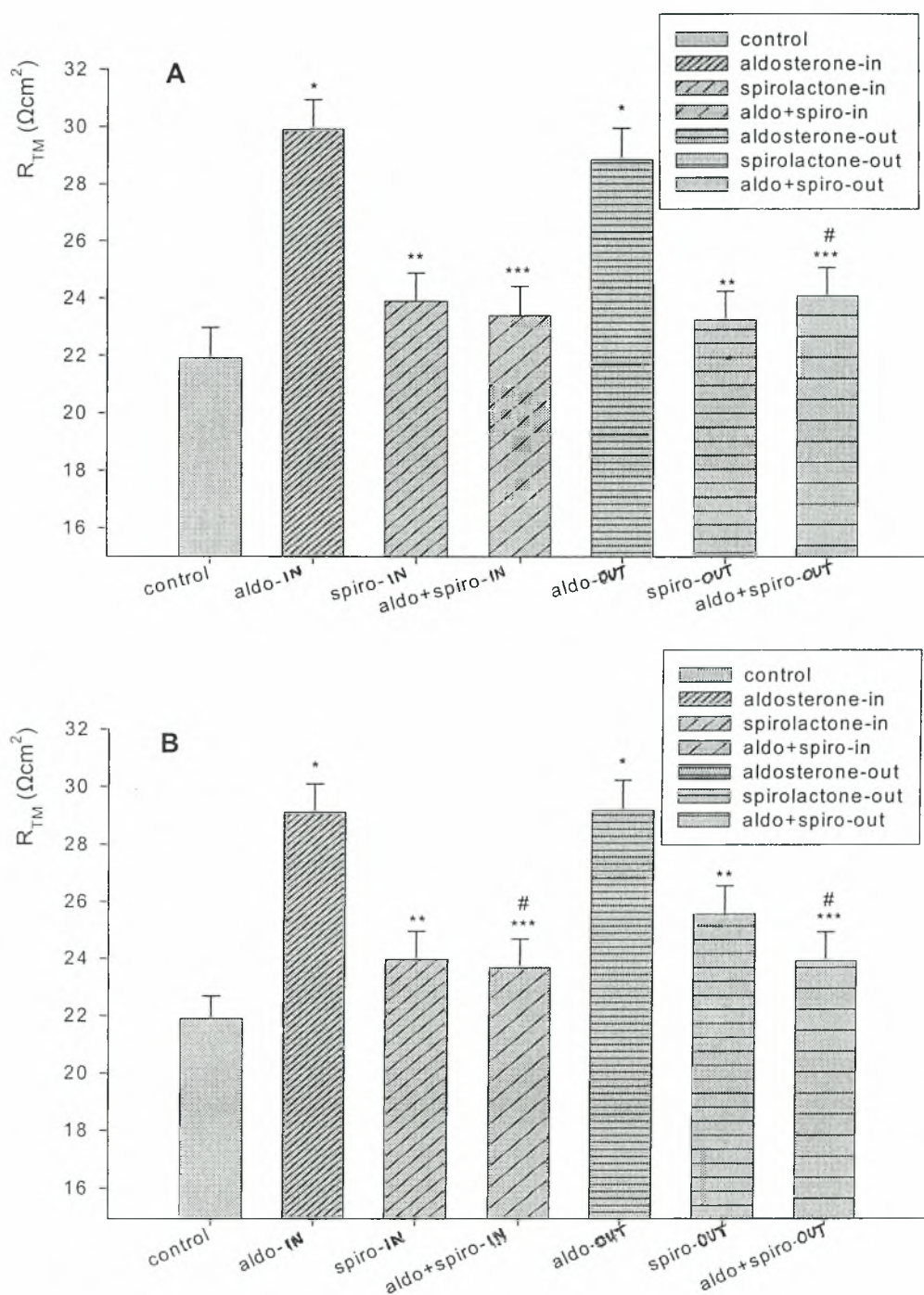
**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 1.** Χρονοεξαρτώμενες επιδράσεις αλδοστερόνης ( $10^{-5}M$ ) στην  $R_{TM}$  του πνευμονικού (A) και τοιχωματικού (B) υπεζωκότα, κατά τη διάρκεια της πρώτης ώρας (60 min) της προσθήκης αλδοστερόνης. \* αλδοστερόνη έξω σε σύγκριση με control. \*\* αλδοστερόνη έσω σε σύγκριση με control. # αλδοστερόνη έξω σε σύγκριση με αλδοστερόνη έσω,  $p < 0,05$ .



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 2.** Καμπύλη δόσης – απάντησης της αλδοστερόνης, για συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από  $10^{-7}M$  έως  $10^{-4}M$ , στην  $R_{TM}$  του πνευμονικού (A) και τοιχωματικού (B) υπεζωκότα στο 1<sup>ο</sup> λεπτό. \* αλδοστερόνη έξω και έσω σε σύγκριση με control,  $p < 0,05$ .

## Επίδραση της σπειρολακτόνης στη δράση της αλδοστερόνης

Η ανταγωνιστική επίδραση της σπειρολακτόνης στη δράση της αλδοστερόνης για την έσω και έξω επιφάνεια του πνευμονικού και του τοιχωματικού υπεζωκότα παρουσιάζεται στο διάγραμμα 3. Η αύξηση της  $R_{TM}$  που επάγεται από την αλδοστερόνη ( $10^{-5}M$ ) ανεστάλη μερικώς από τη σπειρολακτόνη ( $10^{-4}M$ ), τόσο για τον πνευμονικό (Διάγραμμα 3A), όσο και για τον τοιχωματικό (Διάγραμμα 3B) υπεζωκότα. Επιπλέον, η έκθεση του ιστού σε διάλυμα σπειρολακτόνης  $10^{-4}M$  εμφάνιζε παρόμοια δράση με αυτήν της αλδοστερόνης, αν και η αύξηση της  $R_{TM}$  ήταν μικρότερη από αυτήν της ορμόνης.



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 3.** Επίδραση αλδοστερόνης ( $10^{-5}\text{M}$ ), επίδραση σπειρολακτόνης ( $10^{-4}\text{M}$ ) και συνδυασμένες επιδράσεις αλδοστερόνης ( $10^{-5}\text{M}$ ) μαζί με σπειρολακτόνη ( $10^{-4}\text{M}$ ) στην  $R_{TM}$  του πνευμονικού (A) και τοιχωματικού (B) υπεζωκότα, μετά τη χορήγηση στην έσω και έξω επιφάνεια τους. \* αλδοστερόνη σε σύγκριση με control. \*\* σπειρολακτόνη σε σύγκριση με control. \*\*\* aldo + spiro σε σύγκριση με αλδοστερόνη. # aldo + spiro σε σύγκριση με control,  $p < 0,05$ .

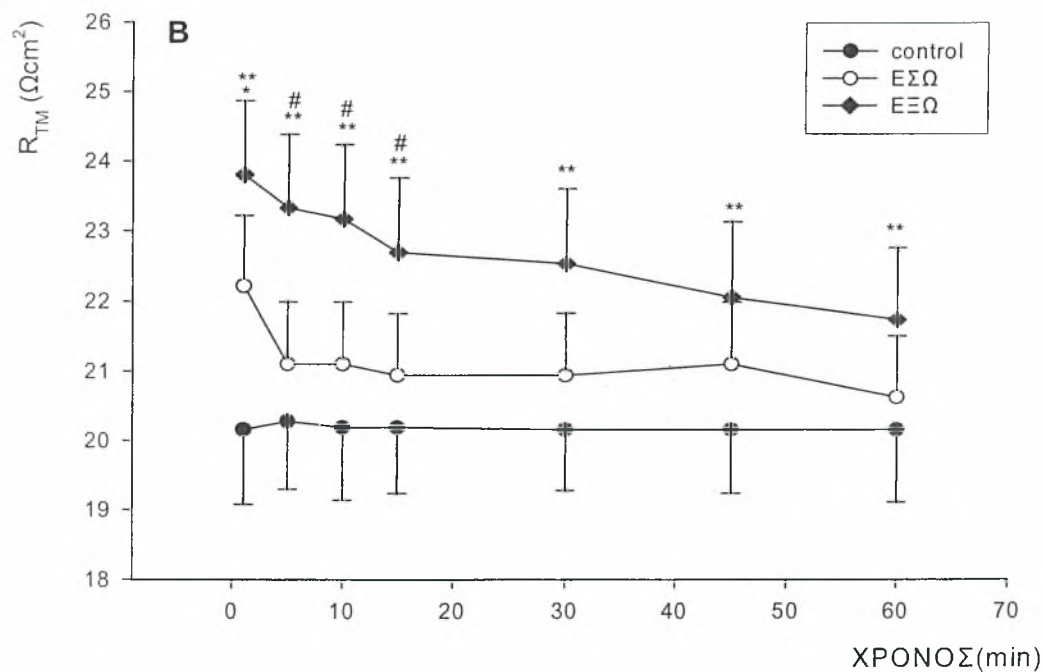
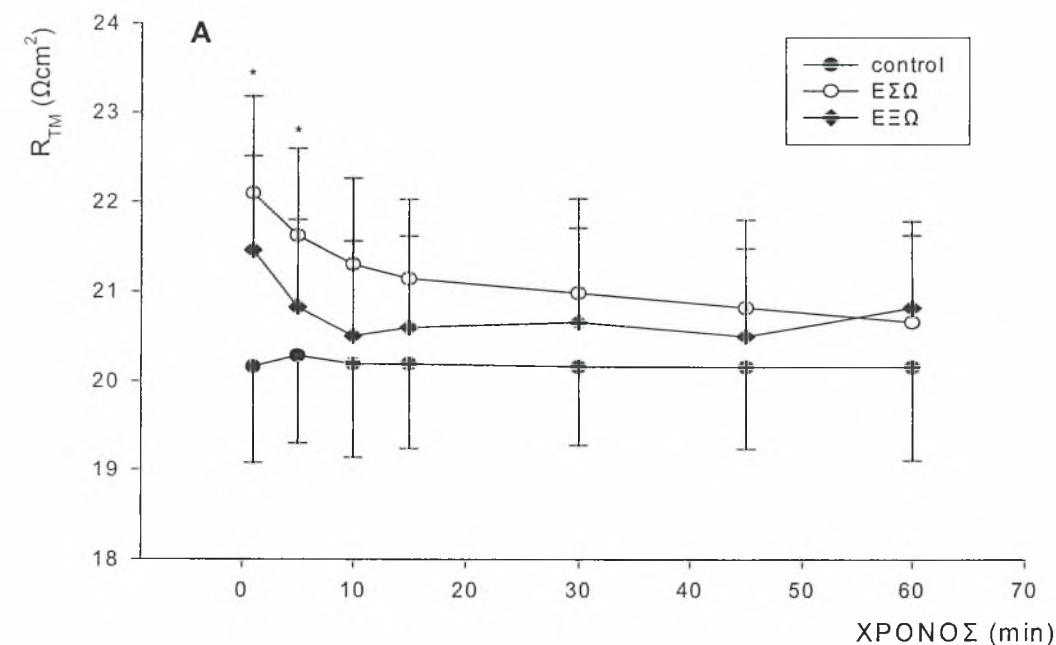
## **Χρονική επίδραση σπειρολακτόνης**

Η προσθήκη της σπειρολακτόνης στον υπεζωκότα αύξησε την  $R_{TM}$  ταχέως, μέσα σε ένα λεπτό από το χρόνο μηδέν (Διάγραμμα 4, σπειρολακτόνη σε σύγκριση με τον ιστό αναφοράς). Αυτή η επίδραση παρατηρήθηκε και στις δύο επιφάνειες του υπεζωκότα μετά την προσθήκη της σπειρολακτόνης. Για τον πνευμονικό υπεζωκότα, η  $R_{TM}$  μειώθηκε μετά το 5<sup>ο</sup> λεπτό και επέστρεψε στο επίπεδο του ιστού αναφοράς μετά την προσθήκη της ουσίας από την έσω επιφάνεια. Όμως, από την έξω επιφάνεια, η  $R_{TM}$  δεν αυξήθηκε στατιστικά σημαντικά πάνω από το επίπεδο του ιστού αναφοράς σε κανένα χρόνο (Διάγραμμα 4A). Για τον τοιχωματικό υπεζωκότα, η  $R_{TM}$  μειώθηκε μετά το 1<sup>ο</sup> λεπτό και επέστρεψε στο επίπεδο του ιστού αναφοράς μετά τη χορήγηση της ουσίας στην έσω επιφάνεια. Από την άλλη μεριά, η  $R_{TM}$  σταδιακά μειώθηκε, αλλά δεν επέστρεψε στο επίπεδο του ιστού αναφοράς 60' μετά την προσθήκη της ουσίας από την έξω επιφάνεια (σπειρολακτόνη σε σύγκριση με ιστό αναφοράς, Διάγραμμα 4B).

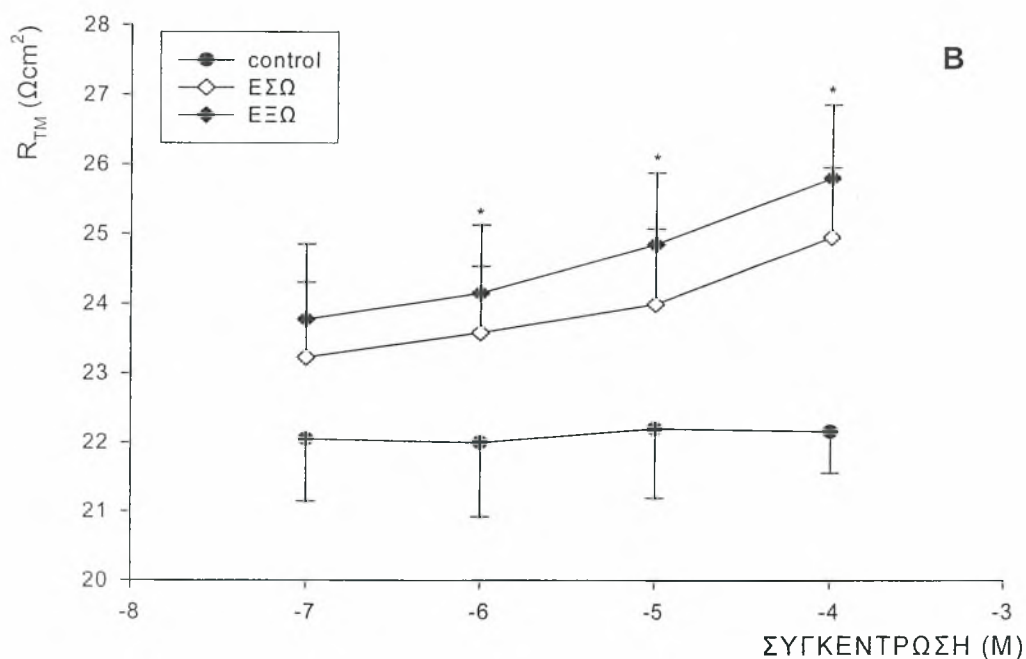
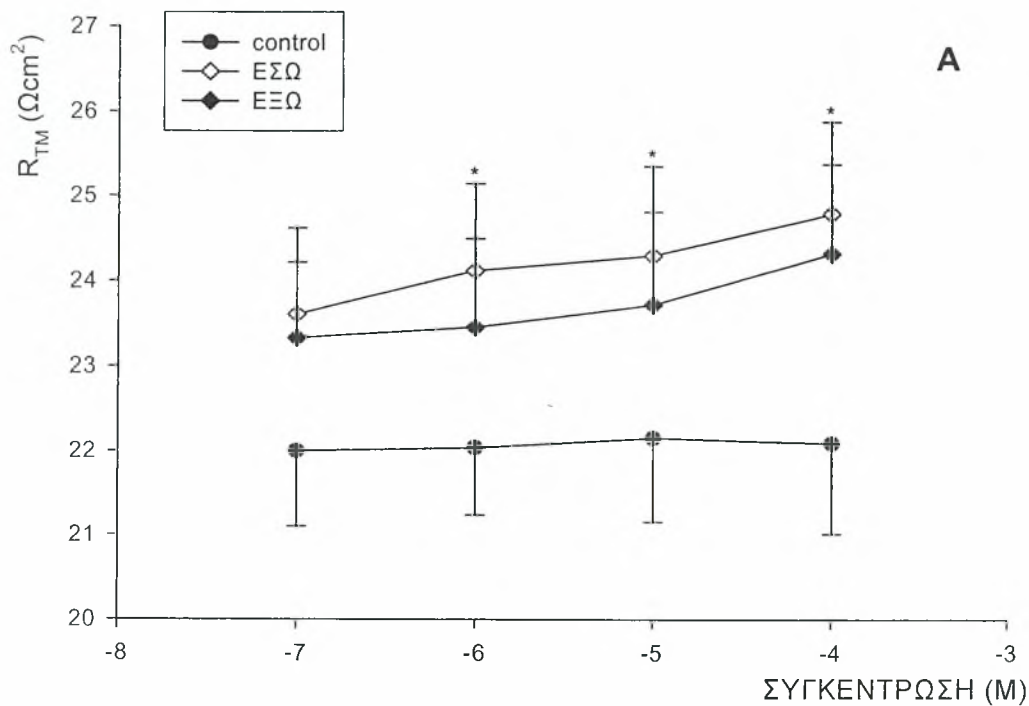
## **Συγκεντρωτική επίδραση σπειρολακτόνης**

Η καμπύλη συγκέντρωσης – απάντησης της σπειρολακτόνης φαίνεται στο διάγραμμα 5. Η μέγιστη επίδραση παρατηρήθηκε σε συγκέντρωση  $10^{-4}M$ , τόσο για τον πνευμονικό (Διάγραμμα 5A), όσο και για τον τοιχωματικό (Διάγραμμα 5B) υπεζωκότα.





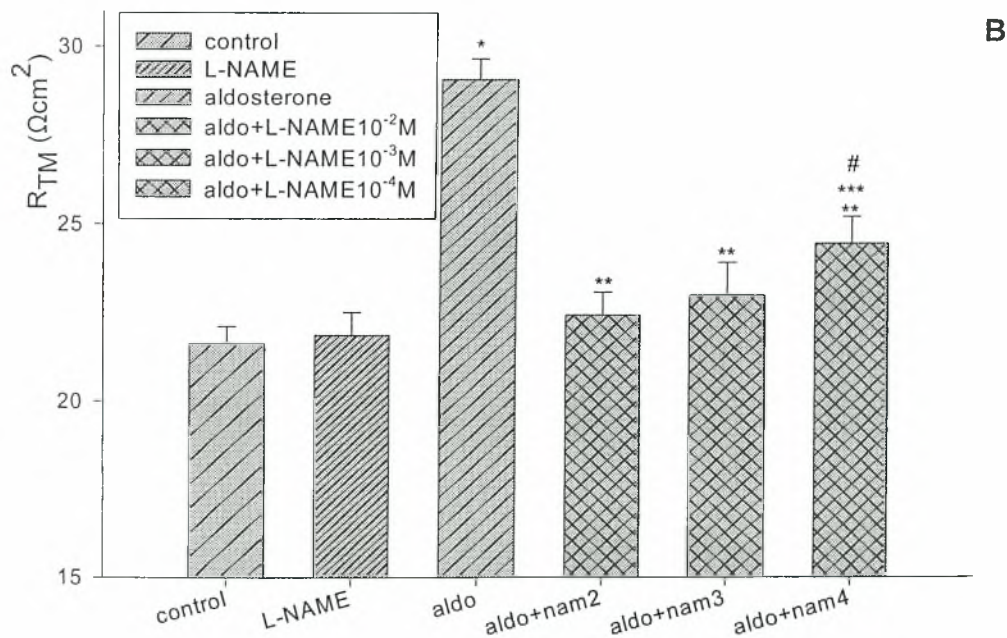
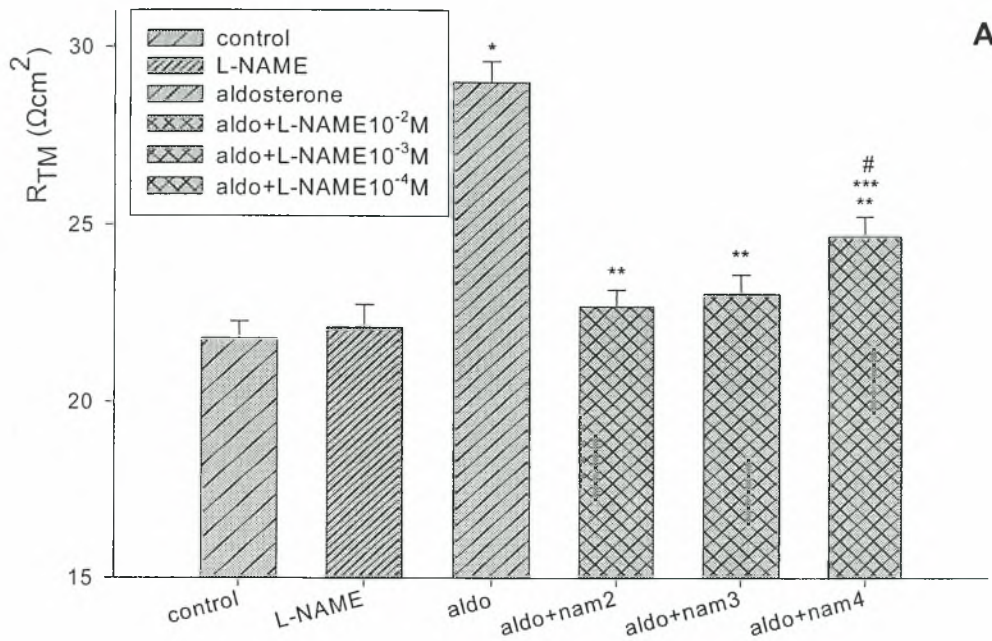
**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4.** Χρονοεξαρτώμενες επιδράσεις σπειρολακτόνης ( $10^4M$ ) στην  $R_{TM}$  του πνευμονικού (A) και τοιχωματικού (B) υπεζωκότα, κατά τη διάρκεια της πρώτης ώρας (60 min) της προσθήκης σπειρολακτόνης. \* σπειρολακτόνη έσω σε σύγκριση με control. \*\* σπειρολακτόνη έξω σε σύγκριση με control. # σπειρολακτόνη έξω vs σπειρολακτόνη έσω,  $p < 0,05$ .



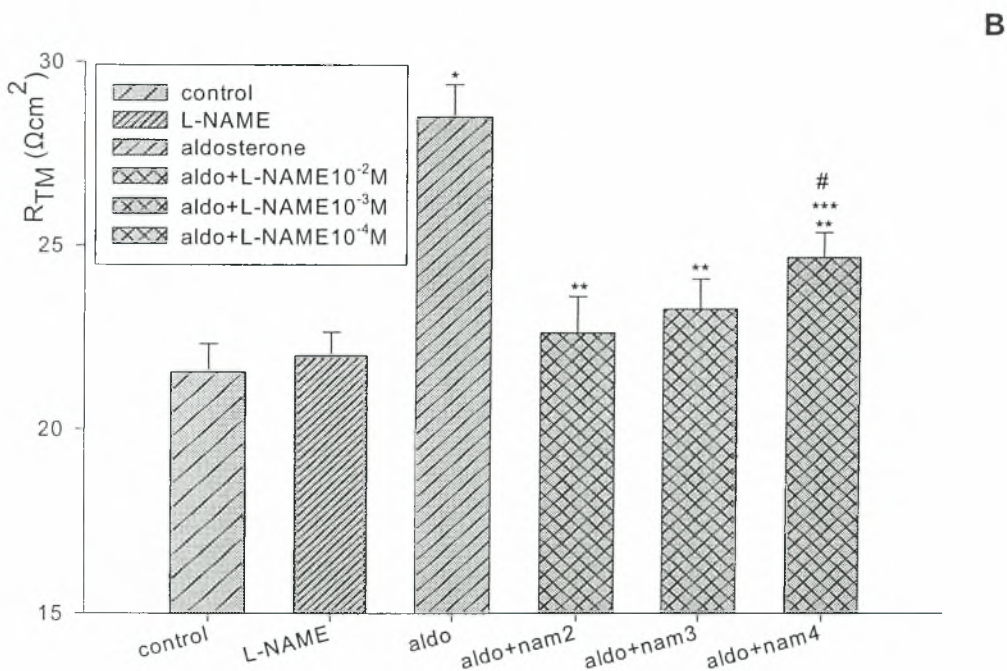
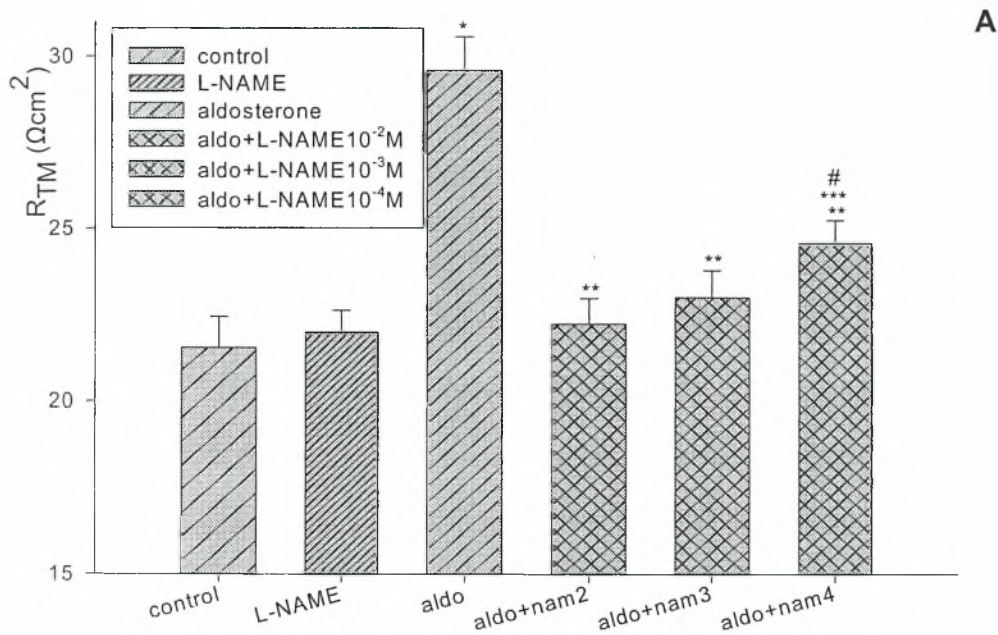
**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 5.** Καμπύλη δόσης – απάντησης της σπειρολακτόνης, για συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από  $10^{-7}M$  έως  $10^{-4}M$ , στην  $R_{TM}$  του πνευμονικού (A) και τοιχωματικού (B) υπεζωκότα στο 1<sup>ο</sup> λεπτό. \* σπειρολακτόνη έσω και έξω σε σύγκριση με control,  $p < 0,05$ .

## Επίδραση του L-NAME στη δράση της αλδοστερόνης

Για να διερευνηθεί αν η ταχεία αύξηση της  $R_{TM}$  που προκαλούσε η αλδοστερόνη συσχετιζόταν με το NO, προστέθηκε στον ιστό ο αναστολέας της συνθετάσης του NO, L-NAME. Όταν ο L-NAME συνδυάστηκε με την αλδοστερόνη, ανέστειλλε τη δράση της (αλδοστερόνη με L-NAME  $10^{-2}M - 10^{-4}M$  σε σύγκριση με αλδοστερόνη), τόσο για την έξω (Διάγραμμα 6A), όσο και για την έσω επιφάνεια (Διάγραμμα 6B) του πνευμονικού υπεζωκότα. Η ανασταλτική επίδραση του L-NAME στη δράση της αλδοστερόνης διαπιστώθηκε για όλες τις συγκεντρώσεις του L-NAME που χρησιμοποιήθηκαν ( $10^{-2}M - 10^{-4}M$ ). Επιπλέον, το ανασταλτικό αποτέλεσμα του L-NAME ήταν δοσοεξαρτώμενο. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στον τοιχωματικό υπεζωκότα, τόσο για την έξω (Διάγραμμα 7A), όσο και για την έσω (Διάγραμμα 7B) επιφάνειά του.



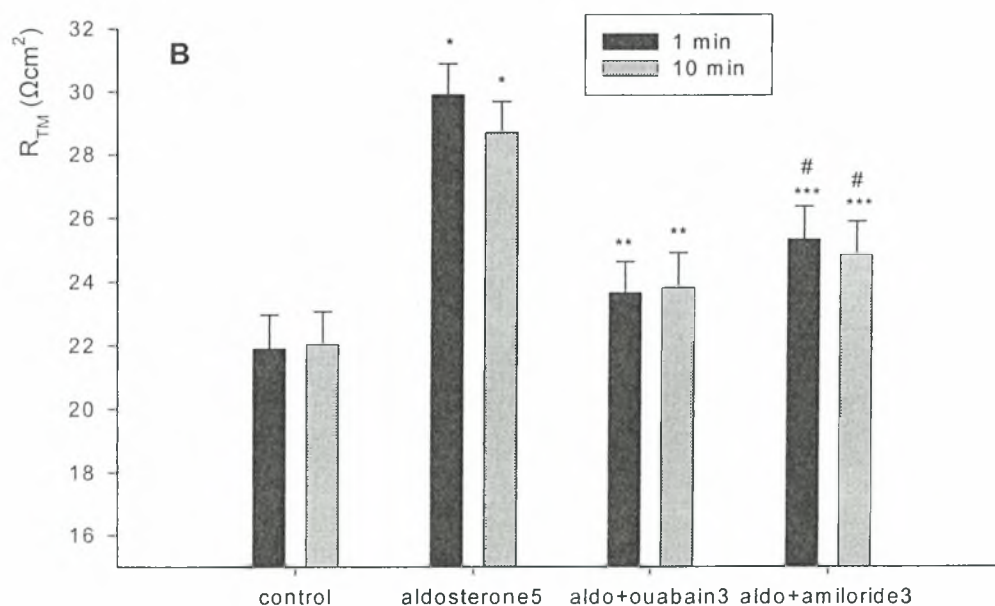
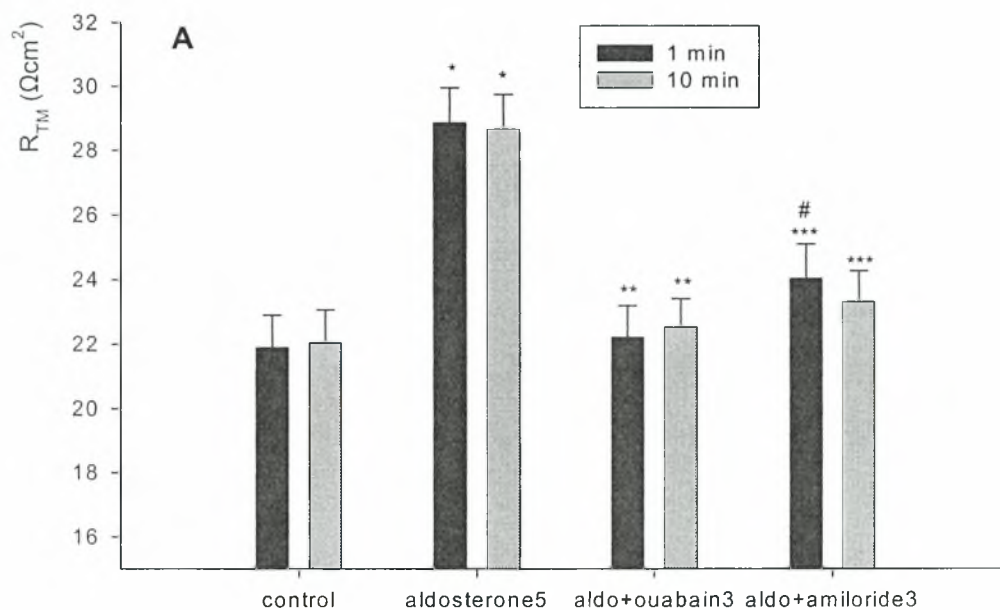
**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6.** Επιδράσεις αλδοστερόνης ( $10^{-5}M$ ), L-NAME ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}M$ ) και συνδυασμένες επιδράσεις αλδοστερόνης ( $10^{-5}M$ ) μαζί με L-NAME ( $10^{-2} - 10^{-4}M$ ) στην  $R_{TM}$  του πνευμονικού υπεζωκότα, μετά τη χορήγηση των ουσιών στην έξω (A) και έσω (B) επιφάνειά του. \* αλδοστερόνη σε σύγκριση με control. \*\* αλδοστερόνη με L-NAME σε σύγκριση με αλδοστερόνη. \*\*\* aldo + nam4 σε σύγκριση με aldo + nam2. # aldo + nam4 σε σύγκριση με control,  $p < 0,05$ .



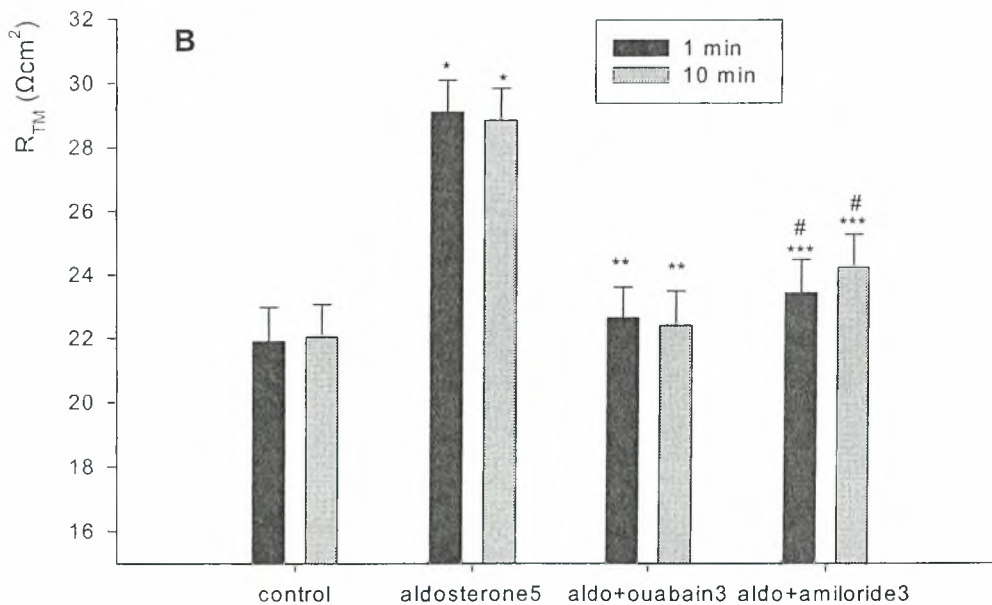
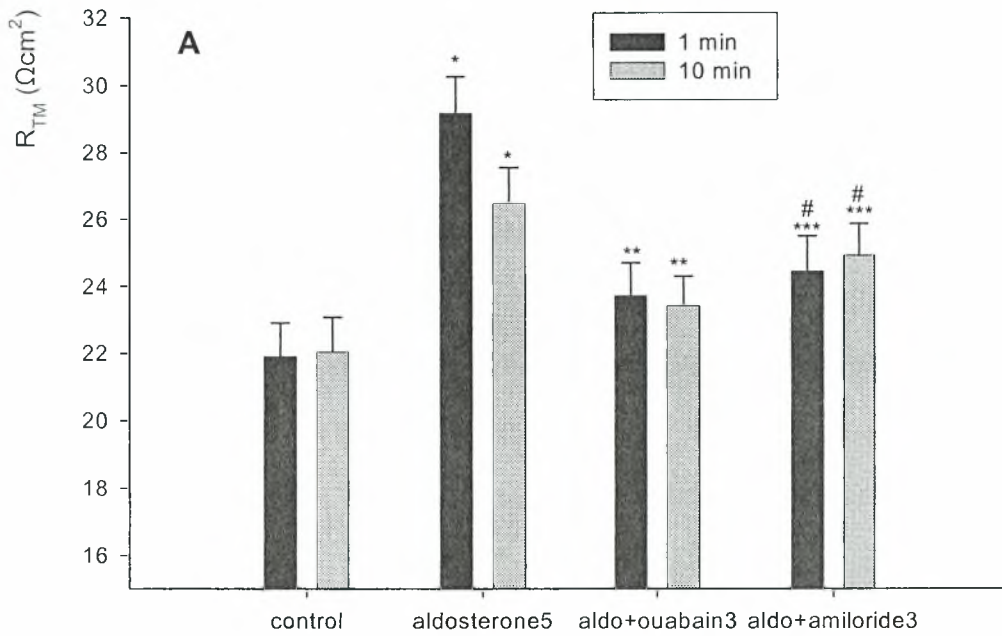
**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 7.** Επιδράσεις αλδοστερόνης ( $10^{-5}\text{M}$ ), L-NAME ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}\text{M}$ ) και συνδυασμένες επιδράσεις αλδοστερόνης ( $10^{-5}\text{M}$ ) μαζί με L-NAME ( $10^{-2} - 10^{-4}\text{M}$ ) στην  $R_{TM}$  του τοιχωματικού υπεζωκότα, μετά τη χορήγηση των ουσιών στην έξω (A) και έσω (B) επιφάνειά του. \* αλδοστερόνη σε σύγκριση με control. \*\* αλδοστερόνη με L-NAME σε σύγκριση με αλδοστερόνη. \*\*\* aldo + nam4 σε σύγκριση με aldo + nam2. # aldo + nam4 σε σύγκριση με control,  $p < 0,05$ .

## Επιδράσεις της ουαμπαΐνης και της αμιλορίδης στη δράση της αλδοστερόνης

Οι ανασταλτικές επιδράσεις της ουαμπαΐνης ( $10^{-3}\text{M}$ ) και της αμιλορίδης ( $10^{-3}\text{M}$ ) στη δράση της αλδοστερόνης στην έσω και έξω επιφάνεια του πνευμονικού υπεζωκότα παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 8. Όταν η αμιλορίδη και η ουαμπαΐνη συνδυάστηκαν με την ορμόνη, περιορίζαν τη δράση που είχε μόνη της (αλδοστερόνη με ουαμπαΐνη  $10^{-3}\text{M}$  σε σύγκριση με αλδοστερόνη και αλδοστερόνη με αμιλορίδη  $10^{-3}\text{M}$  σε σύγκριση με αλδοστερόνη) στην έξω (Διάγραμμα 8A) και έσω (Διάγραμμα 8B) επιφάνεια του πνευμονικού υπεζωκότα, 1 και 10 λεπτά μετά τη χορήγηση των διαλυμάτων. Παρόμοια αποτελέσματα διαπιστώθηκαν και στον τοιχωματικό υπεζωκότα, τόσο για την έξω (Διάγραμμα 9A), όσο και για την έσω (Διάγραμμα 9B) επιφάνειά του.



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 8.** Επιδράσεις αλδοστερόνης ( $10^{-5}\text{M}$ ), συνδυασμένες επιδράσεις αλδοστερόνης ( $10^{-5}\text{M}$ ) με ουαπαΐνη ( $10^{-3}\text{M}$ ) και συνδυασμένες επιδράσεις αλδοστερόνης ( $10^{-5}\text{M}$ ) με αμιλορίδη ( $10^{-3}\text{M}$ ) στην  $R_{TM}$  του πνευμονικού υπεζωκότα, μετά την προσθήκη των ουσιών στην έξω (A) και έσω (B) επιφάνειά του. \* αλδοστερόνη σε σύγκριση με control. \*\* aldo + ouabain 3 σε σύγκριση με aldosterone5. \*\*\* aldo + amiloride3 σε σύγκριση με aldosterone5. # aldo + amiloride3 σε σύγκριση με control,  $p < 0,05$ .

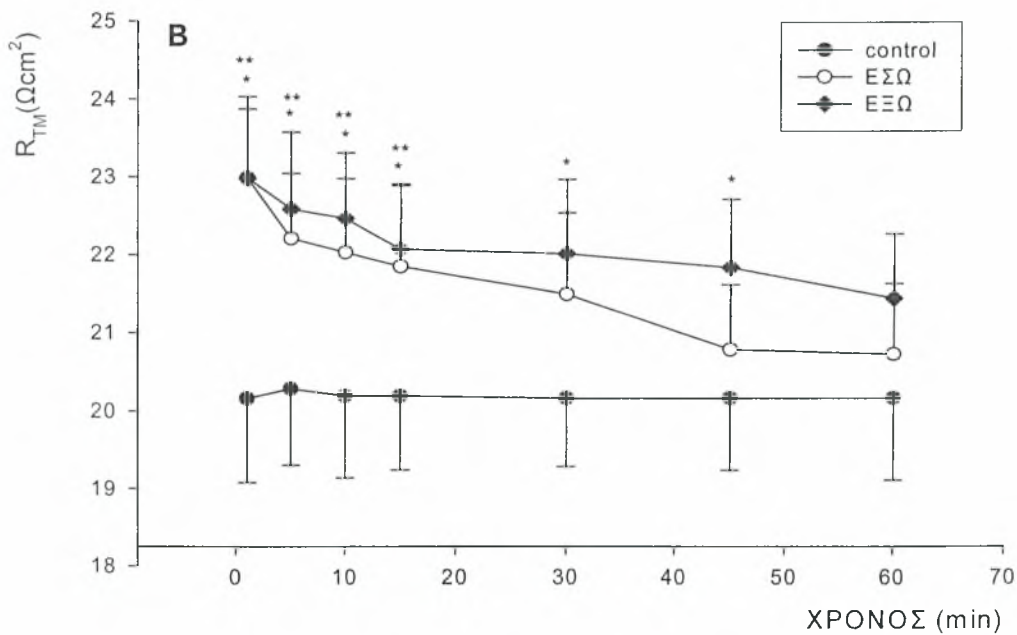
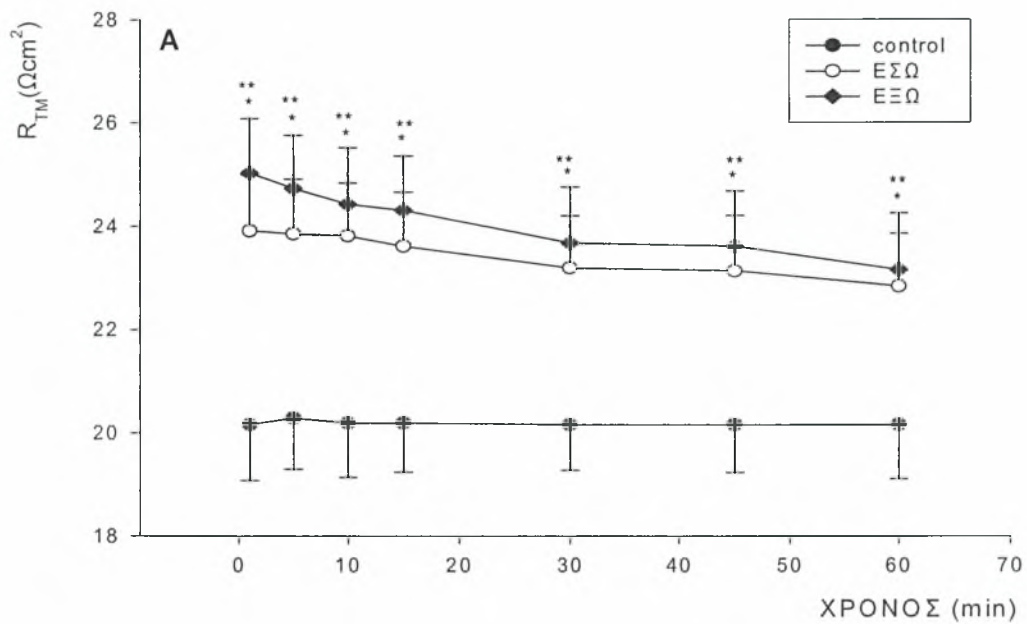


**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 9.** Επιδράσεις αλδοστερόνης ( $10^{-5}M$ ), συνδυασμένες επιδράσεις αλδοστερόνης ( $10^{-5}M$ ) με ουαπαΐνη ( $10^{-3}M$ ) και συνδυασμένες επιδράσεις αλδοστερόνης ( $10^{-5}M$ ) με αμιλορίδη ( $10^{-3}M$ ) στην  $R_{TM}$  του τοιχωματικού υπεζωκότα, μετά την προσθήκη των ουσιών στην έξω (A) και έσω (B) επιφάνειά του. \*αλδοστερόνη σε σύγκριση με control. \*\*aldo + ouabain 3 σε σύγκριση με aldosterone5. \*\*\*aldo + amiloride3 σε σύγκριση με aldosterone5. #aldo + amiloride3 σε σύγκριση με control,  $p < 0,05$ .



## Χρονική επίδραση αντιδιουρητικής ορμόνης (ADH)

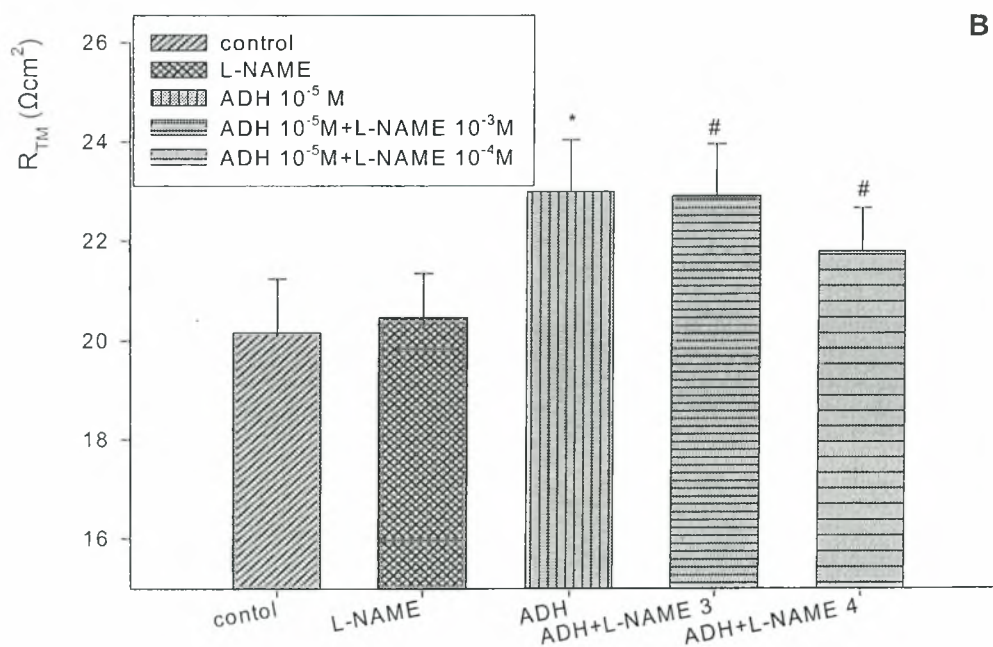
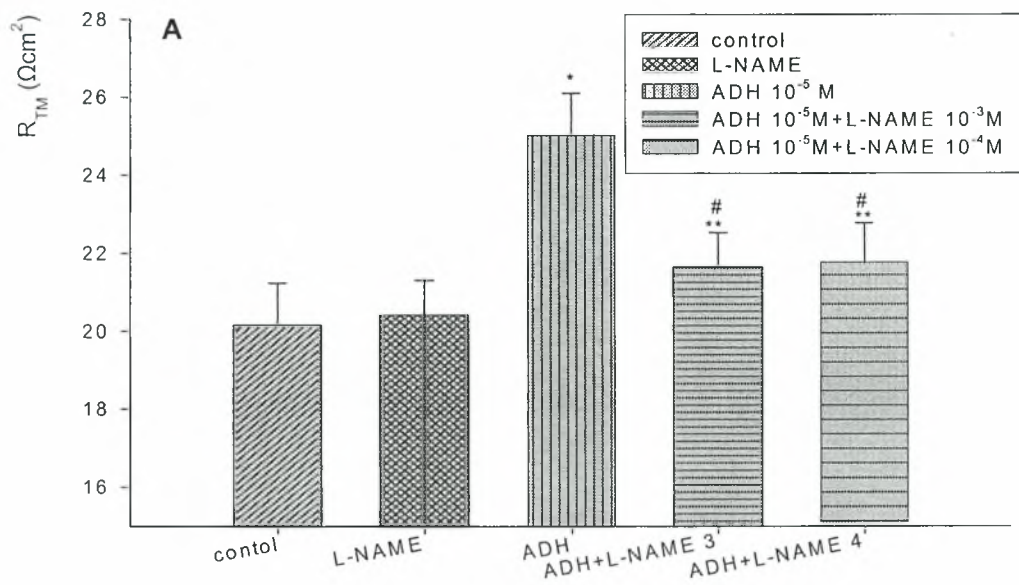
Η προσθήκη της αντιδιουρητικής ορμόνης στον υπεζωκότα αύξησε την  $R_{TM}$  ταχέως, μέσα σε ένα λεπτό από το χρόνο μηδέν (Διάγραμμα 10, ADH σε σύγκριση με τον ιστό αναφοράς). Αυτή η επίδραση παρατηρήθηκε και στις δύο επιφάνειες του υπεζωκότα μετά την προσθήκη της ADH. Για τον πνευμονικό υπεζωκότα, η  $R_{TM}$  σταδιακά μειώθηκε, αλλά δεν επέστρεψε στο επίπεδο του control 60' μετά τη χορήγηση της ουσίας, τόσο για την έσω, όσο και για την έξω επιφάνεια (Διάγραμμα 10A). Για τον τοιχωματικό υπεζωκότα, η  $R_{TM}$  μειώθηκε σταδιακά 20' μετά την προσθήκη της ορμόνης στην έσω επιφάνεια και 45' μετά τη χορήγησή της στην έξω επιφάνεια (Διάγραμμα 10B).



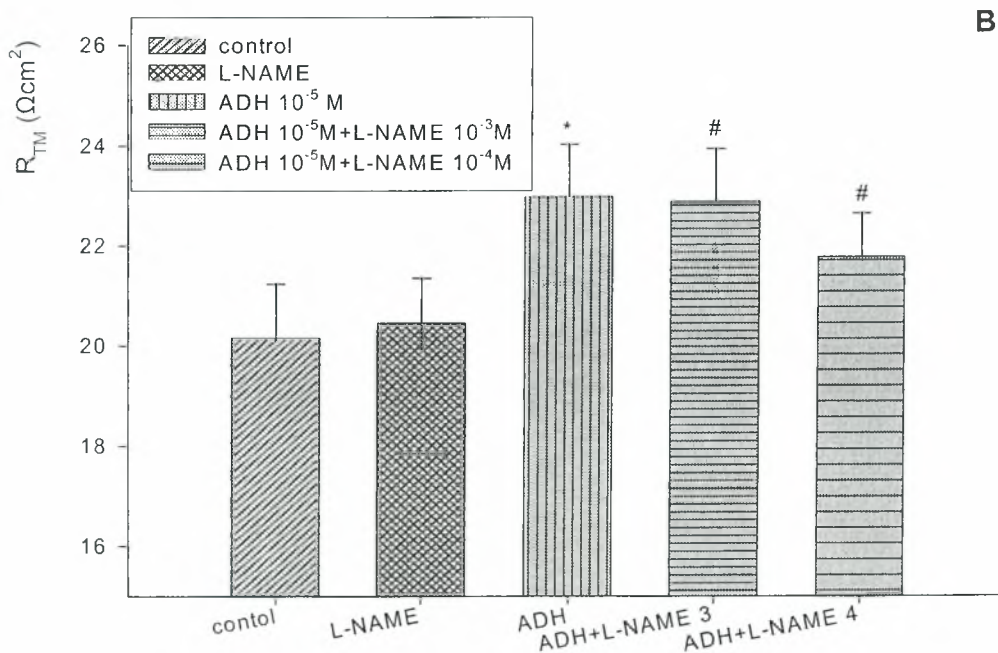
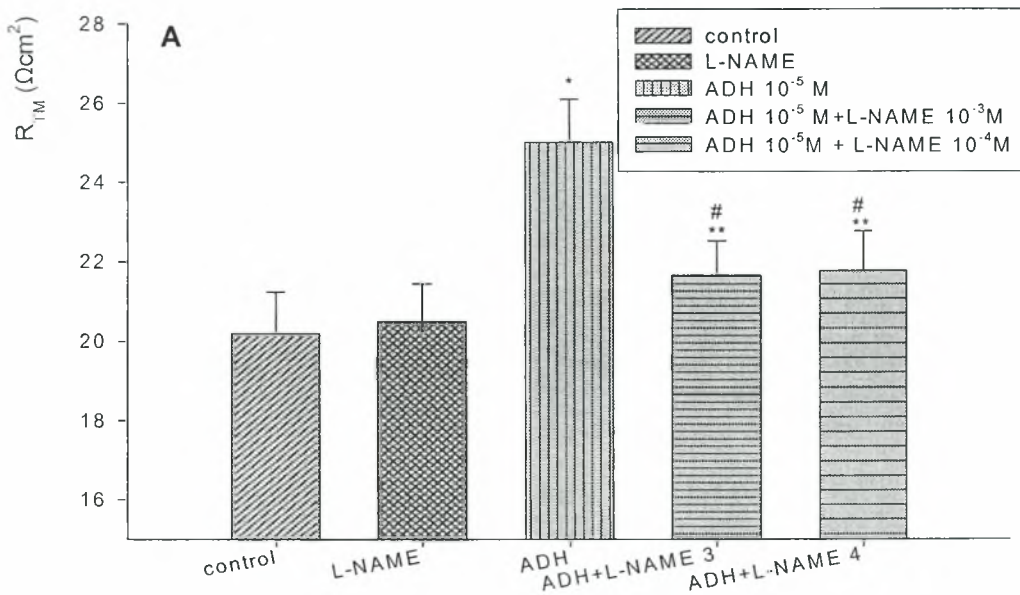
**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 10.** Χρονοεξαρτώμενες επιδράσεις αντιδιουρητικής ορμόνης ( $10^{-5}\text{M}$ ) στην  $R_{TM}$  του πνευμονικού (A) και τοιχωματικού (B) υπεζωκότα, κατά τη διάρκεια της πρώτης ώρας (60 min) της προσθήκης ADH. \* ADH έξω σε σύγκριση με control. \*\* ADH έσω σε σύγκριση με control,  $p < 0,05$ .

## Επίδραση του L-NAME στη δράση της ADH

Για να διερευνηθεί αν η ταχεία αύξηση της  $R_{TM}$  που προκαλούσε η ADH συσχετιζόταν με το NO, προστέθηκε στον ιστό ο αναστολέας της συνθετάσης του NO, L-NAME. Όταν ο L-NAME συνδυάσθηκε με την ADH, ανέστειλλε μερικώς τη δράση της (ADH με L-NAME  $10^{-3}M$  και  $10^{-4} M$  σε σύγκριση με τον ιστό αναφοράς και ADH με L-NAME σε σύγκριση με ADH), για την έξω επιφάνεια του πνευμονικού υπεζωκότα (Διάγραμμα 11A). Όμως, όταν ο L-NAME συνδυάσθηκε με την ADH στην έσω επιφάνεια του πνευμονικού υπεζωκότα, δεν μπορούσε να αναστείλλει τη δράση της (Διάγραμμα 11B). Αντίστοιχα, παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στον τοιχωματικό υπεζωκότα, για την έξω (Διάγραμμα 12A) και για την έσω (Διάγραμμα 12B) επιφάνειά του.



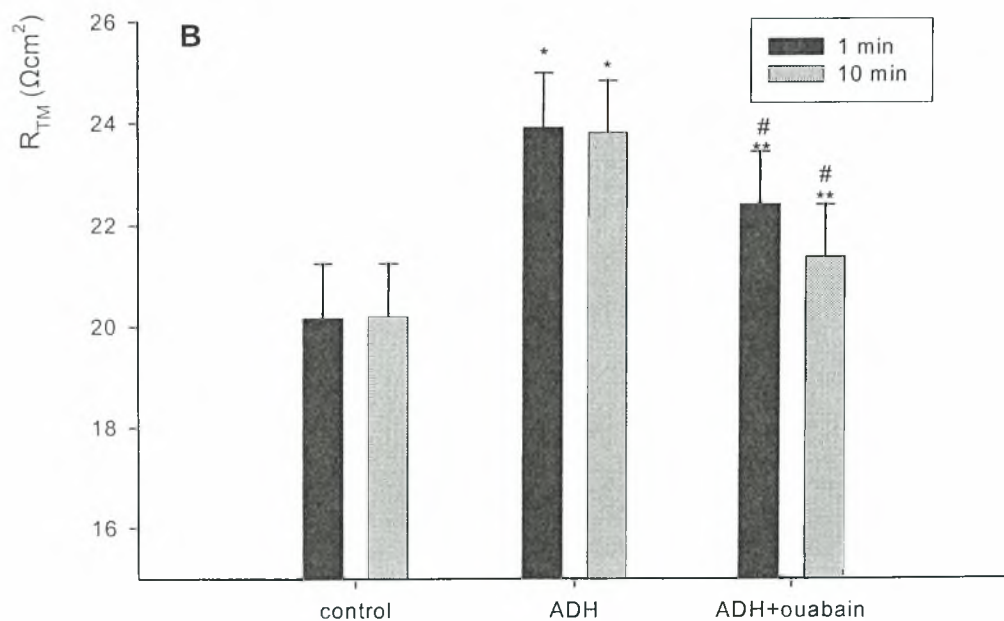
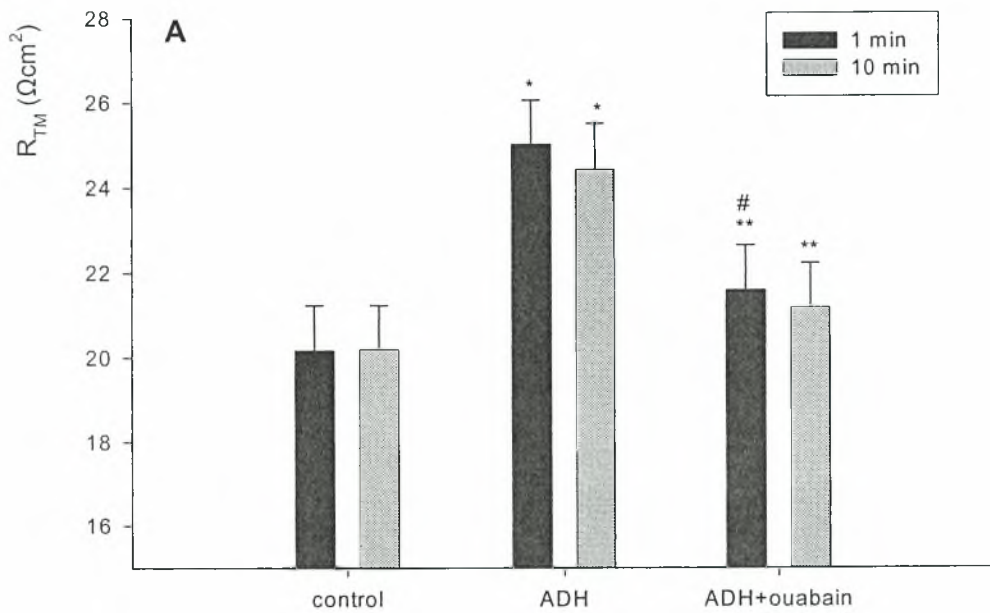
**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 11.** Επιδράσεις ADH ( $10^{-5}M$ ), L-NAME ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}M$ ) και συνδυασμένες επιδράσεις ADH ( $10^{-5}M$ ) μαζί με L-NAME ( $10^{-3}$  και  $10^{-4}M$ ) στην  $R_{TM}$  του πνευμονικού υπεζωκότα, μετά τη χορήγηση των ουσιών στην έξω (A) και έσω (B) επιφάνειά του. \* ADH σε σύγκριση με control. \*\* ADH + L-NAME σε σύγκριση με ADH. # ADH + L-NAME σε σύγκριση με control,  $p < 0,05$ .



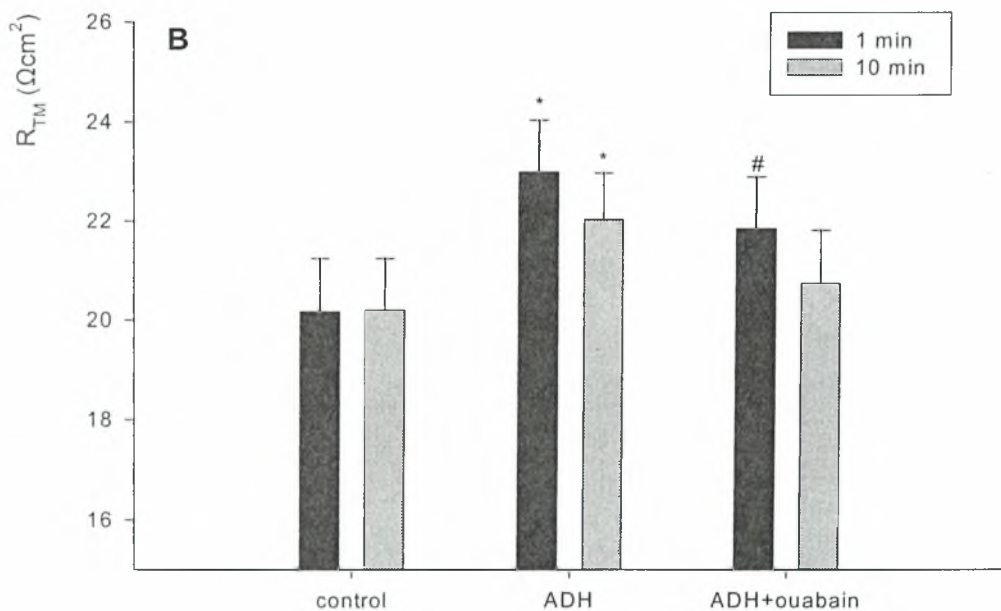
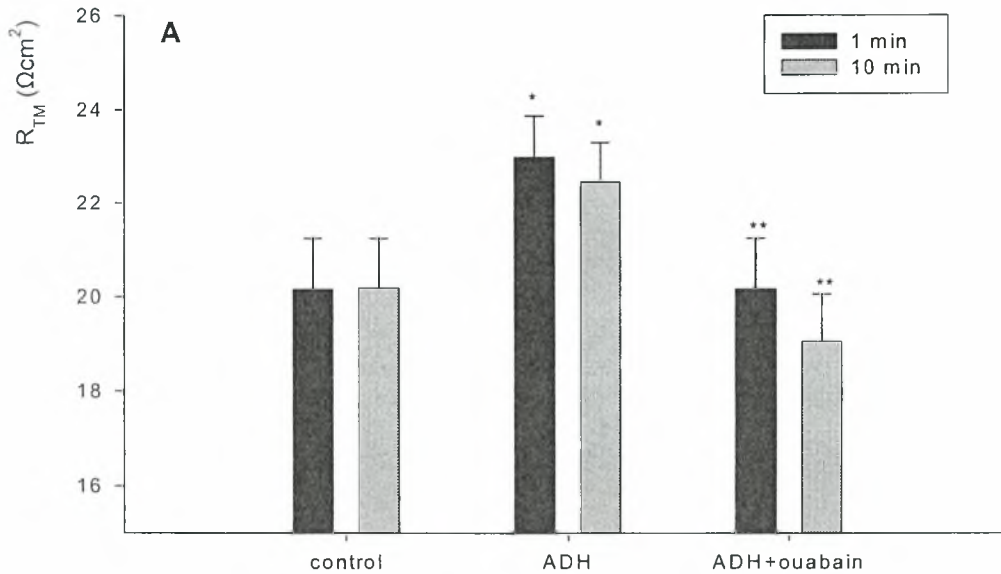
**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 12.** Επιδράσεις ADH ( $10^{-5}M$ ), L-NAME ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}M$ ) και συνδυασμένες επιδράσεις ADH ( $10^{-5}M$ ) μαζί με L-NAME ( $10^{-3}$  και  $10^{-4}M$ ) στην  $R_{TM}$  του τοιχωματικού υπεζωκότα, μετά τη χορήγηση των ουσιών στην έξω (A) και έσω (B) επιφάνειά του. \* ADH σε σύγκριση με control. \*\* ADH + L-NAME σε σύγκριση με ADH. # ADH + L-NAME σε σύγκριση με control,  $p < 0,05$ .

## Επίδραση της ουαμπαΐνης στη δράση της ADH

Οι ανασταλτικές επιδράσεις της ουαμπαΐνης ( $10^{-3}\text{M}$ ) στη δράση της ADH στον πνευμονικό υπεζωκότα παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 13. Όταν η ουαμπαΐνη συνδυάσθηκε με την ορμόνη, περιόριζε τη δράση της (ADH με ουαμπαΐνη σε σύγκριση με ADH) στην έξω (Διάγραμμα 13A) και στην έσω (Διάγραμμα 13B) επιφάνεια του πνευμονικού υπεζωκότα, 1 και 10 λεπτά μετά την προσθήκη των ουσιών. Όσον αφορά τον τοιχωματικό υπεζωκότα, όταν η ουαμπαΐνη συνδυάσθηκε με την ορμόνη ανέστειλλε τη δράση της στην έξω επιφάνειά του (Διάγραμμα 14A, ADH με ουαμπαΐνη σε σύγκριση με ADH). Όμως, η ουαμπαΐνη δεν κατάφερε να αναστείλλει τη δράση της ορμόνης, όταν χορηγήθηκε στην έσω επιφάνεια του τοιχωματικού υπεζωκότα (Διάγραμμα 14B).



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 13.** Επιδράσεις ADH ( $10^{-5}M$ ) και συνδυασμένες επιδράσεις ADH ( $10^{-5}M$ ) με ουαπαΐνη ( $10^{-3}M$ ) στην  $R_{TM}$  του πνευμονικού υπεζωκότα, μετά την προσθήκη των ουσιών στην έξω (A) και έσω (B) επιφάνειά του. \* ADH σε σύγκριση με control. \*\* ADH + ouabain σε σύγκριση με ADH. # ADH + ouabain σε σύγκριση με control,  $p < 0,05$ .

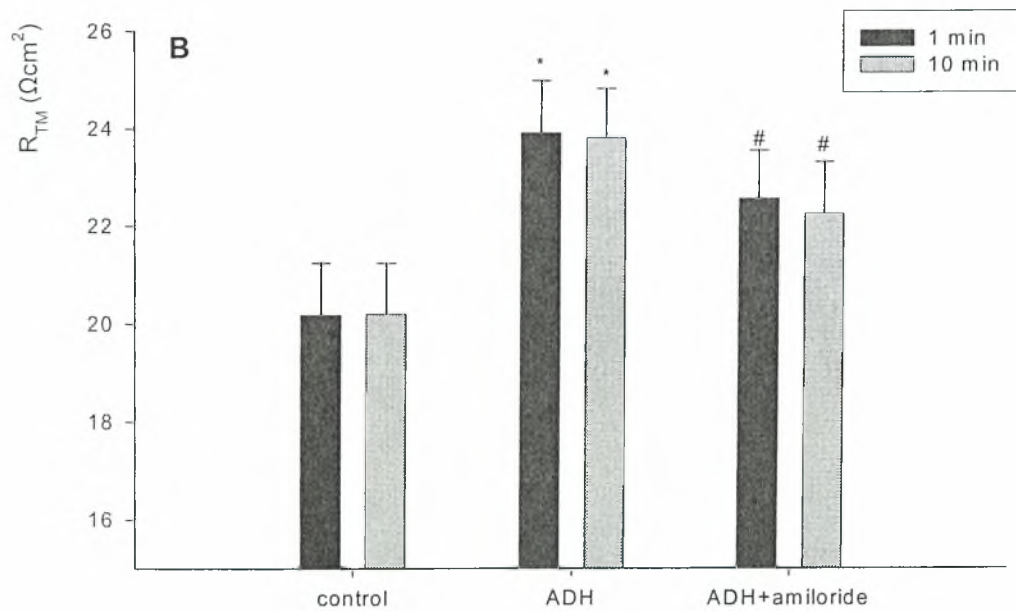
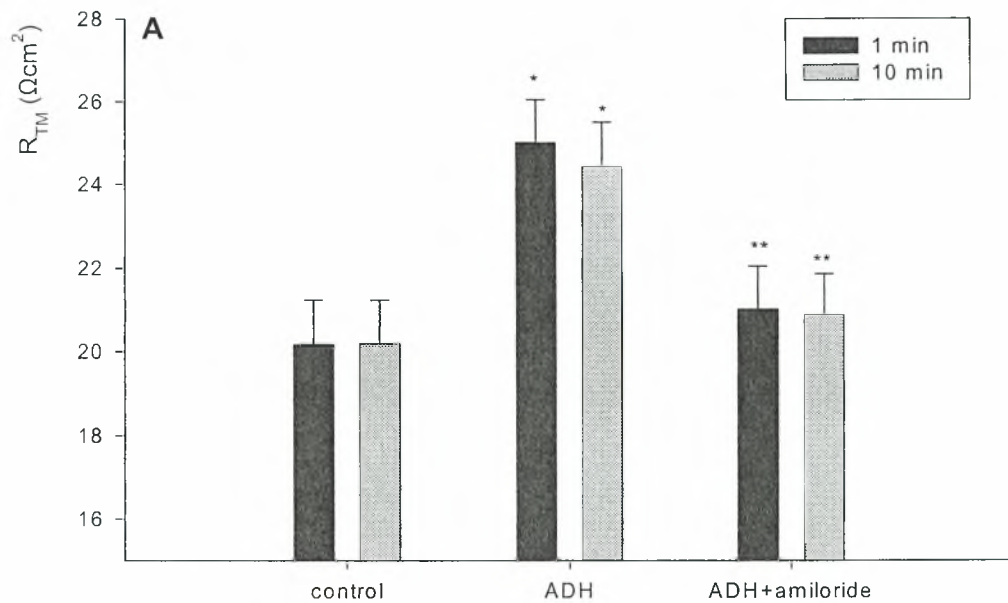


**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 14.** Επιδράσεις ADH ( $10^{-5}M$ ) και συνδυασμένες επιδράσεις ADH ( $10^{-5}M$ ) με ουαπαΐνη ( $10^{-3}M$ ) στην  $R_{TM}$  του τοιχωματικού υπεζωκότα, μετά την προσθήκη των ουσιών στην έξω (A) και έσω (B) επιφάνειά του. \* ADH σε σύγκριση με control. \*\* ADH + ouabain σε σύγκριση με ADH. # ADH + ouabain σε σύγκριση με control,  $p < 0,05$ .

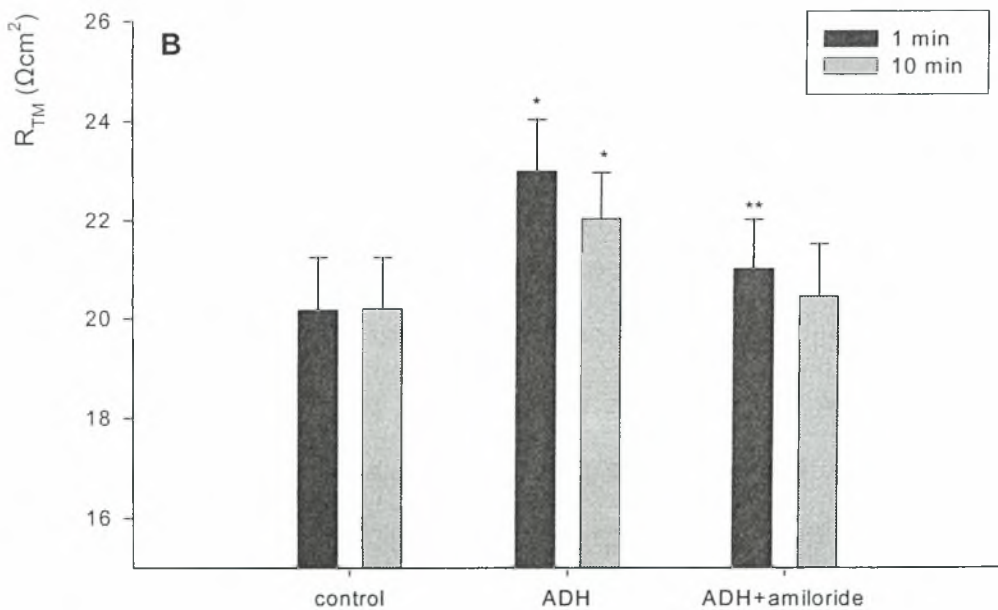
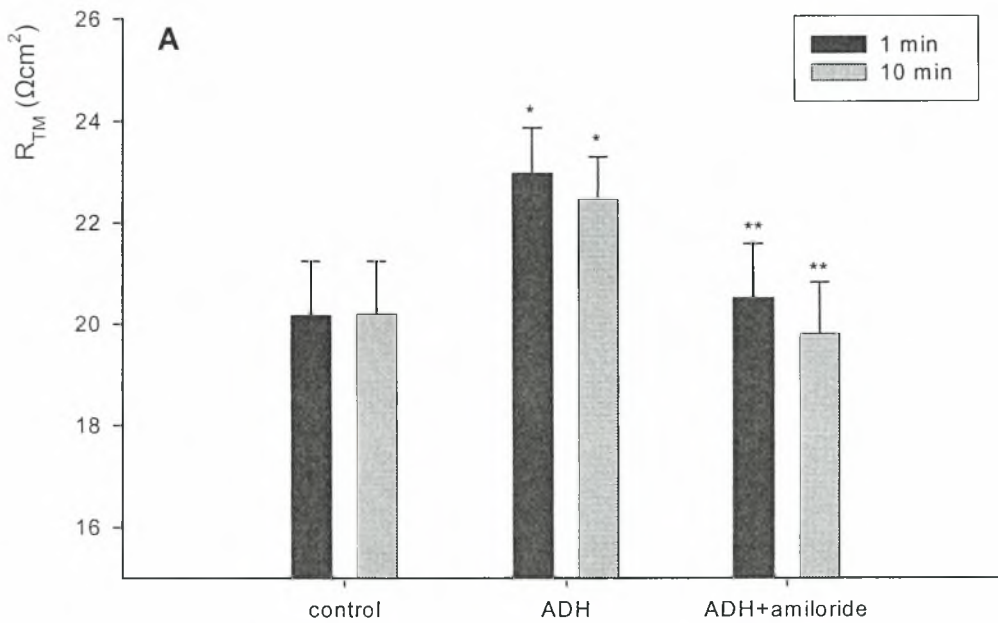


## Επίδραση της αμιλορίδης στη δράση της ADH

Οι ανασταλτικές επιδράσεις της αμιλορίδης ( $10^{-3}\text{M}$ ) στη δράση της ADH στον πνευμονικό υπεζωκότα παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 15. Όταν η αμιλορίδη συνδυάστηκε με την ορμόνη, ανέστειλλε τη δράση της στην έξω επιφάνεια του πνευμονικού υπεζωκότα (ADH με αμιλορίδη σε σύγκριση με ADH, Διάγραμμα 15A), 1 και 10 λεπτά μετά την προσθήκη των ουσιών . Όμως, η αμιλορίδη δεν κατάφερε να αναστείλλει τη δράση της ορμόνης, όταν χορηγήθηκε στην έσω επιφάνεια του πνευμονικού υπεζωκότα (Διάγραμμα 15B). Αντίστοιχα, παρόμοια αποτελέσματα με την έξω επιφάνεια του πνευμονικού, διαπιστώθηκαν και για την έξω επιφάνεια του τοιχωματικού υπεζωκότα (Διάγραμμα 16A). Αλλά για την έσω επιφάνεια του τοιχωματικού υπεζωκότα, η αμιλορίδη μπορούσε να αναστείλλει τη δράση της ADH, τουλάχιστον για 1' μετά την προσθήκη (ADH με αμιλορίδη σε σύγκριση με ADH, Διάγραμμα 16B).



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 15.** Επιδράσεις ADH ( $10^{-5}$ M) και συνδυασμένες επιδράσεις ADH ( $10^{-5}$ M) με αμιλορίδη ( $10^{-3}$ M) στην  $R_{TM}$  του πνευμονικού υπεζωκότα, μετά την προσθήκη των ουσιών στην έξω (A) και έσω (B) επιφάνειά του. \* ADH σε σύγκριση με control. \*\* ADH + amiloride σε σύγκριση με ADH. # ADH + amiloride σε σύγκριση με control,  $p < 0,05$ .



**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 16.** Επιδράσεις ADH ( $10^{-5}M$ ) και συνδυασμένες επιδράσεις ADH ( $10^{-5}M$ ) με αμιλορίδη ( $10^{-3}M$ ) στην  $R_{TM}$  του τοιχωματικού υπεζωκότα, μετά την προσθήκη των ουσιών στην έξω (A) και έσω (B) επιφάνειά του. \* ADH σε σύγκριση με control. \*\* ADH + amiloride σε σύγκριση με ADH,  $p < 0,05$ .

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα μελέτη αναδεικνύει μία ταχεία επίδραση της αλδοστερόνης στον υπεζωκότα προβάτου, προκαλώντας στατιστικά σημαντικές αλλαγές στην ηλεκτροφυσιολογία του ιστού. Η διαφορά δυναμικού (PD) και κατ'επέκταση η διαμεσοθηλιακή αντίσταση ( $R_{TM}$ ) αυξήθηκαν, οπότε η διαμεσοθηλιακή διαπερατότητα άλλαξε όταν η στεροειδής ορμόνη προστέθηκε στην έσω και έξω επιφάνεια του πνευμονικού και τοιχωματικού υπεζωκότα. Αυτή η δράση αναστάλθηκε από τη σπειρολακτόνη, το L-NAME, την ουαμπαΐνη και την αμιλορίδη.

Η συγκεκριμένη αύξηση στη διαφορά ηλεκτρικού δυναμικού συμβαδίζει εν μέρει με μία παλαιότερη έρευνα σχετικά με την επίδραση της αλδοστερόνης στη διασωληναριακή PD [72]. Η προσθήκη d-αλδοστερόνης (0,2μM) είχε ως αποτέλεσμα μία αύξηση του μεγέθους της διεπιθηλιακής διαφοράς δυναμικού μετά από μία μέση χρονική περίοδο 10 – 20 λεπτών, στο αθροιστικό σωληνάριο του φλοιού του νεφρού θηλυκών νεοζηλανδέζικων κουνελιών.

Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας δε φαίνεται να επηρεάζονται από την κλασσική οδό δράσης των στεροειδών, κατά την οποία υπάρχει σύνδεση με ειδικό ενδοκυττάριο υποδοχέα, επειδή συνέβησαν ταχέως, μέσα στο πρώτο λεπτό της ώρας. Αυτό έρχεται σε συμφωνία με παρατηρήσεις σε κύτταρα λείων μυϊκών ινών και σε ανθρώπινα λεμφοκύτταρα της κυκλοφορίας του αίματος, τα οποία φαίνεται να έχουν ταχείες, μη γονιδιακές επιδράσεις στη διαμεμβρανική μεταφορά ηλεκτρολυτών μετά τη χορήγηση

αλδοστερόνης [202]. Αυτά τα αποτελέσματα συμπεριλαμβάνουν ενεργοποίηση της ανταλλαγής νατρίου/ιόντων υδρογόνου της κυτταρικής μεμβράνης, σε πολύ χαμηλές, φυσιολογικές συγκεντρώσεις αλδοστερόνης, με μία οξεία έναρξη εντός 1 – 2 λεπτών. Επίσης, σε άλλη μελέτη [207], μία ενδοκυττάρια αλκαλοποίηση των κολονικών κρυπτών παρατηρήθηκε ένα λεπτό μετά την προσθήκη αλδοστερόνης.

Οι πιθανοί μηχανισμοί για αυτήν την ταχεία δράση είναι: α) Σύνδεση με ειδικούς υποδοχείς στεροειδικών ορμονών επί της κυτταρικής μεμβράνης [201, 203]. β) Ρύθμιση ή/και σύνδεση σε νευροδιαβιβαστικούς μεμβρανικούς υποδοχείς, όπως ο γ-αμινοβουτυρικός υποδοχέας (GABA) [172]. γ) Άμεση δράση μέσω ενδοκυττάριου υποδοχέα [173]. δ) Μεταβολές της μεμβρανικής ρευστότητας [67]. ε) Άμεση ενεργοποίηση του συστήματος διαβιβαστών δευτέρας τάξης [39, 57, 123]. Είναι γνωστό ότι η διαπεζωκοτική ανταλλαγή ουσιών βασίζεται στη λειτουργία των μεσοθηλιακών κυττάρων, που πλέον αναγνωρίζονται ως ενεργά κύτταρα με δομικές και μεταβολικές δραστηριότητες. Είναι πιθανό, μέρος όλων αυτών των μηχανισμών να αποτελούν τα μόρια του συστήματος διαβιβαστών δευτέρας τάξης, το οποίο η αλδοστερόνη ενεργοποιεί ταχέως (Εικόνα 4).

Μία ακόμη παρατήρηση που έγινε κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας είναι πως η αύξηση της  $R_{TM}$  φαίνεται δοσοεξαρτώμενη, τόσο για τον πνευμονικό, όσο και για τον τοιχωματικό υπεζωκότα. Αυτό το εύρημα συμφωνεί και με άλλες μελέτες σχετικά με τις στεροειδείς ορμόνες, όχι μόνο για τα

μεταλλοκορτικοειδή [67], αλλά και για τα οιστρογόνα και την προγεστερόνη, επίσης [80]. Αυτή η παρατήρηση μπορεί να εξηγηθεί πιθανώς μέσω ενός μηχανισμού ορμονικής σύνδεσης σε ειδικούς μεμβρανικούς υποδοχείς [124], όπως προαναφέρθηκε. Καθώς η συγκέντρωση της αλδοστερόνης που χρησιμοποιείται αυξάνεται, μεγαλύτερος αριθμός ορμονικών μορίων συνδέεται με τους συγκεκριμένους υποδοχείς και ακολουθεί μεγαλύτερη μη γονιδιακή δράση μέσω κυτταρικής ενεργοποίησης [57] και τελικά μεγαλύτερη αύξηση της  $R_{TM}$ .

Ακολούθως, στην παρούσα έρευνα χρησιμοποιήθηκε ένας μεταλλοκορτικοειδικός ανταγωνιστής, η σπειρολακτόνη, η οποία φαίνεται να έχει μία στατιστικά σημαντική ταχεία επίδραση στον υπεζωκότα, όταν ενεργεί μόνη της. Αυτό πιθανόν οφείλεται στη χημική δομή της (συνθετικό στεροειδές), η οποία ενδεχομένως ενεργοποιεί παρόμοιους στεροειδικούς κυτταρικούς μηχανισμούς, χωρίς ωστόσο να έχουν την ίδια ένταση με την ορμονική οικογένεια των στεροειδών, όπως προκύπτει από τη μικρότερη αύξηση της  $R_{TM}$  που προκαλεί σε σύγκριση με αυτήν της αλδοστερόνης, καθώς και με τη μικρότερη διάρκειά της στο χρόνο.

Σε συνδυασμό με την αλδοστερόνη, η σπειρολακτόνη αναστέλλει εν μέρει την ταχεία επίδραση της ορμόνης, μέσα στο πρώτο λεπτό, τόσο για τον πνευμονικό, όσο και για τον τοιχωματικό υπεζωκότα. Η σπειρολακτόνη αποτελεί ένα καλιοσυντηρητικό διουρητικό, γνωστό για την αναστολή της μακράς διάρκειας γονιδιακής επίδρασης της αλδοστερόνης στην επαναρρόφηση του νατρίου [87]. Η ανικανότητα

της σπειρολακτόνης να αναστρέψει πλήρως την ταχεία δράση της αλδοστερόνης υποδηλώνει τη συμμετοχή μη κλασσικών στεροειδικών ή άλλων συστημάτων υποδοχέων.

Ένας πιθανός μηχανισμός δράσης της αλδοστερόνης στον υπεζωκότα θα μπορούσε να είναι η ενεργοποίηση του συστήματος οξειδίου του αζώτου (NO). Συνδυασμοί διαλυμάτων αλδοστερόνης με L-NAME ανέστειλλαν την αύξηση της  $R_{TM}$  και εμπόδισαν την επίδραση της ορμόνης στον πνευμονικό και στον τοιχωματικό υπεζωκότα προβάτου. Επιπλέον, αυτή η αναστολή έγινε με δοσοεξαρτώμενο τρόπο.

Έχει αναφερθεί πως υπάρχει αύξηση στην  $R_{TM}$  όταν ένας δότης NO, το νιτροπρωσσικό νάτριο (SNP), χορηγηθεί σε υπεζωκότα προβάτου [79]. Ειδικά η αλδοστερόνη φαίνεται να εμποδίζει την αγγειοσύσπαση των νεφρικών αρτηριολίων μέσω μη γονιδιακής επίδρασης και αυτό ήταν συγκρίσιμο με μία ανασταλτική οδό που συμπεριλάμβανε ενεργοποίηση της σύνθεσης οξειδίου του αζώτου, οδηγώντας σε παραγωγή NO [188]. Επιπρόσθετα, η αλδοστερόνη φαίνεται να έχει ευεργετικά αποτελέσματα στο καρδιαγγειακό σύστημα, ρυθμίζοντας την παραγωγή του NO από το ενδοθήλιο [189]. Επίσης, η αλδοστερόνη προκαλεί αύξηση της δραστηριότητας της σύνθετάσης του NO σε αγγειακά ενδοθηλιακά και λεία μυϊκά κύτταρα [122].

Στην παρούσα μελέτη, όταν η συγκέντρωση του L-NAME ήταν αρκετά μεγάλη για να αναστείλλει σχεδόν όλες τις κυτταρικές NO-συνθετάσες, δεν παραγόταν οξείδιο του αζώτου και η ταχεία δράση της αλδοστερόνης στην αύξηση της  $R_{TM}$  αναστελλόταν πλήρως. Έτσι,

φαίνεται πως η επίδραση που έχει η αλδοστερόνη στον υπεζωκότα πραγματοποιείται διαμέσου παραγωγής NO, όπως και σε περιπτώσεις διαφόρων επιθηλιακών ιστών.

Διαφαίνεται ότι το NO μπορεί να επηρεάζει τη δραστηριότητα της αντλίας  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ . Παρουσία του L-NAME, η προσωρινή αγγειοσύσπαση σε παγκρεατικό ιστό αναστρεφόταν μέσα σε ένα λεπτό, επιφέροντας αγγειοδιασταλτικό αποτέλεσμα, ενώ η ουαμπαΐνη αύξανε την παγκρεατική αγγειοσύσπαση στην ίδια έρευνα [82]. Ακόμη, η ενεργοποίηση της αντλίας φάνηκε να αυξάνει την αγωγιμότητα του  $\text{K}^+$  και αυτή η επίδραση περιλαμβάνει την έκφραση της αναστολής των NO-εξαρτώμενων διαύλων  $\text{K}^+$  στο αθροιστικό σωληνάριο του νεφρικού φλοιού [142].

Στην παρούσα μελέτη, όταν η ουαμπαΐνη χορηγήθηκε σε συνδυασμό με την αλδοστερόνη, η ταχεία δράση της ορμόνης αναστάλθηκε, τόσο για τον πνευμονικό, όσο και για τον τοιχωματικό υπεζωκότα. Φαίνεται πως η δράση της αλδοστερόνης βασίζεται στην ταχεία ενεργοποίηση της αντλίας  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ , διότι η προσθήκη της ουαμπαΐνης, αναστολέα της συγκεκριμένης αντλίας, ελαχιστοποίησε την επίδραση του στεροειδούς. Ορισμένες μελέτες παρέχουν πληροφορίες πως η αλδοστερόνη επάγει μία ταχεία ενεργοποίηση της λειτουργίας της αντλίας  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  στα αθροιστικά σωληνάρια του νεφρικού φλοιού [63] για παράδειγμα, ή στα αρτηριακά αγγεία [10].

Συνεχίζοντας τη διερεύνηση των μηχανισμών δράσης της αλδοστερόνης, διαλύματα της ορμόνης συνδυάστηκαν με αμιλοριδίδη σε ιστικά τμήματα υπεζωκότα προβάτου και η στεροειδική δράση



μειώθηκε στατιστικά σημαντικά μέσα στο πρώτο λεπτό. Ένας αναστολέας της μεταφοράς  $\text{Na}^+$  και ανταλλαγής  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ , όπως η αμιλορίδη, εμπόδιζε την ταχεία δράση της αλδοστερόνης στον πνευμονικό και τοιχωματικό υπεζωκότα. Έτσι, πιθανόν η δράση της ορμόνης στον υπεζωκότα να βασίζεται και στην ταχεία ρύθμιση της ανταλλαγής  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  όπως και σε άλλους ιστούς.

Πράγματι, έχει αναδειχθεί το ρυθμιστικό αποτέλεσμα της αλδοστερόνης στη δραστηριότητα διαύλων  $\text{K}^+$  - ATP, οι οποίοι κλείνουν από την αμιλορίδη σε δερματικά κύτταρα βατράχου [192]. Επιπλέον, μία ενδοκυττάρια αλκαλοποίηση κολονικών κρυπτών παρατηρήθηκε μέσα σε ένα λεπτό από τη χορήγηση αλδοστερόνης, η οποία αναστάλθηκε από την προσθήκη αιθυλ-ισο-προπυλο-αμιλορίδης [207]. Συμφωνώντας, οι Bowley και συν.[28] έδειξαν πως η αλδοστερόνη είχε μία ταχεία, μη γονιδιακή επίδραση σε διαύλους καλίου ανθρώπινων κυττάρων κολονικών κρυπτών 1, 5 και 10 λεπτά μετά τη χορήγηση της ορμόνης, αλλά δεν είχε κανένα αποτέλεσμα στη δραστηριότητα των διαύλων παρουσία αιθυλ-ισο-προπυλο-αμιλορίδης.

Συμπερασματικά, σε ό,τι αφορά την αλδοστερόνη, φαίνεται να έχει ταχεία δράση στην ηλεκτροφυσιολογία του υπεζωκότα προβάτου. Αυτό το γεγονός μερικώς αναστέλλεται από τη σπειρολακτόνη. Η διαπερατότητα των μεσοθηλιακών ιστών αλλάζει ως αποτέλεσμα της αύξησης από την ορμόνη της διαμεσοθηλιακής αντίστασης και της διαφοράς ηλεκτρικού δυναμικού. Ένα σημαντικό ρόλο σε αυτήν τη μεταβολή της διαπερατότητας φαίνεται να έχει η σύνθεση οξειδίου του αζώτου, πιθανώς μέσω ενεργοποίησης της αντλίας  $\text{Na}^+-\text{K}^+$ . Η

αλδοστερόνη φαίνεται να ρυθμίζει επίσης ταχέως, τη διαμεσοθηλιακή μεταφορά ιόντων, διαμέσου ανταλλαγής  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ .

Συνεχίζοντας, αναδεικνύεται από την παρούσα μελέτη μία ταχεία επίδραση της αντιδιουρητικής ορμόνης (ADH) στον υπεζωκότα προβάτου, προκαλώντας στατιστικά σημαντικές αλλαγές στην ηλεκτροφυσιολογία του ιστού. Η διαφορά δυναμικού (PD) και κατ'επέκταση η διαμεσοθηλιακή αντίσταση ( $R_{TM}$ ) αυξήθηκαν, οπότε η διαμεσοθηλιακή διαπερατότητα άλλαξε όταν η πεπτιδική ορμόνη χορηγήθηκε στην έσω και έξω επιφάνεια του πνευμονικού και τοιχωματικού υπεζωκότα. Αυτή η δράση αναστάλθηκε εν μέρει από το L-NAME, την ουαμπαΐνη και την αμιλορίδη.

Η συγκεκριμένη αύξηση στη διαμεσοθηλιακή αντίσταση συμβαδίζει μερικώς με μία παλαιότερη έρευνα σχετικά με τη δράση της ADH στη διεπιθηλιακή αντίσταση δερματικού ιστού βατράχου [143]. Η προσθήκη ADH (100-200mU/ml) είχε σαν αποτέλεσμα μία άμεση αύξηση της ηλεκτρικής αντίστασης στην έσω επιφάνεια δερματικών μεμβρανών κοιλιακής χώρας βατράχων είδους *Rana temporaria*, μέσω Ussing system, η οποία διήρκησε τουλάχιστον 50 λεπτά της ώρας. Σε πιο πρόσφατη έρευνα, χορήγηση βαζοπρεσίνης 0,1U/ml σε επιθηλιακά κύτταρα σειράς A6 αμφιβίων, επηρέασε τη διεπιθηλιακή μεταφορά ιόντων με διφασικό τρόπο [37]. Αμέσως μετά την προσθήκη της ADH, παρατηρήθηκε μία πρόιμη, ταχεία αύξηση στην ένταση του διεπιθηλιακού ηλεκτρικού ρεύματος (ISC), μέσα σε 1,3-1,5 λεπτά. Ακολούθησε μία πιο αργή, σταδιακή μείωση της ISC μέσα σε 20-26 λεπτά της ώρας από την επίδραση της ADH.

Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας συμβαίνουν ταχέως και φαίνεται ότι η ADH επηρεάζει τόσο την παρακυττάρια, όσο και τη διακυττάρια δράση των πεπτιδικών ορμονών. Αυτό συμβαδίζει με παρατηρήσεις ηπατικών κυττάρων αρουραίων [144] και επιθηλιακών κυττάρων δέρματος λειχήνων [138].

Συγκεκριμένα, αναφερόμενοι στην παρακυττάρια δράση της ADH, οι Nathanson και συν. ανέδειξαν μειωμένη έκκριση από τα ηπατικά χοληφόρα μέσω ενεργοποίησης από την ADH της τριφωσφορικής ινοσιτόλης ( $IP_3$ ), η οποία οδηγεί σε αύξηση του κυτταροπλασματικού  $Ca^{+2}$ , καθώς και σε ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης C (συστήματα διαβιβαστών δευτέρας τάξης που επάγουν αλλαγές στην ηπατική μικροκυκλοφορία). Ως αποτέλεσμα επέρχεται διάνοιξη των στενών συνδέσεων (tight junctions), αλλαγή της διαπερατότητας και ενεργοποίηση της παρακυττάριας δράσης, μέσω ορμονικής ρύθμισης (Εικόνα 5). Αυτή η δράση συμβαίνει ταχέως, μέσα σε 5 λεπτά, αφού η ορμόνη συνδεθεί με ειδικό μεμβρανικό υποδοχέα  $V_1$  [144].

Από την άλλη μεριά, η παρούσα μελέτη αναδεικνύει και τη διακυττάρια δράση της ADH, αφού τα αποτελέσματα παραμένουν τουλάχιστον για 15' – 30' μετά τη χορήγησή της στον υπεζωκότα. Η ADH ρυθμίζει κυτταρικά μεταφορικά συστήματα Na και νερού, διαμέσου αύξησης του ενδοκυττάριου cAMP και ενεργοποίησης της πρωτεϊνικής κινάσης A, αφού συνδεθεί με ειδικό μεμβρανικό υποδοχέα  $V_2$ . Έτσι, προάγεται η κατακράτηση νερού μέσω ρύθμισης ειδικών κυτταρικών διαύλων (υδατοπορίνες) και κατά συνέπεια επηρεάζεται η ομοιόσταση υγρών και ηλεκτρολυτών. Πράγματι, έχει αναδειχθεί σε

διάφορα είδη λειχήνων η μικρής δράσης ρύθμιση των πεπτιδικών ορμονών στη μεταφορά ιόντων, μέσω σύνδεσης με G-πρωτεϊνικούς υποδοχείς και ενεργοποίησης αδενυλο-κυκλασών [138]. Παρόμοιες επιδράσεις της ADH αναφέρονται επίσης σε επιθηλιακά κύτταρα δέρματος βατράχου [93] και ουροδόχου κύστης [44].

Η παρακυττάρια με τη διακυττάρια δράση της ADH πιθανώς συνδέονται μεταξύ τους μέσω ανταλλαγής  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$ . Φαίνεται πως υπάρχει ανατροφοδοτικός μηχανισμός (feedback) μεταξύ διαύλων  $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{+2}$ , ανάλογα με το ποιο από τα δύο ιόντα έχει τη μεγαλύτερη ενδοκυττάρια συγκέντρωση [68]. Για παράδειγμα, μία αύξηση του ενδοκυττάρια  $\text{Na}^+$  μειώνει την έξοδο  $\text{Ca}^{+2}$  από το κύτταρο, οδηγώντας έτσι σε συσσώρευσή του στο κυτταρόπλασμα. Αυτή η αύξηση του κυτταροπλασματικού  $\text{Ca}^{+2}$  μπλοκάρει τους μεμβρανικούς διαύλους  $\text{Na}^+$ , είτε άμεσα, είτε έμμεσα διαμέσου της πρωτεϊνικής κινάσης C [138].

Συνοψίζοντας τους πιθανούς μηχανισμούς της ταχείας, άμεσης δράσης της ADH θα μπορούσαμε να αναφέρουμε: α)Σύνδεση με ειδικούς υποδοχείς πεπτιδικών ορμονών επί της κυτταρικής μεμβράνης  $V_1$  [144] και  $V_2$  [156]. β)Άμεση δράση στους μεμβρανικούς διαύλους  $\text{Na}^+$  [68]. γ)Μεταβολές της μεμβρανικής ρευστότητας, με ενεργοποίηση ενζύμων που τροποποιούν τη διάταξη στις πρωτεΐνες ή στα λιπίδια [68]. δ)Αλλαγές του κυτταροσκελετού [68]. ε)Άμεση ενεργοποίηση του συστήματος διαβιβαστών δευτέρας τάξης (cAMP,  $\text{IP}_3$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ , GTP-PKC/PKA, pH) [68, 138, 144].

Είναι γνωστό πως το οξειδίο του αζώτου (NO) ρυθμίζει την απελευθέρωση βαζοπρεσσίνης (AVP) και ωκυτοκίνης (OT) από τον παρακοιλιακό και τον υπεροπτικό πυρήνα του υποθαλάμου αντίστοιχα, μέσω διαβιβαστή δευτέρας τάξης, του cGMP. Ο Vacher και συν. μελετώντας νευρώνες ποντικών, ανέδειξαν πως ο L-NAME ανταγωνιζόταν την ενεργοποίηση του cGMP, αποδεικνύοντας έτσι πως το NO μπορούσε να ρυθμίσει την απελευθέρωση των συγκεκριμένων ορμονών, ενώ και οι ίδιες οι μονοαμίνες συνέβαλλαν στην παραγωγή του NO [194]. Επομένως, ένας πιθανός μηχανισμός δράσης της ADH στον υπεζωκότα θα μπορούσε να είναι η ενεργοποίηση του συστήματος NO. Συνδυασμοί διαλυμάτων ADH με L-NAME ανέστειλλαν μερικώς την αύξηση της  $R_{TM}$  από την ορμόνη, στην έξω επιφάνεια του πνευμονικού και του τοιχωματικού υπεζωκότα, αλλά όχι στην έσω επιφάνειά τους.

Έχει αναφερθεί πως μετά από μία μικρή ισχαιμία στη στεφανιαία κυκλοφορία εξεταζόμενων τράγων, η βαζοπρεσσίνη (AVP) αύξανε τη στεφανιαία αγγειοσύσπαση μέσω ρύθμισης του συστήματος NO και απελευθέρωσης αγγειοσυσπαστικών προστανοειδών [48]. Επίσης, σε άλλη έρευνα, η AVP αύξανε τον πολλαπλασιασμό οστεοβλαστών ποντικών, δράση την οποία μπλόκαρε ένας AVP ανταγωνιστής των  $V_1$  υποδοχέων, καθώς και ο L-NAME [107]. Στην ίδια μελέτη, όταν προστέθηκε ένας δότης NO, το νιτροπρωσσικό νάτριο (SNP), ο πολλαπλασιασμός των οστεοβλαστών από την AVP αυξανόταν. Μία ακόμη εργασία αναφέρει πως η κεντρική αναστολή του NO από τον L-NAME είχε ως αποτέλεσμα την περιφερική μείωση της AVP του

πλάσματος [197]. Αυτά τα αποτελέσματα συμφωνούν έμμεσα με την παρούσα μελέτη, για την ανασταλτική επίδραση του L-NAME στη δράση της ADH στην έξω επιφάνεια του πνευμονικού και του τοιχωματικού υπεζωκότα και την πιθανή συμμετοχή του NO .

Σε άλλη μελέτη, διερευνήθηκε ο ρόλος των υποδοχέων  $V_1$ ,  $V_2$  και του NO στη στεφανιαία αγγειοσύσπαση που προκαλούσε η βαζοπρεσσίνη σε αναισθητοποιημένους τράγους [62]. Διαφάνηκε ότι η προκαλούμενη αγγειοσύσπαση από την ορμόνη μπορεί να ρυθμίζεται μέσω των  $V_1$  υποδοχέων, αλλά όχι μέσω των  $V_2$ , ενώ το NO ανέστειλλε τη δράση της βαζοπρεσσίνης, εμποδίζοντας τη στεφανιαία αγγειοσύσπαση. Επιπλέον, η αγγειοσύσπαση που προκαλούσε η βαζοπρεσσίνη σε μελέτη μεταστατικών κυττάρων ηπατικού παρεγχύματος, παρατεινόταν σημαντικά μετά την προσθήκη του L-NAME, επαυξάνοντας τη δράση της ορμόνης [52]. Στην παρούσα μελέτη, ο L-NAME δεν παρέτεινε βέβαια, αλλά και δεν επέφερε στατιστικά σημαντική αλλαγή στη δράση της ADH στην έσω επιφάνεια του πνευμονικού και του τοιχωματικού υπεζωκότα προβάτου.

Οι παραπάνω παρατηρήσεις δείχνουν ότι η δράση της ADH εξαρτάται από το ρυθμιστικό σύστημα του NO, αλλά ενδεχομένως υπάρχουν διαφορές στην παραγωγή και απελευθέρωσή του από ιστό σε ιστό, ενώ άλλοτε μπορεί να ρυθμίζει επαγωγικά και άλλοτε ανασταλτικά την ορμονική επίδραση. Όσον αφορά τον υπεζωκότα, η διαφορά που παρατηρείται μεταξύ έξω και έσω επιφάνειας μπορεί να οφείλεται στις συγκεκριμένες συγκεντρώσεις ουσιών που

χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη ή στην πιθανή διαφορετική σύσταση των δύο επιφανειών είτε σε υποδοχείς  $V_1$ , είτε σε αριθμό διαύλων ιόντων  $Na^+$ ,  $Ca^{+2}$  και αντλιών  $Na^+-K^+$ , συστήματα που επηρεάζονται από τη δράση του NO. Κατά συνέπεια, οι διαφορές αυτές μπορεί να συσχετίζονται με αλλαγές στην ηλεκτροφυσιολογία των υπεζωκοτικών μεμβρανών, τέτοιες ώστε να επηρεάζουν τη διαπερατότητα του υπεζωκότα και τη διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού.

Συνεχίζοντας τη διερεύνηση των μηχανισμών δράσης της ADH στον υπεζωκότα, όταν χορηγήθηκε ουαμπαΐνη σε συνδυασμό με την ορμόνη, η αύξηση της  $R_{TM}$  περιορίστηκε στον πνευμονικό υπεζωκότα και αναστάλθηκε στην έξω επιφάνεια του τοιχωματικού υπεζωκότα. Φαίνεται πως η δράση της ADH επηρεάζεται από την ταχεία ενεργοποίηση της αντλίας  $Na^+-K^+-ATP$ άσης, διότι η προσθήκη του αναστολέα της συγκεκριμένης αντλίας, ουαμπαΐνη, ανταγωνιζόταν τη δράση της.

Τα παραπάνω αποτελέσματα συμβαδίζουν με μία παλαιότερη μελέτη πάνω στην υδροοσμωτική επίδραση της βαζοπρεσσίνης (AVP) και στο διεπιθηλιακό δυναμικό φλοιωδών αθροιστικών σωληναρίων νεφρού [53]. Επώαση των σωληναρίων με ουαμπαΐνη  $10^{-5}M$  για 30' ανταγωνιζόταν την επαγόμενη αύξηση της AVP στην υδραυλική αγωγιμότητα του νερού, συμπεραίνοντας ότι η αναστολή της αντλίας  $Na^+-K^+-ATP$ άσης επηρεάζει την απάντηση της AVP στη μεμβρανική διαπερατότητα του νερού.

Άλλες έρευνες δείχνουν αντίθετα αποτελέσματα, όσον αφορά την αναστολή της αντλίας  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  από την ουμπαΐνη, στη δράση της ADH [152, 153]. Αλλά και στην παρούσα μελέτη, η ουμπαΐνη δεν κατάφερε να ανταγωνιστεί τη δράση της ADH στην έσω επιφάνεια του τοιχωματικού υπεζωκότα, υποθέτοντας έτσι την πιθανή διαφορά στη σύσταση και στον αριθμό διαύλων ιόντων και αντλιών  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  μεταξύ των μεμβρανών, ώστε να ρυθμίζεται με ανάλογο τρόπο η διαμεσοθηλιακή διαπερατότητα και η ενδεχόμενη διακίνηση υπεζωκοτικού υγρού.

Χρησιμοποιώντας έναν ακόμη αναστολέα διαύλων  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  και  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$ , την αμιλορίδη, σε συνδυασμό με την ADH, η αύξηση της  $R_{\text{TM}}$  αναστάλθηκε στον τοιχωματικό υπεζωκότα και στην έξω επιφάνεια του πνευμονικού υπεζωκότα. Οι παρατηρήσεις αυτές συμφωνούν με αποτελέσματα που σημειώθηκαν σε επιθηλιακά κύτταρα σειράς A6 αμφιβίων [37]. Η προσθήκη αμιλορίδης (10 $\mu\text{M}$ ) περιόριζε την αύξηση που προκαλούσε η βαζοπρεσσίνη (AVP) στην ένταση του διεπιθηλιακού ηλεκτρικού ρεύματος (ISC).

Και σε άλλες μελέτες διαφαίνεται το ανασταλτικό αποτέλεσμα που επιφέρει η αμιλορίδη στη δράση της ADH. Η βαζοπρεσσίνη ρύθμιζε με αυξητικό τρόπο την ανταλλαγή  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  σε ηπατικά κύτταρα αρουραίου, γεγονός που ανταγωνιζόταν η παρουσία αμιλορίδης [15]. Επιπλέον, η βαζοπρεσσίνη (100 $\mu\text{M}$  AVP) αύξανε την απελευθέρωση  $\text{Ca}^{+2}$  και επιτάχυνε την πρωτεϊνοσύνθεση, σε απομονωμένα κύτταρα μυοκαρδίου αρουραίου, αποτελέσματα τα οποία αναστέλλονταν από ειδικό ανταγωνιστή  $V_1$  υποδοχέων και από την αμιλορίδη,



ανταγωνιστή του συστήματος ανταλλαγής  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  [64]. Έτσι, η AVP φαίνεται να αυξάνει την πρωτεϊνοσύνθεση διαμέσου του  $\text{V}_1$  υποδοχέα, ο οποίος είναι ευαίσθητος στην αμιλορίδη.

Η συγκέντρωση της αμιλορίδης που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη, της τάξης του  $10^{-3}\text{M}$ , ενδεχομένως συσχετίζεται και με την αναστολή της ανταλλαγής των ιόντων  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$ . Έτσι, με την επίδραση της αμιλορίδης, πιθανώς να αναστέλλεται η ταχεία παρακυττάρια δράση της ADH, η οποία εξαρτάται από την απελευθέρωση  $\text{Ca}^{+2}$ . Ακόμη, το γεγονός πως η αμιλορίδη δεν μπορούσε να αναστείλλει την αύξηση της  $\text{R}_{\text{TM}}$  που προκαλούσε η ADH στην έσω επιφάνεια του πνευμονικού υπεζωκότα, μπορεί να οφείλεται σε διαφορετική κατανομή ιόντων  $\text{Ca}^{+2}$  και διαύλων  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$ , σχετικά με τις άλλες υπεζωκοτικές επιφάνειες, ώστε να ρυθμίζεται ανάλογα η διαμεσοθηλιακή διαπερατότητα και η επερχόμενη ανταλλαγή και διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού.

Συμπερασματικά, η ADH φαίνεται να έχει ταχεία δράση στην ηλεκτροφυσιολογία του υπεζωκότα προβάτου. Η διαπερατότητα των μεσοθηλιακών ιστών αλλάζει ως αποτέλεσμα της αύξησης από την ορμόνη της διαμεσοθηλιακής αντίστασης και της διαφοράς ηλεκτρικού δυναμικού. Η δράση αυτή αναστέλλεται μερικώς από τον L-NAME, την ουαμπαΐνη και την αμιλορίδη, υποδεικνύοντας έτσι τη συμμετοχή του οξειδίου του αζώτου, της ενεργοποίησης της αντλίας  $\text{Na}^+-\text{K}^+$ , και της διαμεσοθηλιακής μεταφοράς ιόντων, διαμέσου ανταλλαγής  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  ή/και  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$ .

Συγκρίνοντας τις επιδράσεις της αλδοστερόνης και της ADH στον υπεζωκότα προβάτου, παρατηρούνται παρόμοια, αλλά όχι ίδια αποτελέσματα. Αυτό το γεγονός πιθανόν οφείλεται στο διαφορετικό τρόπο δράσης των δύο ορμονών (στεροειδής και πεπτιδική, αντίστοιχα). Παρ'όλ'αυτά, συμμετέχοντας και οι δύο στην ομοιόσταση υγρών και ηλεκτρολυτών των ιστών του οργανισμού, φαίνεται να επιδρούν και στον υπεζωκότα με παρόμοιους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς μέσω υποδοχέων, συστημάτων διαβιβαστών δευτέρας τάξης, διάνοιξης διαύλων και μεταφοράς/ανταλλαγής ιόντων. Αυτό, στην παρούσα μελέτη διαφαίνεται ως ταχεία αύξηση της  $R_{TM}$  μετά από κάθε ορμονική επίδραση, οδηγώντας ίσως σε αλλαγή της διαμεσοθηλιακής διαπερατότητας και σε ενδεχόμενη διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού, τέτοια ώστε να οδηγεί σε εγκλωβισμό και σταδιακή συσσώρευσή του επί της υπεζωκοτικής κοιλότητας. Πιθανόν, οι ταχείες ορμονικές επιδράσεις στον υπεζωκότα να δίνουν το έναυσμα για την έναρξη ανάπτυξης υπεζωκοτικών συλλογών, οι οποίες εκδηλώνονται σε διάφορες κλινικές καταστάσεις του οργανισμού.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης συνηγορούν υπέρ των ακόλουθων συμπερασμάτων:

1. Ο υπεζωκότας φαίνεται να συμμετέχει ενεργά στη διακίνηση υγρών και ηλεκτρολυτών. Απαντά στις ορμονικές επιδράσεις της αλδοστερόνης και της αντιδιουρητικής ορμόνης με αύξηση της διαμεσοθηλιακής του αντίστασης. Αυτό συμβαίνει μέσω ενεργοποίησης της αντλίας  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPάσης}$ , διάνοιξης διαύλων  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^+$  και ανταλλαγής  $\text{Na}^+\text{-H}^+$ , όπως φαίνεται από τη χρήση των αναστολέων ουαμπαΐνη και αμιλορίδη.
2. Οι επιδράσεις και των δύο ορμονών είναι άμεσες, ταχείες, εμφανείς από το πρώτο λεπτό της χορήγησής τους, τόσο στον πνευμονικό όσο και στον τοιχωματικό υπεζωκότα. Διαρκούν περίπου 45'-60' για την αλδοστερόνη και 20'-60' για την αντιδιουρητική ορμόνη.
3. Η άμεση δράση της αλδοστερόνης στον υπεζωκότα, δε φαίνεται να εξαρτάται από τον κλασσικό, στεροειδικό κυτταροπλασματικό υποδοχέα της. Η σπειρολακτόνη αναστέλλει μερικώς την ταχεία δράση της αλδοστερόνης .
4. Τα άμεσα αποτελέσματα της αντιδιουρητικής ορμόνης φαίνεται πως ασκούνται στον υπεζωκότα μέσω της παρακυττάριας και της διακυττάριας δράσης των πεπτιδικών ορμονών.
5. Η αύξηση της διαμεσοθηλιακής αντίστασης του υπεζωκότα πιθανόν οφείλεται σε αύξηση της παραγωγής του οξειδίου του

αζώτου και για τις δύο ορμόνες, όπως προκύπτει από τη χρήση του αναστολέα L-NAME.

6. Αυτή η αύξηση ενδεχομένως τροποποιεί τη διαπερατότητα των μεσοθηλιακών ιστών, οδηγώντας σε διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού και πιθανή έναρξη υπεζωκοτικών συλλογών.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα μελέτη εξετάσθηκε η δράση της αλδοστερόνης και της αντιδιουρητικής ορμόνης στη διαμεσοθηλιακή ηλεκτρική αντίσταση ( $R_{TM}$ ) του σπλαγχνικού και τοιχωματικού υπεζωκότα προβάτου. Δείγματα υπεζωκότα προβάτου μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο εντός 30 λεπτών από το θάνατο του ζώου, σε εμπλουτισμένο με οξυγόνο διάλυμα Krebs-Ringer και σε θερμοκρασία 4<sup>0</sup>C. Ο υπεζωκότας τοποθετήθηκε σε συσκευή τύπου Ussing και έγιναν ηλεκτρικές μετρήσεις.

Η  $R_{TM}$  αυξήθηκε ταχέως σε όλα τα δείγματα που εξετάσθηκαν ένα λεπτό μετά την προσθήκη της αλδοστερόνης. Για το σπλαγχνικό υπεζωκότα, η  $R_{TM}$  του ιστού αναφοράς των πειραμάτων ελέγχου της αλδοστερόνης μετρήθηκε 22,90±0,78Ωcm<sup>2</sup>. Ένα λεπτό μετά την έκθεση στην ορμόνη, η  $R_{TM}$  της έσω επιφάνειας (προς την υπεζωκοτική κοιλότητα) αυξήθηκε σε 29,11±1,04Ωcm<sup>2</sup> και η  $R_{TM}$  της έξω επιφάνειας (προς το διάμεσο ιστό) σε 29,17±1,10Ωcm<sup>2</sup>. Για τον τοιχωματικό υπεζωκότα, η  $R_{TM}$  του ιστού αναφοράς μετρήθηκε 20,16±1,08Ωcm<sup>2</sup>, αλλά ένα λεπτό μετά την επίδραση του στεροειδούς, η  $R_{TM}$  της έσω επιφάνειας αυξήθηκε σε 29,09±0,99Ωcm<sup>2</sup> και η  $R_{TM}$  της έξω επιφάνειας σε 28,00±1,05Ωcm<sup>2</sup>. Η αύξηση αυτή παρέμενε στατιστικά σημαντική για 45-60 λεπτά και ήταν δοσοεξαρτώμενη.

Η  $R_{TM}$  αυξήθηκε επίσης ταχέως, σε όλα τα δείγματα που εξετάσθηκαν ένα λεπτό μετά την προσθήκη της αντιδιουρητικής ορμόνης. Για το σπλαγχνικό υπεζωκότα, η  $R_{TM}$  του ιστού αναφοράς της αντιδιουρητικής μετρήθηκε 20,80±0,95Ωcm<sup>2</sup>, αλλά ένα λεπτό μετά

την έκθεση στην ορμόνη, η  $R_{TM}$  της έσω επιφάνειας αυξήθηκε σε  $24,01 \pm 1,04 \Omega \text{cm}^2$  και η  $R_{TM}$  της έξω επιφάνειας σε  $25,90 \pm 1,10 \Omega \text{cm}^2$ . Για τον τοιχωματικό υπεζωκότα, η  $R_{TM}$  του ιστού αναφοράς μετρήθηκε  $20,49 \pm 0,80 \Omega \text{cm}^2$ , αλλά ένα λεπτό μετά την επίδραση του πεπτιδίου, η  $R_{TM}$  τόσο της έσω, όσο και της έξω επιφάνειας αυξήθηκε σε  $22,78 \pm 0,99 \Omega \text{cm}^2$ . Η αύξηση αυτή παρέμενε στατιστικά σημαντική για 20-60 λεπτά και ήταν δόσοεξαρτώμενη.

Οι παραπάνω μεταβολές φαίνεται να συμβαίνουν μέσω ενεργοποίησης της αντλίας  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPάσης}$ , διάνοιξης διαύλων ιόντων  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{+2}$  και ανταλλαγής  $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ , αφού μελετώντας την επίδραση των αναστολέων ιόντων ουαμπαΐνη και αμιλορίδη, ανέστειλλαν άλλοτε μερικώς και άλλοτε πλήρως τη δράση των ορμονών.

Η χρήση του αναστολέα της συνθετάσης του οξειδίου του αζώτου L-NAME ανταγωνιζόταν τη δράση της αλδοστερόνης και της αντιδιουρητικής ορμόνης στον υπεζωκότα. Επομένως, στην αύξηση της διαμεσοθηλιακής αντίστασης του υπεζωκότα και από τις δύο ορμόνες, πιθανώς συμμετέχει η γρήγορη απελευθέρωση οξειδίου του αζώτου στον ιστό.

Ο κλασικός στεροειδικός αναστολέας σπειρολακτόνη, εξετάσθηκε μόνος του και σε συνδυασμό με την αλδοστερόνη, χωρίς να μπορέσει να αναστείλλει πλήρως την άμεση δράση της, γεγονός που υποδηλώνει την ταχεία, μη γονιδιακή επίδραση της ορμόνης στον υπεζωκότα.

Επίσης, ο χρόνος δράσης της αντιδιουρητικής ορμόνης στον υπεζωκότα, ο οποίος είναι άμεσος και με διάρκεια, φαίνεται να

εξαρτάται τόσο από την παρακυττάρια, όσο και από τη διακυττάρια δράση των πεπτιδικών ορμονών, ενεργοποιώντας πιθανώς  $V_1$  και  $V_2$  υποδοχείς.

Συμπερασματικά, τόσο η αλδοστερόνη, όσο και η αντιδιουρητική ορμόνη αυξάνουν τη διαμεσοθηλιακή αντίσταση του υπεζωκότα προβάτου, τροποποιώντας με αυτόν τον τρόπο τη διαπερατότητά του. Η αλλαγή της διαπερατότητας των μεσοθηλιακών κυττάρων, από τα οποία αποτελείται ο υπεζωκότας, επηρεάζει την ανταλλαγή νερού και ηλεκτρολυτών, οδηγώντας σε διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού. Η πιθανή αύξηση του υγρού εντός της υπεζωκοτικής κοιλότητας επάγει ενδεχομένως την έναρξη ανάπτυξης υπεζωκοτικών συλλογών.

## SUMMARY

In the present study, effects of aldosterone and antidiuretic hormone were investigated in transmesothelial electrical resistance ( $R_{TM}$ ) of visceral and parietal sheep pleura. Specimens of sheep pleurae were transferred to the laboratory within 30 minutes after death of the animal in a pre-oxygenated Krebs-Ringer solution at 4<sup>0</sup>C. The pleura was then mounted as the planar sheet in Ussing-type chambers and electrical measurements were made.

There was a rapid increase in  $R_{TM}$  in all of the samples examined one minute after addition of aldosterone. For visceral pleura,  $R_{TM}$  of control tissue of aldosterone was measured  $22,90 \pm 0,78 \Omega \text{cm}^2$ . One minute after hormone's exposure,  $R_{TM}$  of the surface towards the pleural cavity (in) increased to  $29,11 \pm 1,04 \Omega \text{cm}^2$  and  $R_{TM}$  of the surface towards serosal tissue (out) increased to  $29,17 \pm 1,1,10 \Omega \text{cm}^2$ . For parietal pleura,  $R_{TM}$  of control tissue was measured  $20,16 \pm 1,08 \Omega \text{cm}^2$ , but one minute after steroid exposure,  $R_{TM}$  in increased to  $29,09 \pm 0,99 \Omega \text{cm}^2$  and  $R_{TM}$  out increased to  $28,00 \pm 1,05 \Omega \text{cm}^2$ . This increase lasted 45-60 minutes and was dose dependent.

Also, there was a rapid increase in  $R_{TM}$  in all of the samples examined one minute after addition of antidiuretic hormone (vasopressin). For visceral pleura,  $R_{TM}$  of control tissue of vasopressin was measured  $20,80 \pm 0,95 \Omega \text{cm}^2$ , but one minute after hormone's exposure,  $R_{TM}$  in increased to  $24,01 \pm 1,04 \Omega \text{cm}^2$  and  $R_{TM}$  out increased to  $25,90 \pm 1,10 \Omega \text{cm}^2$ . For parietal pleura,  $R_{TM}$  of control tissue was



measured  $20,49 \pm 0,80 \Omega \text{cm}^2$ , but one minute after peptide exposure,  $R_{\text{TM}}$  in as long as  $R_{\text{TM}}$  out increased to  $22,78 \pm 0,99 \Omega \text{cm}^2$ . This increase lasted 20-60 minutes and was dose-dependent.

These changes seem to happen through  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase pump activation,  $\text{Na}^+$  and  $\text{Ca}^{+2}$  ion channels opening and  $\text{Na}^+$ - $\text{H}^+$  antiporter, because the addition of ion inhibitors ouabain and amiloride prevented in part or completely both hormonal effect.

The addition of inhibitor of nitric oxide synthase L-NAME prevented the action of aldosterone and vasopressin in pleura. This suggests that the increase of transmesothelial resistance of pleura by both hormones may be accounted by rapid release of nitric oxide.

The classic steroid inhibitor spiro lactone, was investigated alone and in combination with aldosterone and it could not prevent completely the hormone's rapid action. This suggests a rapid, non-genomic effect of aldosterone in pleura.

Furthermore, the antidiuretic hormone's action in pleura, which was rapid and lasted on time, seems to depend on the paracellular as long as the transcellular way of action of peptide hormones, probably by activating  $V_1$  and  $V_2$  receptors.

Consequently, aldosterone and vasopressin increase the electrical resistance of sheep pleura and thus alter its transmesothelial permeability. These permeability alterations of mesothelial cells, which pleural tissue is made of, seem to affect the transport of water and electrolytes, which leads to pleural fluid movements. The possible increase of fluid volume into the pleural cavity, probably induces the gradually development of pleural effusions.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Agostoni E, Taglietti A, Setnikar I. Absorption force of the capillaries of the visceral pleura in determination of intrapleural pressure. *Am J Physiol* 191: 277-282, 1957.
- [2] Agostoni E. Mechanics of the pleural space. *Physiol Rev* 52: 57-128, 1972.
- [3] Agostoni E. Mechanisms of the pleural space. *Handbook of Physiology. The Respiratory system. Mechanics of Breathing.* Bethesda, MD: Am Physiol Soc 30: 531-560, 1986.
- [4] Agostoni E, Zocchi L. Solute-coupled liquid absorption from the pleural space. *Respir Physiol* 81: 19-27, 1990.
- [5] Agostoni E, D'Angelo E. Pleural liquid pressure. *J Appl Physiol* 71: 393-403, 1991.
- [6] Agostoni E, Zocchi L. Mechanical coupling and liquid exchanges in the pleural space. *Clin Chest Med* 19: 241-260, 1998.
- [7] Agostoni E, Bodega F, Zocchi L. Equivalent radius of paracellular "pores" of the mesothelium. *J Appl Physiol* 87: 538-544, 1999.
- [8] Albertine KH, Wiener-Kronish JP, Roos PJ, Staub NC. Structure, blood supply, and lymphatic vessels of the sheep's visceral pleura. *Am J Anat* 165: 277-294, 1982.
- [9] Albertine KH, Wiener-Kronish JP, Staub NC. The structure of the parietal pleura and its relationship to pleural liquid dynamics in sheep. *Anat Rec* 208: 401-409, 1984.

- [10] Alzamora R, Marusic ET: Nongenomic effect of aldosterone on  $\text{Na}^+,\text{K}^+$ -adenosine triphosphate in arterial vessels. *Endocrinology* 144: 1266-1272, 2003.
- [11] Andersen MK, Sorensen JB. Development of syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone during progression of metastatic breast cancer. *Acta Oncol* 36: 535-537, 1997.
- [12] Andrew PM, Porter KR. The ultrastructural morphology and possible functional significance of mesothelial microvilli. *Anat Rec* 177: 409-426, 1973.
- [13] Antony VB, Sahn SA, Mossman B, Gail DB, Kalica A. Pleural cell biology in health and disease. *Am Rev Respir Dis* 145: 1236-1239, 1992.
- [14] Antony VB, Mohammed KA. Pathophysiology of pleural space infections. *Semin Respir Infect* 14: 9-17, 1999.
- [15] Anwer MS, Atkinson JM. Intracellular calcium-mediated activation of hepatic  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange by arginine vasopressin and phenylephrine. *Hepatology* 15: 134-143, 1992.
- [16] Armstrong W. The cell membrane and biological transport. *Physiology* 1: 1-37, 1985.
- [17] Aron DC, Findling JW, Tyrel JB. Hypothalamus & Pituitary Gland. *Basic and Clinical Endocrinology* 5: 163-171, 2004.
- [18] Bai JP, Chang LL. Effects of enzyme inhibitor and insulin concentration on transepithelial transport of insulin in rats. *J Pharm Pharmacol* 48: 1078-1082, 1996.

- [19] Balabann RS, Mandel LJ, Benos DJ. On the cross reactivity of amiloride and 2.4.6 triaminopyrimidine (TAP) for the cellular entry and tight junctional cation permeation pathways in epithelia. *J Membrane Biol* 49: 363-390, 1979.
- [20] Barazas-Lopez C, Huizinga JD. Ouabain-induced excitation of colonic smooth muscle due to block of  $K^+$  conductance by intracellular  $Na^+$  ions. *Eur J Pharmacol* 221: 51-58, 1992.
- [21] Bernaudin J-F, Fleury J.. Anatomy of the blood and lymphatic circulation of the pleural serosa. *The Pleura in Health and Disease*: 23-42, 1985.
- [22] Bernaudin JF, Fleury J. Anatomy of the blood and lymphatic circulation of the pleura serosa. *The Pleura in Health and Disease*: 101-121, 1985.
- [23] Black LF. The pleural space and pleural fluid. *Mayo Clin Proc* 47: 493-506, 1972.
- [24] Bodega F, Zocchi L, Agostoni E. Macromolecule transfer through mesothelium and connective tissue. *J App Physiol* 89: 2165-2173, 2000.
- [25] Bodega F, Zocchi L, Cremaschi D, Agostoni E. Electrical resistance and ion diffusion through mesothelium. *Respir Physiol* 124: 231-241, 2001.
- [26] Bohlen HG, Lash JM. Intestinal lymphatic vessels release endothelial-dependent vasodilators. *Am J Physiol* 262: H813-H818, 1992.
- [27] Bowden FP, Tabor D. *Friction and Lubrication*, 1967.

- [28] Bowley KA, Morton MJ, Hunter M, Sandle GI: Non-genomic regulation of intermediate conductance potassium channels by aldosterone in human colonic crypt cells. *Gut* 52: 854-60, 2003.
- [29] Broaddus VC, Wiener-Kronish JP, Berthiaume Y, Staub NC. Removal of pleural liquid and protein by lymphatics in awake sheep. *J Appl Physiol* 64: 384-390, 1988.
- [30] Broaddus VC, Araya M, Carlton D, Bland RD. Developmental changes in pleural liquid protein concentration in sheep. *Am Rev Respir Dis* 143: 38-41, 1991.
- [31] Broaddus VC, Araya M. Liquid and protein dynamics using a new minimally invasive pleural catheter in rabbits. *J Appl Physiol* 72: 851-857, 1992.
- [32] Brown MA. The physiology of pre-eclampsia. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 229: 781-791, 1995.
- [33] Butler JP, Huang J, Loring SH, Lai-Fook SJ, Wang PM, Wilson TA. Model for a pump that drives circulation of pleural fluid. *J Appl Physiol* 78: 23-29, 1995.
- [34] Caballero R, Moreno I, Gonzalez T, Arias C, Valenzuela C, Delpon E, Tamargo J. Spirolactone and its metabolite, canrenoic acid, human ether-a-go-go-related gene channels. *Circulation* 107: 889-895, 2003.
- [35] Carson-Jurica MA, Schrader WT, O'Malley B. Steroid receptor family: structure and functions. *Endocr Rev* 11: 201-220, 1990.

- [36] Celermajer DS. Endothelial dysfunction: does it matter? It is reversible? *J Am Coll Cardiol* 30: 325-333, 1997.
- [37] Chalfant ML, Coupaye-Gerard B, Kleyman TR. Distinct regulation of Na<sup>+</sup> reabsorption and Cl<sup>-</sup> secretion by arginine vasopressin in the amphibian cell line A6. *Am J Physiol* 264: C1480-1488, 1993.
- [38] Christ M, Welhing M. Rapid actions of aldosterone: lymphocytes, vascular smooth muscle and endothelial cells. *Steroids* 64: 35-41, 1999.
- [39] Chun TY, Pratt JH: Non-genomic effects of aldosterone: new actions and questions. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 15: 353-354, 2004.
- [40] Γουργουλιάνης ΚΙ, Ορφανίδου Δ, Χατζησταύρου Κ, Χατζηνικολάου Β, Φύτου Α, Σαμαρά Ι, Ιορδάνογλου Ι. Η μέτρηση της αδενοσιδιαμινάσης στη διάγνωση των νόσων των πνευμόνων. *Ιατρική* 59: 387-391, 1991.
- [41] Curry FE. Mechanics and thermodynamics of capillary exchange. *Handbook of physiology. The cardiovascular system. Microcirculation.* Bethesda, MD. *Am Physiol Soc* 8: 309-374, 1984.
- [42] Dacquet C, Loirand G, Mironneau C, Mironneau J, Pacaud P. Spironolactone inhibition of contraction and calcium channels in rat portal vein. *Br J Pharmacol* 92: 535-544, 1987.
- [43] Dawson DC. Permeability and conductance of ion channels. *Molecular Biology of Membrane Transport Disorders* 5: 87-110, 1996.

- [44] De With ND, Slootstra JW, Van Der Schors RC. The bioelectrical activity of the body wall of the pulmonate freshwater snail *Lymnaea stagnalis*: Effects of neurotransmitters and the sodium influx stimulating neuropeptides. *Gen Comp Endocr* 70: 216-223, 1988.
- [45] Deffebach ME, Charan NB, Lakshminarayan S, Butler J. The bronchial circulation. *Am Rev Respir Dis* 135: 463-481, 1987.
- [46] Delbaere A, Bergmann PJ, Gervy-Decoster C, Camus M, de Maertelae V, Englert Y. Prorenin and active renin concentrations in plasma and ascites during severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 12: 236-240, 1997.
- [47] Di Carlo C, Bruno P, Cirillo D, Morgera R, Pilicano M, Nappi C. Increased concentrations of renin, aldosterone and CA 125 in case of spontaneous, recurrent, familial, severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 12: 2115-2117, 1997.
- [48] Dieguez G, Martinez MA, Fernandez N, Climent B, Garcia-Villalon AL, Monge L. Vasopressin effects on the coronary circulation after a short ischemia in anesthetized goats: role of nitric oxide and prostanoids. *Eur J Pharmacol* 14: 171-177, 2004.
- [49] Ding JW, Dickie J, O'Brodovich H, Shintani V, Rafii B, Hacham D, Marunaka Y, Rotstein OD. Inhibition of amiloride-sensitive sodium-channel activity in distal lung epithelial cells by nitric oxide. *Am J Physiol* 274: L378-387, 1998.
- [50] Don BR, Schambelan M, Lo JC. Endocrine hypertension. *Basic & Clinical Endocrinology* 10: 414-422, 2004.

- [51] Dubinsky WP, Mayorga-Wark O. Methods of reconstitution of ion channels. *Molecular Biology of Membrane Transport Disorders* 4: 73-86, 1996.
- [52] Dworkin MJ, Carnochan P, Allen-Mersh TG. Nitric oxide inhibition sustains vasopressin-induced vasoconstriction. *Br J Cancer* 71: 942-944, 1995.
- [53] Edwards RM, Grantham JJ. Inhibition of vasopressin action by vanadate in the cortical collecting tubule. *Am J Physiol* 245: F772-777, 1983.
- [54] Engelberg J, Radin J. Tracheal-vascular and vascular-pleural potential in the rat lung. *Respir Physiol* 30: 253-263, 1977.
- [55] Evbuomwan IO, Davison JM, Baylis PH, Murdoch AP. Altered osmotic thresholds for arginine vasopressin secretion and thirst during superovulation and in the ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): relevance to the pathophysiology of OHSS. *Am Soc Rep Med. Fertility and Sterility* 75: 933-941, 2001.
- [56] Fabregues F, Balasch J, Manau D, Jimenez W, Arroyo V, Creus M, Rivere F, Vanrell JA. Haematocrit, leucocyte and platelet counts and the severity of the ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod* 13: 2406-2410, 1998.
- [57] Falkenstein E, Christ M, Feuring M, Wehling M. Specific nongenomic actions of aldosterone. *Kidney International* 57: 1390-1394, 2000.



- [58] Falkenstein E, Norman AW, Wehling M. Mannheim classification of nongenomically initiated (rapid) steroid action(s). *J Clin Endocrinol Metab* 85: 2072-2075, 2000.
- [59] Farquharson CA, Srruthers AD. Spironolactone increases nitric oxide bioactivity, improves endothelial vasodilator dysfunction, and suppresses vascular angiotensin I/angiotensin II conversion in patients with chronic heart failure. *Circulation* 101: 594-597, 2000.
- [60] Fentie IH, Allen DJ, Schenck MH, Didio LJA. Comparative electron-microscopic study of bovine, porcine, and human parietal pericardium as materials for cardiac valve bioprotheses. *J Submicrosc Cytol* 18: 53-65, 1986.
- [61] Ferguson MK, DeFilippi VJ. Nitric oxide and endothelium-dependent relaxation in tracheobronchial lymph vessels. *Microvas Res* 47: 308-317, 1994.
- [62] Fernandez N, Garcia JL, Garcia-Villalon AL, Monge L, Gomez B, Dieguez G. Coronary vasoconstriction produced by vasopressin in anesthetized goats. Role of vasopressin V<sub>1</sub> and V<sub>2</sub> receptors and nitric oxide. *Eur J Pharmacol* 342: 225-233, 1998.
- [63] Fujii Y, Takemoto F, Katz AI. Early effects of aldosterone on Na-K pump in rat cortical collecting tubules. *Am J Physiol* 259: F40-45, 1990.
- [64] Fukuzawa J, Haneda T, Kikuchi K. Arginine vasopressin increases the rate of protein synthesis in isolated perfused adult rat heart via the V<sub>1</sub> receptor. *Mol Cell Biochem* 195: 93-98, 1999.

- [65] Galletta LJ, Musante L, Romio L, Caruso U, Fantasia A, Gazzolo A, Romano L, Sacco O, Rossi GA, Varesio L, Zegarra-Moran O. An electrogenic amino acid transporter in the apical membrane of cultured human bronchial epithelial cells. *Am J Physiol* 275: L917-L923, 1998.
- [66] Garcia Rull S, Romero Candeira S, del Castillo Alvarez S, Lago Viguera J, Sueiro Bendito A. Inappropriate antidiuretic hormone secretion syndrome associated with a pleuropulmonary infection. *Med Clin (Barc)* 76: 226-229, 1981.
- [67] Garty H. Mechanisms of aldosterone action in tight epithelia. *J Membrane Biol* 90: 193-205, 1986.
- [68] Garty H, Benos DJ. Characteristics and regulatory mechanisms of the amiloride-blockable Na<sup>+</sup> channel. *Am Physiol Soc Physiol Rev* 68: 309-373, 1988.
- [69] Gil J. Morphological basis of exchanges across the pleura. *The Pleura in Health and Disease* 88-99, 1985.
- [70] Gorodeski GA, Yang T, Levy MN, Goldfarb J, Utian WH. Effects of estrogen in vivo on coronary vascular resistance in perfused rabbit hearts. *Am J Physiol* 269: R1333-1338, 1995.
- [71] Gray SG, Skandalakis JE. Development of the pleura. *The Pleura in Health and Disease*: 3-18, 1985.
- [72] Gross JB, Kokko JP: Effects of aldosterone and potassium-sparing diuretics on electrical potential differences across the distal nephron. *J Clinical Investigation* 59: 82-89, 1997.
- [73] Grossmann C, Benesic A, Krug AW, Freudinger R, Mildemberger S, Gassner B, Gekle M. Human mineralocorticoid receptor expression

renders cells responsive for nongenotropic aldosterone actions. *Mol Endocrinol* 19: 1697-1710, 2005.

[74] Guo V, Duvall MD, Crow JP, Matalon S. Nitric oxide inhibits Na<sup>+</sup> absorption across cultured alveolar type II monolayers. *Am J Physiol* 274: L369-377, 1998.

[75] Guyton. Νεφρικοί μηχανισμοί για τη ρύθμιση της ωσμωτικότητας και της συγκέντρωσης του νατρίου του εξωκυττάριου υγρού. *Ιατρική Φυσιολογία* 28: 401-409, 1992.

[76] Guyton. Η νεφρική ρύθμιση του όγκου του αίματος και του εξωκυττάριου υγρού. Η απέκκριση και η ρύθμιση της ουρίας, του καλίου και άλλων ουσιών. *Ιατρική Φυσιολογία*: 410-419, 1992.

[77] Haning RV, Strawn EY, Nolten WE. Pathophysiology of the ovarian hyperstimulation syndrome. *Obstet Gynecol* 66: 220, 1985.

[78] Haseroth K, Christ M, Falkenstein E, Wehling M. Aldosterone- and progesterone-membrane binding proteins: new concepts of nongenomic steroid action. *Curr Protein Pept Sci* 1: 385-401, 2000.

[79] Hatzoglou C, Gourgoulisanis KI, Molyvdas PA. Effects of SNP, ouabain, and amiloride on electrical potential profile of isolated sheep pleura. *J Appl Physiol* 90: 1565-1569, 2001.

[80] Hatzoglou C, Gourgoulisanis KI, Hatzoglou A, Castanas E, Molyvdas PA. Rapid effects of 17<sup>β</sup>-estradiol and progesterone on sheep visceral and parietal pleura via a nitric oxide pathway. *J Appl Physiol* 93: 752-758, 2002.

[81] Henriksen JH, Moller S. Haemodynamics and fluid retention in liver disease. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 30: 320-332, 1998.

- [82] Hillaire-Buys D, Chapal J, Linck N, Blayac JP, Petit P, Loubatieres-Mariani MM. Involvement of K<sup>+</sup> channel permeability changes in the L-NAME and indomethacin resistant part of adenosine-5'-O-(2-thiodiphosphate)-induced relaxation of pancreatic vascular bed. *Br J Pharmacol* 124: 149-156, 1998.
- [83] Hills BA, Butler BD, Barrow RE. Boundary lubrication imparted by pleural surfactants and their identification. *J Appl Physiol* 53: 463-469, 1982.
- [84] Hills BA, Butler BD. Phospholipids identified on the pericardium and their ability to impart boundary lubrication. *Ann Biomed Engineer* 13: 573-586, 1985.
- [85] Hills BA. *The Biology of Surfactant*. Cambridge, 1988.
- [86] Hirano S, Imamura T, Matsuo T, Ishiyama Y, Kato J, Kitamura K, Koiwaya Y, Eto T. Differential responses of circulating and tissue adrenomedullin and gene expression to volume overload. *J Card Fail* 6: 120-129, 2000.
- [87] Horisberger JD, Giebisch G. Potassium-sparing diuretics. *Ren Physiol* 10: 198-220, 1987.
- [88] Ignarro LG, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci* 84: 9265-9269, 1987.
- [89] Ishihara T, Ferrans VJ, Jones M, Boyce SW, Kawanami O, Roberts WC. Histologic and ultrastructural features of normal human parietal pericardium. *Am J Cardiol* 46: 744-753, 1980.

- [90] Jaurand MC, Fleury-Feith J, Bernaudin JF, Bignon J. Pleural mesothelial cells. *The Lung: Scientific Foundations* 961-969, 1997.
- [91] Judson MA, Sahn SA. The pleural space and organ transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 153: 1153-1165, 1996.
- [92] Kagawa K, Fujitaka K, Isobe T, Yamasaki M, Miyazaki M, Oguri T, Khno N. Syndrome of inappropriate secretion of ADH (SIADH) following cisplatin administration in pulmonary adenocarcinoma patient with a malignant pleural effusion. *Intern Med* 40: 1020-1023, 2001.
- [93] Kamemoto FI, Oyama SN. Neuroendocrine influence on effector tissues of hydromineral balance in crustacean. *Curr Trends Comp Endocr* 92: 883-886, 1985.
- [94] Kanazawa K.. Exchanges through the pleura. Cells and particles. *The Pleura in Health and Disease*: 195-231, 1985.
- [95] Kelley TJ, Cotton CU, Drumm ML. Regulation of amiloride-sensitive sodium absorption in murine airway epithelium by C-type natriuretic peptide. *Lancet* 343: 1318-1321, 1994.
- [96] Kern RC, Foster JD, Ptovski DZ. Mineralocorticoid (type I) receptors in the olfactory mucosa of the mammal: studies with [3H] aldosterone and the anti-mineralocorticoid spiro lactone. *Chem Senses* 22: 141-148, 1997.
- [97] Kiknadge MP. *Kardiologia* 31: 71-72, 1991.
- [98] Kim K, McIlroy Critz A, Crandall E. Transport of water and solutes across sheep visceral pleura. *Am Rev Respir Dis* 120: 883-892, 1979.

- [99] Kinasewitz GT, Groome LJ, Marshall RP, Diana JN. Permeability of the canine visceral pleura. *J Appl Physiol* 55: 121-130, 1983.
- [100] Kinasewitz GT, Groome LJ, Marshall RP, Diana JN. Role of pulmonary lymphatics and interstitium in visceral pleural fluid exchange. *J Appl Physiol* 56: 355-363, 1984.
- [101] Kinasewitz GT. Transudative effusions. *Eur Respir J* 10: 714-718, 1997.
- [102] Klauber N, Browne F, Anand-Apte B, D'Amato RJ. New activity of spironolactone. American Heart Association. *Circulation* 94: 2566-2571, 1996.
- [103] Kroegel C, Antony VB. Immunobiology of pleural inflammation: Potential implications for pathogenesis, diagnosis and therapy. *Eur Respir J* 10: 2411-2418, 1997.
- [104] Kubes P, Granger N. Nitric oxide modulates microvascular permeability. *Am J Physiol* 262: H611-H615, 1992.
- [105] Kubes P. Nitric oxide-induced microvascular permeability alterations: a regulatory role for cGMP. *Am J Physiol* 265: H1909-H1915, 1993.
- [106] Kutchai HC. Φυσιολογία του κυττάρου. *Αρχές Φυσιολογίας* 1: 3-23, 1999.
- [107] Lagumdzija A, Pernow Y, Bucht E, Gonon A, Petersson M. The effects of arg-vasopressin on osteoblast-like cells in endothelial nitric oxide synthase-knockout mice and their wild type counterparts. *Peptides* 26: 1661-1666, 2005.

- [108] Lai-Fook SJ, Beck KC, Southorn PA. Pleural liquid pressure measured by micropipetes in rabbits. *J Appl Physiol* 56: 1633-1639, 1984.
- [109] Lai-Fook SJ, Kaplowitz MR. Pleural space thickness in situ by light microscopy in five mamalian species. *J Appl Physiol* 59: 603-610, 1985.
- [110] Lai-Fook SJ. Mechanics of the pleural space: fundamental concepts. *Lung* 165: 249-267, 1987.
- [111] Lai-Fook SJ, Kaplowitz MR. Pleural protein concentration and liquid volume in spontaneously hypertensive rats. *Microvasc Res* 35: 101-108, 1988.
- [112] Lai-Fook SJ, Rodart JR. Pleural pressure distribution and its relationship to lung volume and interstitial pressure. *J Appl Physiol* 70: 967-978, 1991.
- [113] Lai-Fook SJ, Wang PM.. Dynamics of pleural liquid. *Complexity in Structure and Function of the Lung*: 123-149, 1997.
- [114] Lai-Fook SJ. Pleural mechanics and fluid exchange. *Am Physiol Soc. Physiol Rev* 84: 385-410, 2004.
- [115] Landis ER, Pappenheimer JR.. Exchange of substances through the capillary walls. *Handbook of Physiology Am Physiol Soc*: 961-1034, 1963.
- [116] Leew PW, Peeters LL. Sodium restriction during pregnancy: an outdated advice. *NedTijdschr Geneesk* 143: 2131-2132, 1999.
- [117] Le Moellic C, Ourvard-Pascaud A, Capurro C, Cluzeaud F, Fay M, Jaisser F, Farman N, Blot-Chabaud M. Early nongenomic events in

aldosterone action in renal collecting duct cells: PKC $\alpha$  activation, mineralocorticoid receptor phosphorylation, and cross-talk with the genomic response. *J Am Soc Nephrol* 15: 1145-1160, 2004.

[118] Levick JR.. *An Introduction to Cardiovascular Physiology*, 1991.

[119] Li KX, Sperelakis N. Electrogenic Na-K pump current in rat skeletal myoballs. *J Cell Physiol* 159: 181-186, 1994.

[120] Light RW, MacGregor MI, Luchsinger PC. Pleural effusions: the diagnostic separation of transudates and exudates. *Ann Intern Med* 77: 505-513, 1972.

[121] Lipton P, Edelman I. Effects of aldosterone and vasopressin on electrolytes of toad bladder epithelial cells. *Am J Physiol* 221: 3733-3741, 1971.

[122] Liu SL, Schmuck S, Chorazczyzewski JZ, Gros R, Feldman RD. Aldosterone regulates vascular reactivity: short term effects mediated by phosphatidylinositol 3- kinase-dependent nitric oxide synthase activation. *Circulation* 108: 2400-2406, 2003.

[123] Losel RM, Feuring M, Falkenstein E, Wehling M. Nongenomic effects of aldosterone: cellular aspects and clinical implications. *Steroids* 67: 493-498, 2002.

[124] Losel R, Feuring M, Wehling M. Nonongenomic aldosterone action: from the cell membrane to human physiology. *J Steroid Biochem Mol Biol* 83: 167-171, 2002.

[125] Lucky J, Chen XJ, Brown LA, Eaton DC. Nitric oxide inhibits lung sodium transport through a cGMP-mediated inhibition of epithelial cation channels. *Am J Physiol* 274: L475-484, 1998.



- [126] Madison LD, Bergstrom-Porter B, Torres AR, Shelton E. Regulation of surface topography of mouse peritoneal cells. *J Cell Biol* 82: 783-797, 1979.
- [127] Mainwaring RD, Lamberti JJ, Carter TL, Moore JW and Nelson JC. Renin, angiotensin II, and the development of effusions follow bidirectional Glenn and Fontan procedures. *J Card Surg* 10: 111-118, 1995.
- [128] Mainwaring RD, Lamberti JJ, Moore JW, Billman GF, Carter TL, Nelson JC. Tetralogy of Fallot repair results in activation of the renin-angiotensin-aldosterone system. *Eur Heart J* 17: 1421-1425, 1996.
- [129] Manalis RS, Hastings L. Electrical gradients across an ion-exchange membrane in student's artificial cell. *J Appl Physiol* 36: 769-770, 1974.
- [130] Manau D, Balasch J, Arroyo V, Jimenez W, Fabregues F, Casamitjana R, Creus M, Vanrell JA. Circulatory dysfunction in asymptomatic in vitro fertilization patients. Relationship with hyperestrogenemia and activity of endogenous vasodilators. *J Clin Endocrinol Metabol* 83: 1489-1493, 1998.
- [131] Mariassy AT, Wheeldon EB. The pleura: a combined light microscopic, scanning and transmission electron microscopic study in the sheep. 1. Normal pleura. *Exp Lung Res* 4: 293-313, 1983.
- [132] Mc Laughlin RF, Tyler WS, Canada RO. A study of the subgross pulmonary anatomy of various mammals. *Am J Anat* 108: 149-159, 1961.

- [133] Medina P, Segarra G, Vila JM, Chuan P, Domenech C, Lluch S. V<sub>2</sub> receptor-mediated relaxation of human renal arteries in response to desmopressin. *Am J Hypertens* 12: 188-93, 1999.
- [134] Mehta S, Boundreau J, Lilly CM, Drazen JM. Endogenous pulmonary nitric oxide in regulation of airway microvascular leak. *Am J Physiol* 275: L968-L998, 1998.
- [135] Michea L, Delpiano AM, Hitschfeld C, Lobos L, Lavandero S, Marusic ET. Eplerenone blocks nongenomic effects of aldosterone on the Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger, intracellular Ca<sup>+2</sup> levels, and vasoconstriction in mesenteric resistance vessels. *Endocrinology* 146: 973-980, 2005.
- [136] Michel CC. The transport of albumin: a critique of the vesicular system in transendothelial transport. *Am Rev Respir Dis* 146: S32-S36, 1992.
- [137] Michel CC, Curry FE. Microvascular permeability. *Physiol Rev* 79:703-761, 1999.
- [138] Milde H, Weber WM, Salzet M, Clauss W. Regulation of Na<sup>+</sup> transport across leech skin by peptide hormones and neurotransmitters. *J Experimental Biol* 204: 1509-1517, 2001.
- [139] Miserocchi G, Agostoni E. Contents of the pleural space. *J Appl Physiol* 30: 208-213, 1971.
- [140] Miserocchi G, Negrini D. Pleural space: pressure and fluid dynamics. *The Lung: Scientific Foundations*: 1217-1225, 1997.
- [141] Moncada S, Palmer RMG, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 43: 109-142, 1991.

- [142] Muto S, Asano Y, Wang W, Seldin D, Giebisch G. Activity of the basolateral  $K^+$  channels is coupled to the  $Na^+-K^+$ -ATPase in the cortical collecting duct. *Am J Physiol Renal Physiol* 285: F945-954, 2003.
- [143] Nagel W. Effects of antidiuretic hormone upon Electrical Potential and Resistance of Apical and Basolateral Membranes of Frog Skin. *J. Membrane Biol* 42: 99-122, 1978.
- [144] Nathanson MH, Gautam A, Cheng NG OI, Bruck R, Boyer JL. Hormonal regulation of paracellular permeability in isolated rat hepatocyte couplets. *Am J Physiol* 262 Gastrointest Liver Physiol 25: G1079-G1086, 1992.
- [145] Negrini D, Pistolesi M, Miniati M, Bellina CR, Giuntini C, Miserocchi G. Regional protein absorption rate from the pleural cavity in dogs. *J Appl Physiol* 58: 2062-2067, 1985.
- [146] Negrini D, Mukenge S, Del Fabbro M, Gonano C, Miserocchi G. Distribution of lymphatic stomata. *J Appl Physiol* 70: 1544-1549, 1991.
- [147] Negrini D, Del Fabbro M, Venturoli D. Fluid exchanges across the parietal peritoneal and pleural mesothelia. *J Appl Physiol* 74: 1779-1784, 1993.
- [148] Negrini D, Ballard ST, Benoit JN. Contribution of lymphatic myogenic activity and respiratory movements to pleural lymph flow. *J Appl Physiol* 76: 2267-2274, 1994.
- [149] Negrini D, Venturoli D, Townsley MI, Reed RK. Permeability of parietal pleura to liquid and proteins. *J Appl Physiol* 76: 627-633, 1994.

- [150] Negrini D. Integration of capillary, interstitial and lymphatic function in the pleural space. *Interstitial Connective Tissue and Lymphatics*: 283-299, 1995.
- [151] Noppen M, DeWaele M, Li R, et al. Volume and cellular content of normal pleural fluid in humans examined by pleural lavage. *Am J Respir Crit Care Med* 162: 1023-1026, 2000.
- [152] Okada K, Caramello C, Tsai P, Schrier RW. Effect of inhibition of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-adenosine triphosphatase on vascular action of vasopressin. *J Clin Invest* 86: 1241-1248, 1990.
- [153] Okada K, Ishikawa S, Saito T. Enhancement of intracellular sodium by vasopressin in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 22: 300-305, 1993.
- [154] Osore H, Gilbert J. The action of aldosterone and ouabain on cation concentrations in incubated renal slices. *Bioch Pharmacol* 31: 2571-2574, 1982.
- [155] Palmer LG, Speez N. Stimulation of apical Na permeability and basolateral Na pump of toad urinary bladder by aldosterone. *American Physiological Society*: F273-F281, 1986.
- [156] Palmer LG. Sodium transport by epithelial cells. *Molecular Biology of Membrane Transport Disorders* 22: 447-468, 1996.
- [157] Palmer RMG, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 327: 524-526, 1987.
- [158] Pappenheimer JR, Renkin EM, Borrero LM. Filtration, diffusion and molecular sieving through peripheral capillary membranes. A

contribution to the pore theory of capillary permeability. *Am J Physiol* 167: 13-46, 1951.

[159] Παραδέλλης Α.Γ. Διουρητικά φάρμακα §10.3.4. Σπειρονολακτόνη. *Κλινική Φαρμακολογία*: 339-340, 1992.

[160] Payne DK, Kinasewitz GT, Gonzalez E. Comparative permeability of canine visceral and parietal pleura. *J Appl Physiol* 65: 2558-2564, 1988.

[161] Peng MJ, Wang NS, Vargas FS, Light RW. Subclinical surface alterations of human pleura. A scanning electron microscopic study. *Chest* 106: 351-353, 1994.

[162] Perazella MA and Setaro JF. Renin-angiotensin-aldosterone system: fundamental aspects and clinical implications in renal and cardiovascular disorders. *J Nucl Cardiol* 10: 184-196, 2003.

[163] Petty BG. Pleural masses and the syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone. *Am Rev Respir Dis* 118: 627-628, 1978.

[164] Policard A, Galy P. *La Plevre*, 1942.

[165] Rad AK, Balment RJ, Ashton N. Rapid natriuretic action of aldosterone in the rat. *J Appl Physiol* 98: 423-428, 2005.

[166] Renkin EM. Filtration, diffusion, and molecular sieving through porous cellulose membranes. *J Gen Physiol* 38: 225-243, 1954.

[167] Renkin EM. Multiple pathways of capillary permeability. *Circ Res* 41: 735-743, 1977.

- [168] Resnik E, Bender D. Syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion in papillary serous surface carcinoma of the peritoneum. *J Surg Oncol* 61: 63-65, 1996.
- [169] Rubanyi GM, Romero JC, Vanhoutte PM. Flow-induced release of endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol* 250: H1145-H1149, 1986.
- [170] Sahn SA, Willcox ML, Good JT Jr, Potts DE, Filley GF. Characteristics of normal rabbit pleural fluid: physiologic and biochemical implications. *Lung* 156: 63-69, 1979.
- [171] Sahn SA. The pleura. *Am Rev Respir Dis* 138: 184-234, 1988.
- [172] Sakai RR, McEwen BS, Fluharty SJ, Ma LY. The amygdala: Site of genomic and nongenomic arousal of aldosterone-induced sodium intake. *Kidney International* 57: 1337-1345, 2000.
- [173] Schmidt BMW, Gerdes D, Feuring M, Falkenstein E, Christ M, Wehling M. Rapid, nongenomic steroid actions: A new age?. *Frontiers in Neuroendocrinol* 21: 57-94, 2000.
- [174] Setnikar I, Taglietti A, Agostoni E. La cinetica del liquido pleurico studiata per mezza di albumina marcata con <sup>131</sup>I. *Boll Soc Ital Biol Sper* 33: 1650-1652, 1957.
- [175] Shibagaki T, Hasegawa Y, Saito H, Shimokata K. Adenosine deaminase isozymes in tuberculous pleural effusion. *J Lab Clin Med* 127: 348-352, 1996.
- [176] Shinohara H. Distribution of lymphatic stomata on the pleural surface of the thoracic cavity and surface topography of the pleural mesothelium in the golden hamster. *Anat Rec* 249: 16-23, 1997.

- [177] Solis-Herruzo JA, Moreno D, Gonzalez A, Larrodera L, Castellano G, Gutierrez J, Gozalo A. Effect of intrathoracic pressure on plasma arginine vasopressin levels. *Gastroenterology* 101: 607-617, 1991.
- [178] Somova LV, Bagrov I. Characteristics of sodium and water elimination in chronic cardiac insufficiency. *Kardiologiya* 16: 58-63, 1976.
- [179] Speels KR. Comparative studies in lung mechanics based on a survey of literature data. *Respir Physiol* 8: 37-57, 1969.
- [180] Sperelakis N. Origin of resting membrane potentials. *Cell Physiology Source Book* 6: 67-90, 1995.
- [181] Stahl WR. Scaling of respiratory variables in mammals. *J Appl Physiol* 22: 453-460, 1967.
- [182] Starling EH. On the absorption of fluids from the connective tissue spaces. *J Physiol* 19: 312-326, 1896.
- [183] Staub NC, Wiener-Kronish JP, Albertine KH.. Transport through the pleura. *The Pleura in Health and Disease*: 169-193, 1985.
- [184] Takahasi N, Kawai Y, Ohhashi T. Effects of vasoconstrictive and vasodilative agents on lymphatic smooth muscles in isolated canine thoracic ducts. *J Pharmacol* 254: 165-170, 1990.
- [185] Thomas NW. Embryology and structure of the mesothelium. In: *Pathology of the Mesothelium*: 1-13, 1987.
- [186] Turner JM, Mead J, Wohl ME. Elasticity of human lungs in relation to age. *J Appl Physiol* 25: 664-671, 1988.

- [187] Twchugguel W, Zhegu Z, Gajdzik L, Maier M, Binder BR, Graf J. High precision measurement of electrical resistance across endothelial cell monolayers. *Pflugers Arch* 430: 145-147, 1995.
- [188] Uhrenholt TR, Schjerning J, Hansen PB, Norregaard R, Jensen BL, Sorensen GL, Scott O. Rapid inhibition of vasoconstriction in renal afferent arterioles by aldosterone. *Am Heart Assoc Inc Circulation Research* 93: 1258, 2003.
- [189] Uhrenholt TR, Schjerning J, Rasmussen LE, Hansen PB, Norregaard R, Jensen BL, Scott O. Rapid nongenomic effects of aldosterone on rodent vascular function. *Acta Physiol Scand* 181: 415-419, 2004.
- [190] Unno N, Menconi MJ, Smith M, Aguirre DE, Fink M. Hyperpermeability of intestinal epithelial monolayers is induced by NO: effect of low extracellular pH. *Am J Physiol* 272: G923-G934, 1997.
- [191] Urbach V, Van Kerkhove E, Maguire D, Harvey BJ. Cross-talk between ATP-regulated K<sup>+</sup> channels and Na<sup>+</sup> transport via cellular metabolism in frog skin principal cells. *J Physiol* 491: 99-109, 1996.
- [192] Urbach V, Van Kerkhove E, Maguire D, Harvey BJ. Rapid activation of KATP channels by aldosterone in principal cells of frog skin. *J Physiol* 491: 111-120, 1996.
- [193] Ussing HH, Zerahn K. Active transport of sodium as the source of electric current in short-circuit isolated frog skin. *Acta Phy Scandinav* 23: 110-127, 1951.



- [194] Vacher CM, Hardin-Pouzet H, Steinbusch HW, Calas A, De Vente J. The effects of nitric oxide on magnocellular neurons could involve multiple indirect cyclic GMP-dependent pathways. *Eur J Neurosci* 17: 455-466, 2003.
- [195] Veille JC, Li P, Eisenach JC, Massmann AG, Figueroa JP. Effects of estrogen on nitric oxide biosynthesis and vasorelaxant activity in sheep uterine and renal arteries in vitro. *Am J Obstet Gynecol* 174: 1043-1049, 1996.
- [196] Velazquez H, Wright FS. Control by drugs of renal potassium handling. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 26: 293-309, 1986.
- [197] Ventura RR, Gomes DA, Reis WL, Elias LL, Castro M, Valença MM, Carnio EC, Rettori V, McCann SM, Antunes-Rodriguez J. Nitrergic modulation of vasopressin, oxytocin and atrial natriuretic peptide secretion in response to sodium intake and hypertonic blood volume expansion. *Braz J Med Biol Res* 35: 1101-1109, 2002.
- [198] Wang NS. The regional difference of pleural mesothelial cells in rabbits. *Am Rev Respir Dis* 110: 623-633, 1974.
- [199] Wang N-S. The preformed stomas connecting the pleural cavity and the lymphatics in the parietal pleura. *Am Rev Respir Dis* 111: 12-20, 1975.
- [200] Wang N-S. Anatomy of the pleura. *Clin Chest Med* 19: 229-240, 1998.
- [201] Wehling M, Christ M, Theisen K. Membrane receptors for aldosterone: a novel pathway of mineralocorticoid action. *Am J Physiol* 263 Endocrinol Metab 26: E974-979, 1992.

- [202] Wehling M, Eisen C, Christ M. Aldosterone-specific membrane receptors and rapid non-genomic actions of mineralocorticoids. *Mol Cell Endocrinol* 90: C5-9, 1992.
- [203] Wehling M. Looking beyond the dogma of genomic steroid action: insights and facts of the 1990s. *J M Med* 73: 439-447, 1995.
- [204] Weinaker A. Pleural disease. *Pulmonary pathophysiology* 11: 239-267, 1999.
- [205] Whelan III JG, Vlachos NF. The ovarian hyperstimulation syndrome. *Am Soc Repr Med* 73(5): 883-896, 2000.
- [206] Wiener-Kronish JP, Albertine KH, Licko V, Staub NC. Protein egress and entry rates in pleural fluid and plasma in sheep. *J Appl Physiol* 56: 459-463, 1984.
- [207] Winter DC, Schneider MF, O'Sullivan GC, Harvey BJ, Geibel JP. Rapid effects of aldosterone on sodium-hydrogen exchange in isolated colonic crypts. *Membr Biol* 170: 17-26, 1999.
- [208] Zocchi L, Agostoni E, Cremaschi D. Electrolyte transport across the pleura of rabbits. *Respir Physiol* 86: 125-138, 1991.
- [209] Zocchi L, Raffaini A, Agostoni E, Cremaschi D. Diffusional permeability of rabbit mesothelium. *J Appl Physiol* 85: 471-477, 1985.
- [210] Zocchi L. Physiology and pathophysiology of pleural fluid turnover. *Eur Respir J* 20: 1545-1558, 2002.