

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ- ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ-
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΑΣΚΗΣΗ, ΕΡΓΟΣΠΙΡΟΜΕΤΡΙΑ ΚΑΙ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ»



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ
ΣΠΟΥΔΩΝ
ΑΣΚΗΣΗ, ΕΡΓΟΣΠΙΡΟΜΕΤΡΙΑ
ΚΑΙ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ



" ΤΑ ΙΣΟΕΝΖΥΜΑ LDH ΩΣ ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΗΝ
ΠΑΡΟΞΥΝΣΗ Χ.Α.Π. "

ΣΚΟΠΑΣ ΒΛΑΣΙΟΣ

ΙΑΤΡΟΣ ΠΝΕΥΜΟΝΟΛΟΓΟΣ-ΦΥΜΑΤΙΟΛΟΓΟΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΓΟΥΡΓΟΥΛΙΑΝΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ, Καθηγητής Πνευμονολογίας (Επιβλέπων Καθηγητής)

ΔΑΝΙΗΛ ΖΩΗ, Καθηγήτρια Πνευμονολογίας (Μέλος Τριμελούς Επιτροπής)

ΜΑΚΡΗΣ ΔΗΜΟΣΘΕΝΗΣ, Αν. Καθηγητής Εντατικής Θεραπείας (Μέλος Τριμελούς Επιτροπής)

Λάρισα, 2019



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ- ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ-
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ**

ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«ΑΣΚΗΣΗ, ΕΡΓΟΣΠΙΡΟΜΕΤΡΙΑ ΚΑΙ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ»



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ
ΣΠΟΥΔΩΝ
ΑΣΚΗΣΗ, ΕΡΓΟΣΠΙΡΟΜΕΤΡΙΑ ΚΑΙ
ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ**

**‘LDH ISOENZYMES AS BIOCHEMICAL MARKERS
OF COPD EXACERBATION’**

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΣΕΛΙΔΑ ΤΙΤΛΟΥ	1
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	2
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ	3
ΑΓΓΛΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ	4
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	5
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
ΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ Χ.Α.Π. ΚΑΙ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ.....	8
ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ Χ.Α.Π.....	8
ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ Χ.Α.Π.....	9
mMRC (Modified Medical Research Council) DYSPNEA SCALE.....	9
CAT test (COPD assessment test)	10
ΠΑΡΟΞΥΝΣΕΙΣ Χ.Α.Π – ΟΡΙΣΜΟΣ.....	10
ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΠΑΡΟΞΥΝΣΕΩΝ Χ.Α.Π.....	11
ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΠΑΡΟΞΥΝΣΕΩΝ Χ.Α.Π.....	12
ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ Χ.Α.Π.– ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ.....	14
LDH – ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ.....	22
ΙΣΟΕΝΖΥΜΑ LDH – ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΣΥΣΤΑΣΗ.....	23
Ο ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΙΣΟΕΝΖΥΜΩΝ LDH.....	25
LDH ΚΑΙ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ	25
ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ.....	26
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
ΣΚΟΠΟΣ	31
ΥΛΙΚΟ και ΜΕΘΟΔΟΣ	32
ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑΚΟ ΕΝΤΥΠΟ.....	32
ΣΥΝΟΣΗΡΟΤΗΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟ ΙΣΟΜΟΡΦΙΚΟ PATTERN ΤΩΝ ΙΣΟΕΝΖΥΜΩΝ LDH	34
ΣΥΛΛΟΓΗ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ.....	35
ΤΕΧΝΙΚΗ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗΣ ΙΣΟΕΝΖΥΜΩΝ LDH.....	35
ΚΥΨΕΛΙΔΟΑΡΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΦΟΡΑ ΟΞΥΓΟΝΟΥ ΚΑΙ pO_2/FiO_2	37
ΒΑΘΜΟΙ Χ.Α.Π. (Στάδια κατά GOLD).....	37
GROUP Χ.Α.Π. (Κατά GOLD).....	37
ΧΡΟΝΙΚΟΣ ΚΑΙ ΤΟΠΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ – ΑΠΟΚΛΕΙΣΜΟΣ ΑΣΘΕΝΩΝ.....	38
ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	38
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	39
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	51
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	55
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	57
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ	61

" ΤΑ ΙΣΟΕΝΖΥΜΑ LDH ΩΣ ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΣΤΗΝ ΠΑΡΟΞΥΝΣΗ Χ.Α.Π. "

ΕΙΣΑΓΩΓΗ: Η λειτουργία και ο βιοχημικός ρόλος της LDH και των ισοενζύμων της, θα μπορούσε να σχετίζεται με διαδικασίες που χαρακτηρίζουν τη Χ.Α.Π., όπως η χρόνια και η οξεία φλεγμονή που συνοδεύει τις παροξύνσεις της, και μεταβολές στη διαδικασία του αερόβιου και αναερόβιου μεταβολισμού.

ΣΚΟΠΟΣ: Η αξιολόγηση διαφορών στην LDH και τα ισοένζυμά της μεταξύ ασθενών που νοσηλεύονται με παρόξυνση Χ.Α.Π. (ασθενείς) και λοίμωξη κατώτερου αναπνευστικού (μάρτυρες).

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ: Διενεργήθηκε συγκριτική συγχρονική μελέτη νοσηλευόμενων ασθενών σε πνευμονολογικό τμήμα τριτοβάθμιου νοσοκομείου. Καταγράφηκαν δημογραφικά στοιχεία, συνοσηρότητες, καπνιστικές συνήθειες, ενώ οι ασθενείς κατηγοριοποιήθηκαν βάσει των επιπέδων δύσπνοιας και του ιστορικού παροξύνσεων. Ελήφθησαν αέρια αρτηριακού αίματος, μετρήθηκαν δείκτες φλεγμονής, καρδιακά και μυικά ένζυμα, και πραγματοποιήθηκε ηλεκτροφόρηση LDH ορού για εξέταση των ισοενζύμων. Συγκρίθηκαν οι λόγοι των ισοενζύμων προς την ολική LDH μεταξύ των ομάδων, μετά από προσαρμογή για συγχυτικούς παράγοντες και διενεργήθηκε ανάλυση ROC καμπυλών για να προσδιοριστούν οι λόγοι ισοενζύμων με την υψηλότερη ευαισθησία και ειδικότητα για διάκριση των ομάδων.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: Εντάχθηκαν 42 ασθενείς και 32 μάρτυρες. Οι ασθενείς ήταν κυρίως άντρες, είχαν περισσότερα πακέτα/έτη καπνίσματος, χαμηλότερο λόγο pO_2/FiO_2 , χαμηλότερα επίπεδα CRP και CPK, υψηλότερους λόγους LDH1 και LDH2 και χαμηλότερους λόγους LDH3 και LDH4 από τους μάρτυρες. Στο πλήρως προσαρμοσμένο μοντέλο, οι μέσες διαφορές και τα αντίστοιχα 95% διαστήματα αξιοπιστίας στους λόγους ισοενζύμων LDH μεταξύ των ομάδων ήταν στατιστικά σημαντικές για τις LDH1 [5,35 (2,21 έως 8,50)], LDH2 [2,76 (0,11 έως 5,40)], LDH3 [-4,45 (-6,27 έως -2,63)] και LDH4 [-2,54 (-4,18 έως -0,90)]. Το άθροισμα των λόγων LDH3 και LDH4 είχε την υψηλότερη ικανότητα διάκρισης των ασθενών με παρόξυνση Χ.Α.Π. σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (AUC 0.853, $p < 0.001$), με ευαισθησία 78.1% και ειδικότητα 83.3% για τιμή λόγου $LDH3+LDH4/LDH < 0.2912$ (29.12%).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ: Οι λόγοι των ισοενζύμων LDH3 και LDH4 αναγνωρίστηκαν ως δείκτες υψηλής ευαισθησίας και ειδικότητας, για το διαχωρισμό μεταξύ παροξύνσεων Χ.Α.Π. και λοιμώξεων κατώτερου αναπνευστικού χωρίς αποφρακτική νόσο.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: Παρόξυνση Χ.Α.Π., Λοίμωξη αναπνευστικού, Ισοένζυμα LDH, Βιοχημικοί δείκτες

‘LDH ISOENZYMES AS BIOCHEMICAL MARKERS OF COPD EXACERBATION’

INTRODUCTION: The function and the biochemical role of LDH and its isoenzymes, could be related with characteristic COPD processes, such as chronic but also acute inflammation through exacerbations, and changes to the aerobic and anaerobic metabolism processes.

OBJECTIVE: To evaluate differences in LDH and its isoenzymes, between patients hospitalized for COPD exacerbation (cases) and lower respiratory tract infection (controls).

METHODOLOGY: A comparative cross-sectional study of inpatients in a pulmonary department of a tertiary hospital was conducted. They were interviewed about demographics, comorbidities, and smoking habits and cases were further classified based on dyspnea levels and exacerbation history. Arterial blood gases were obtained, a set of inflammatory markers, cardiac and muscle enzymes were measured, and serum LDH electrophoresis was performed to examine the LDH isoenzymes. Analysis of covariance was used to compare the isoenzyme ratios of groups after adjustment for covariates and ROC curve analysis to identify the ratios with the higher sensitivity and specificity to distinguish between groups.

RESULTS: 42 cases and 32 controls were enrolled. Cases were predominantly men, had more pack/years of smoking, lower pO₂/FiO₂ ratio, lower CRP and CPK levels, higher LDH1 and LDH2 ratios, and lower LDH3 and LDH4 ratios than controls. In the fully adjusted model, the mean differences and corresponding 95% CIs in the LDH isoenzyme ratios between groups were statistically significant for LDH1 [5.35 (2.21 to 8.50)], LDH2 [2.76 (0.11 to 5.40)], LDH3 [-4.45 (-6.27 to -2.63)], and LDH4 [-2.54 (-4.18 to -0.90)]. The sum of LDH3 and LDH4 ratios had the highest discriminative ability to classify a subject in the COPD exacerbation group (AUC 0.853, p<0.001), with sensitivity of 78.1% and specificity of 83.3% for a cut-off value below <0.2912 29.12%.

CONCLUSIONS: LDH3 and LDH4 ratios were identified as high sensitivity and specificity markers for discrimination between COPD exacerbations and lower respiratory tract infections.

KEYWORDS: COPD exacerbation, Lower respiratory tract infection, LDH isoenzymes, Biochemical markers

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (Χ.Α.Π.) είναι μία νόσος του αναπνευστικού η οποία καθορίζεται από μόνιμη απόφραξη των αεραγωγών και συνοδό χρόνια συμπτωματολογία εκ του αναπνευστικού όπως δύσπνοια, βήχα, απόχρεμψη, η οποία επιδεινώνεται κατά τη διάρκεια των παροξύνσεων της νόσου που συμβαίνουν συνήθως σε έδαφος λοιμώξεων εκ του αναπνευστικού. Παθοφυσιολογικές και ανατομικές αλλοιώσεις παρατηρούνται στους αεραγωγούς, στο πνευμονικό παρέγχυμα και στην πνευμονική κυκλοφορία, λόγω χρόνιας φλεγμονής και δομικών αλλαγών που συμβαίνουν έπειτα από μία επαναλαμβανόμενη διαδικασία τραυματισμού και επιδότησης του πνευμονικού παρεγγύματος και των αναπνευστικών οδών[1].

Έτσι η Χ.Α.Π. χαρακτηρίζεται από αύξηση των μακροφάγων στις αναπνευστικές οδούς, στο πνευμονικό παρέγχυμα και στις πνευμονικές φλέβες, με συνοδό αύξηση του αριθμού και της δραστηριότητας των ουδετερόφιλων, λεμφοκυττάρων και σε ορισμένες περιπτώσεις και των ηωσινοφίλων όταν υπάρχει συνδυασμός Χ.Α.Π. με άσθμα. Η χρόνια διαδικασία της φλεγμονής προκαλεί ανισορροπία στο σύστημα πρωτεάσης-αντιπρωτεάσης σε βάρος της δεύτερης. Συνεπώς παρατηρείται μέσα από τη μείωση της δραστηριότητας των αντιπρωτεασών (οι οποίες αδρανοποιούν τις πρωτεάσες), αύξηση της δραστηριότητας των πρωτεασών οι οποίες καταστρέφουν την ελαστίνη και προκαλούν σημαντική μείωση της ελαστικότητας του πνεύμονα. Αποτέλεσμα αυτών των παθοφυσιολογικών μεταβολών είναι η μειωμένη λειτουργικότητα των πνευμόνων η οποία χαρακτηρίζεται από χρόνια απόφραξη των αεραγωγών. Συνοδεύεται από διαταραχές αερισμού-αιμάτωσης, διαταραχές στην ανταλλαγή των αερίων που οδηγούν σε οξειδωτικό stress, και σε μεταβολές στον αερόβιο και αναερόβιο μεταβολισμό του αθενούς, επηρεάζοντας και τη λειτουργία οργάνων όπως η καρδιά και οι σκελετικοί μύες, που αποτελούνται κατά κύριο λόγο από μυϊκό ιστό, και στηρίζονται στην αερόβια και ανερόβια λειτουργία[1,2].

Ρυθμιστής του αναερόβιου και του αερόβιου μεταβολισμού είναι η αμφίδρομη αντίδραση της μετατροπής του γαλακτικού οξέως σε πυρουβικό, αποτελώντας το τελευταίο στάδιο της αναερόβιας γλυκόλυσης. Η γαλακτική αφυδρογονάση (LDH) δρα ως καταλύτης αυτής της αντίδρασης μέσω των ισοενζύμων της. Άλλα ισοένζυμα LDH προωθούν την μετατροπή του πυρουβικού οξέως σε γαλακτικό προωθώντας την αναερόβια γλυκόλυση, και άλλα ισοένζυμα LDH την μετατροπή του γαλακτικού οξέως σε πυρουβικό προωθώντας έτσι τον αερόβιο μεταβολισμό. Συνεπώς η LDH και τα ισοένζυμα της παίζουν σημαντικό ρόλο στην αερόβια και ανερόβια λειτουργία, ρυθμίζοντας την επικράτηση της μιας ή της άλλης μεταβολικής οδού ανάλογα με τις ανάγκες του οργανισμού οι οποίες επηρεάζονται από διάφορους παράγοντες και κυρίως από διάφορες ασθένειες και την άσκηση[3].

Η LDH επιπρόσθετα αποτελεί δείκτη κυτταρικού θανάτου και κυτταρικής βλάβης, μέσω της μέτρησης των συγκεντρώσεών της στον ορό του αίματος, και οφείλεται στις υψηλές ποσότητες του ενζύμου στα κύτταρα των ζωτικότερων οργάνων του οργανισμού. Απελευθέρωση της LDH στον ορό και κατά συνέπεια αύξηση των τιμών προκαλείται έπειτα από διαταραχή ή και καταστροφή της διαπερατότητας των κυτταρικών μεμβρανών που είναι αποτέλεσμα κυτταρικού θανάτου ή κυτταρικής βλάβης. Μπορεί να προκληθεί από διάφορες παθολογικές καταστάσεις και φλεγμονώδεις διαδικασίες όπως ισχαιμία, τραυματισμός, έκθεση σε βακτηριακές τοξίνες, φάρμακα, χημικές τοξίνες, πολύ υψηλή ή χαμηλή θερμοότητα, ασητία και αφυδάτωση[4].

Μάλιστα πρόσφατη μεγάλη μετα-ανάλυση σε συνολικό δείγμα 3753 ασθενών αποδεικνύει τη συσχέτιση της LDH με σοβαρή φλεγμονή και λειτουργική διαταραχή εκ των πνευμόνων. Η τιμή της LDH στον ορό προκύπτει να έχει υψηλή θετική συσχέτιση με την πιθανότητα εκδήλωσης συδρόμου αναπνευστικής δυσχέρειας των ενηλίκων (acute respiratory distress syndrome – ARDS) σε ασθενείς με ρίσκο για εκδήλωση της νόσου[5]. Μία νόσος που χαρακτηρίζεται από σοβαρή υποξαιμική αναπνευστική ανεπάρκεια και από οξεία και έντονη φλεγμονή της κυψελιδοτριχοειδικής μεμβράνης, με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενδοκυψελιδικού οιδήματος[6]. Σε άλλη μελέτη μεταξύ μεταξύ 58 υγιών ατόμων και 29 ατόμων με Χ.Α.Π. αναδεικνύονται αυξημένες τιμές LDH στον ορό στην δεύτερη ομάδα σε σχέση με την πρώτη[2], ενώ σε μελέτη 45 ασθενών με Χ.Α.Π. προέκυψε μέση θετική συσχέτιση ενός δείκτη φλεγμονής, της c –αντιδρώσας πρωτεΐνης με το ισοένζυμο LDH3[7]. Σε μελέτη 178 ατόμων με Χ.Α.Π., ασθενείς με φυσιολογικές τιμές LDH στον ορό, είχαν σημαντικά λιγότερη δύσπνοια και υψηλότερο βαθμό ικανότητας για άσκηση σε σχέση με τους ασθενείς με υψηλότερες τιμές LDH[8], ενώ από τη μέτρηση της LDH από βιοψίες του τετρακέφαλου μυ σε ασθενείς με Χ.Α.Π. και υγιείς μη καπνιστές, σε υποομάδα της Χ.Α.Π. παρατηρήθηκαν αυξημένες τιμές ισοενζύμων LDH1, LDH2, LDH3 και μειωμένες τιμές LDH5 σε σχέση με τον υπόλοιπο πλυθησμό[9].

Συνεπώς, η λειτουργία και ο βιοχημικός ρόλος της LDH και των ισοενζύμων της, θα μπορούσε να σχετίζεται με διαδικασίες που χαρακτηρίζουν τη Χ.Α.Π., όπως η χρόνια φλεγμονή αλλά και η οξεία φλεγμονή που συνοδεύει τις παροξύνσεις της, η επαναλαμβανόμενη διαδικασία τραυματισμού και επιδιόρθωσης του πνευμονικού παρεγχύματος και κατά συνέπεια των πνευμονικών κυττάρων, αλλά και οι μεταβολές στη διαδικασία του αερόβιου και του αναερόβιου μεταβολισμού ως συνέπεια του οξειδωτικού stress, των διαταραχών αερισμού αιμάτωσης και της χρόνιας απόφραξης των αεραγωγών που καθορίζουν την νόσο.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ Χ.Α.Π. ΚΑΙ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (Χ.Α.Π.) είναι γνωστό ότι αποτελεί μία από τις σημαντικότερες νόσους του αναπνευστικού συστήματος από κλινικής και επιδημιολογικής άποψης. Χαρακτηρίζεται από μόνιμη συμπτωματολογία εκ του αναπνευστικού και περιορισμό των εκπνευστικών ροών, εξαιτίας αλλοιώσεων των αναπνευστικών οδών και των κυψελίδων έπειτα από σημαντική και χρόνια έκθεση σε επιβλαβείς ουσίες και αέρια (κυρίως το κάπνισμα και δευτερευόντως η καύση βιομάζας). Ανήκει στις ασθένειες με τα μεγαλύτερα ποσοστά νοσηρότητας και θνητότητας στον παγκόσμιο πληθυσμό, έχοντας σταδιακά όλο και σοβαρότερες αρνητικές επιπτώσεις σε κοινωνικό και οικονομικό επίπεδο. Εκτιμάται ότι ο αριθμός των ασθενών με Χ.Α.Π. παγκοσμίως το 2010 ανερχόταν σε 384 εκατομμύρια με επιπολασμό 11.7% στον συνολικό πληθυσμό, και περίπου 3 εκατομμύρια θανάτους λόγω της νόσου ετησίως, με πρόβλεψη να ξεπεράσει τους 4.5 εκατομμύρια θανάτους κάθε χρόνο μέχρι το 2030. Το 2010 ήταν η τρίτη αιτία θανάτου στις Η.Π.Α. Πρόκειται για μία νόσο που δημιουργεί σοβαρό οικονομικό κόστος καλύπτοντας περίπου το 3% των δαπανών της δημόσιας υγείας και το 56% των δαπανών για τις ασθένειες από το αναπνευστικό στην Ευρωπαϊκή Ένωση, με συνολικό κόστος 38.6 δισεκατομμύρια ευρώ, ενώ στις Η.Π.Α. το άμεσο κόστος για τη Χ.Α.Π. ανέρχεται στα 32 δισεκατομμύρια δολάρια και το έμμεσο στα 20.4 δισεκατομμύρια δολάρια. Το κοινωνικό κόστος είναι και αυτό πολύ σημαντικό αφού όλο και περισσότερο με το πέρασμα του χρόνου, η Χ.Α.Π. αποτελεί αιτία αναπηρίας και θνησιμότητας, καταλαμβάνοντας την όγδοη θέση μεταξύ όλων των ασθενειών το 2005, και φθάνοντας την πέμπτη θέση το 2013 παγκοσμίως, ενώ στις Η.Π.Α. καταλαμβάνει την δεύτερη θέση πίσω από την ισχαιμική καρδιοπάθεια. Η νοσηρότητα της νόσου περιλαμβάνει απλές ιατρικές επισκέψεις, επισκέψεις στα τμήματα επειγόντων περιστατικών (Τ.Ε.Π.) και νοσηλείες, ενώ έχει άμεση θετική συσχέτιση με την ηλικία και με το κάπνισμα ένα στοιχείο πολύ σημαντικό και για τα αποτελέσματα της μελέτης που παρουσιάζονται στην συγκεκριμένη εργασία. Η νοσηρότητα της Χ.Α.Π. όμως μπορεί να επηρεαστεί σε συνδυασμό και με άλλες συνοσηρότητες -όπως καρδοαγγειακές, μυοσκελετικές, σακχαρώδη διαβήτη- οι οποίες έχουν επίσης θετική συσχέτιση με το κάπνισμα και την ηλικία. Συνοσηρότητες οι οποίες μπορούν να επιβαρύνουν σημαντικά το status των ασθενών αλλά και να επηρεάσουν την θεραπευτική προσέγγιση για την αντιμετώπιση της Χ.Α.Π.[1]

ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ Χ.Α.Π.

Η διάγνωση της Χ.Α.Π. γίνεται με βάση τη σπιρομέτρηση και τη μέτρηση των εκπνευστικών ροών σε συνδυασμό με τη κλινική συμπτωματολογία και το ιστορικό χρόνιας έκθεσης σε επιβαρυντικούς παράγοντες με κύριο την καπνιστική συνήθεια. Γίνεται μέτρηση του βιαίως εκπνεόμενου όγκου στο πρώτο δευτερόλεπτο (forced expiratory volume in 1 sec ή FEV₁) και του ολικά βιαίου εκπνεόμενου όγκου (forced vital capacity ή FVC). Ένας λόγος FEV₁/FVC<70%, (με

πτώση της FEV₁ σε σχέση με την FVC), μετά βρογχοδιαστολής επιβεβαιώνει χρόνια απόφραξη αεραγωγών, που σε συνδυασμό με χρόνια συμπτωματολογία (βήχας με απόχρεμψη, δύσπνοια στην κόπωση) και χρόνια έκθεση σε επιβαρυντικούς παράγοντες (κάπνισμα, καύση βιομάζας) οδηγεί στη διάγνωση Χ.Α.Π.[1]

ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ Χ.Α.Π.

Η Χ.Α.Π. χαρακτηρίζεται από ποικιλία συμπτωμάτων με τη χρόνια και σταδιακά επιδεινούμενη δύσπνοια να αποτελεί το κυριότερο από αυτά. Οι ασθενείς εκφράζουν τη συμπτωματολογία της δύσπνοιας ως αίσθημα αυξημένης αναπνευστικής προσπάθειας, λαχάνιασμα, αίσθημα βάρους στο στήθος, ή αίσθημα έλλειψης αέρα- οξυγόνου. Ο χρόνιος βήχας είναι συχνά το πρωτοεμφανιζόμενο σύμπτωμα το οποίο πολλές φορές μπορεί να υποεκτιμηθεί από τον ασθενή αποδιδόμενο στην καπνιστική συνήθεια. Μπορεί να είναι παραγωγικός ή μη, ενώ αρχικά μπορεί να είναι διαλειπόμενος και σταδιακά να μετατραπεί σε συνεχή. Οι ασθενείς με Χ.Α.Π. παρουσιάζουν επίσης αυξημένη απόχρεμψη η οποία μεταβάλλεται με τις εποχιακές αλλαγές (συνήθως αυξημένη τους χειμερινούς μήνες), ενώ επίσης παρουσιάζουν σφίξιμο στο στήθος και συρίττουσα αναπνοή, συμπτώματα που μπορούν να μεταβληθούν ακόμα και στο διάστημα μίας ημέρας. Τέλος στη σοβαρή και πολύ σοβαρή Χ.Α.Π. ο ασθενής μπορεί να είναι ανορεξικός με απώλεια βάρους, με έντονη κόπωση και μυϊκή αδυναμία, ενώ επίσης μπορεί να παρουσιάσει αγχώδεις διαταραχές, κατάθλιψη και επιπλοκές από το καρδιαγγειακό όπως πνευμονική καρδιά[1,2].

mMRC (Modified Medical Research Council) DYSPNEA SCALE

Η δύσπνοια όπως προαναφέρθηκε είναι το θεμελιώδες σύμπτωμα της Χ.Α.Π. και η κυριότερη αιτία αναπηρίας και αγχωδών διαταραχών σε αυτούς τους ασθενείς. Είναι μόνιμη και συνεχώς επιδεινούμενη με το πέρασμα του χρόνου, ενώ επιδεινώνεται και κατά τη διάρκεια της άσκησης. Μάλιστα ο βαθμός δύσπνοιας θα μπορούσε να μετρηθεί με το mMRC (Modified Medical Research Council) dyspnea scale που αποτελεί και ένα δείκτη βαρύτητας της ολικής συμπτωματολογίας σε ασθενείς με Χ.Α.Π. Είναι ένας δείκτης που περιλαμβάνει και το υποκειμενικό στοιχείο αφού βασίζεται και σε ερωτήσεις στις οποίες απαντάει το προς εξέταση άτομο. Η τιμή του κυμαίνεται από 0 (έλλειψη παθολογικής δύσπνοιας) έως 4 (η πλέον σοβαρή παθολογική δύσπνοια) με τα εξής χαρακτηριστικά για την κάθε τιμή:

0 - Δύσπνοια μόνο κατά τη διάρκεια έντονης άσκησης

1 - Δύσπνοια στο βιαστικό περπάτημα ή ανεβαίνοντας με τα σκαλιά δύο ορόφους ή περπατώντας σε έδαφος με ελαφρά κλίση.

2 - Πιο αργό περπάτημα λόγω δύσπνοιας σε σχέση με άλλα άτομα της ίδιας ηλικίας ή στάσεις κατά τη διάρκεια του καθημερινού περπατήματος.

3 - Στάση λόγω δύσπνοιας μετά από περπάτημα 91 γιάρδες (100 μέτρων) ή στάση μετά από λίγα λεπτά κατά τη διάρκεια περπατήματος σε επίπεδο έδαφος.

4 – Δύσπνοια που δεν επιτρέπει την έξοδο από την οικία του ασθενή, ή και που τον εμποδίζει να κάνει ακόμα και απλές καθημερινές δραστηριότητες όπως για παράδειγμα το να ντυθεί[10].

CAT test (COPD assessment test)

Η αξιολόγηση της συμπτωματολογίας σε έναν ασθενή με Χ.Α.Π. μπορεί να γίνει (εκτός από τη μέτρηση της δύσπνοιας με βάση την κλίμακα mMRC), και με βάση το CAT test (COPD assessment test). Πρόκειται για ένα τεστ αξιολόγησης για τη Χ.Α.Π. που αποτελείται από ένα ερωτηματολόγιο 8 ερωτήσεων στο οποίο καλείται να απαντήσει ο ασθενής, συνεπώς και αυτή η μέθοδος περιλαμβάνει το υποκειμενικό στοιχείο. Κάθε απάντηση βαθμολογείται από 1 (χωρίς συμπτωματολογία) έως 5 (χαρακτηρίζει την πλέον σοβαρή συμπτωματολογία) και οι ερωτήσεις αφορούν μία ποικιλία συμπτωμάτων που χαρακτηρίζει έναν ασθενή με Χ.Α.Π. και συγκεκριμένα η συχνότητα του βήχα, η αίσθηση παρουσίας βλέννης στο στήθος, το λαχάνιασμα σε περπάτημα σε ανηφόρα ή ανεβαίνοντας τις σκάλες ενός ορόφου, πιθανός περιορισμός στην πραγματοποίηση οποιασδήποτε δραστηριότητας στο σπίτι, αίσθηση αυτοπεποίθησης κατά την έξοδο από το σπίτι, ο βαθμός ηρεμίας κατά τη διάρκεια του ύπνου σε σχέση με την πνευμονική πάθηση της Χ.Α.Π. και τέλος ο βαθμός ενέργειας που αισθάνεται ότι έχει ο ασθενής κατά τη διάρκεια της ημέρας. Έτσι το άθροισμα της βαθμολογίας με βάση τις απαντήσεις στις ανωτέρω ερωτήσεις κυμαίνεται από 0 που χαρακτηρίζεται από την πλήρη έλλειψη συμπτωμάτων (υγιής εξεταζόμενος), έως 40 που χαρακτηρίζει έναν ασθενή με την σοβαρότερη δυνατή συμπτωματολογία. CAT score πάνω από 30 και πάνω από 20 αναδεικνύει αντίστοιχα πολύ υψηλή και υψηλή επίπτωση της Χ.Α.Π. στην υγεία των ασθενών με τη νόσο. Σκορ από 10 έως 20 αντιστοιχεί σε μέση επίπτωση και από 5 έως 10 σε χαμηλή επίπτωση της Χ.Α.Π. στην υγεία των ασθενών. Σκορ έως 5 αντιστοιχεί σε άτομα υγιή και μη καπνιστές [11].

ΠΑΡΟΞΥΝΣΕΙΣ Χ.Α.Π - ΟΡΙΣΜΟΣ

Η νόσος της Χ.Α.Π. χαρακτηρίζεται σε κάθε ασθενή από περιόδους σταθερής κατάστασης (stable disease) και από περιόδους παροξύνσεων (COPD exacerbations). Οι παροξύνσεις Χ.Α.Π. συνοδεύονται από επιδείνωση της γενικής συμπτωματολογίας εκ του αναπνευστικού. Σύμφωνα με τα κριτήρια του Anthonisen et al οι παροξύνσεις Χ.Α.Π. διαβαθμίζονται σε σοβαρές (τύπου I), μέτριες (τύπου II) και ήπιες (τύπου III)[12]. Στις σοβαρές ο ασθενής παρουσιάζει επιδείνωση τριών κύριων

συμπτωμάτων εκ του αναπνευστικού και αυτά είναι η δύσπνοια, η αύξηση των βρογχικών εκκρίσεων, και η πυώδης απόχρεμψη. Στις μέτριες παροξύνσεις παρουσιάζεται επιδείνωση στα 2 από τα 3 προαναφερόμενα συμπτώματα, ενώ στις ήπιες παρουσιάζεται επιδείνωση στο 1 από τα 3 προαναφερόμενα συμπτώματα που συνοδεύεται από βήχα, συρίττουσα αναπνοή ή συμπτωματολογία από το ανώτερο αναπνευστικό[13]. Με βάση τις νεώτερες κατευθυντήριες οδηγίες για την Χ.Α.Π. ο καθορισμός των παροξύνσεων γίνεται πλέον όχι σύμφωνα με την κλινική συμπτωματολογία, αλλά σύμφωνα με την αγωγή την οποία χρήζει ο ασθενής κατά τη διάρκεια της παρόξυνσης. Έτσι στις σοβαρές παροξύνσεις ο ασθενής χρήζει νοσηλείας τακτικής ή επείγουσας, στις μέτριες χρήζει αγωγής με βραχείας διάρκειας βρογχοδιασταλτικά, αντιμικροβιακή αγωγή και ενδεχομένως από του στόματος κορτικοειδή, ενώ στις ήπιες παροξύνσεις χρήζει μόνο με βραχείας διάρκειας βρογχοδιασταλτική αγωγή[1].

ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΠΑΡΟΞΥΝΣΕΩΝ Χ.Α.Π.

Ποιες είναι όμως οι αιτίες των παροξύνσεων; Αυτές διακρίνονται κυρίως σε λοιμώδους και μη λοιμώδους αιτιολογίας, παρά ταύτα υπάρχει και ένα ποσοστό παροξύνσεων (~30%) αγνώστου αιτιολογίας. Οι παροξύνσεις λοιμώδους αιτιολογίας είναι και οι πιο συχνές φτάνοντας σε ορισμένες μελέτες ακόμα και πάνω από το 80% των συνολικών παροξύνσεων. Οι βακτηριακές λοιμώξεις είναι οι συχνότερες στις λοιμώδους αιτιολογίας παροξύνσεις Χ.Α.Π. *Pseudomonas aeruginosa*, *Moraxella catarrhalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* και *Streptococcus pneumoniae* αποτελούν τους κυριότερους αιτιολογικούς παράγοντες. Οι ιογενείς λοιμώξεις είναι μικρότερης συχνότητας αλλά μπορούν να οδηγήσουν σε σοβαρότερες και μακρόχρονες παροξύνσεις. Αιτιολογικοί παράγοντες αποτελούν ο ιός της γρίπης (*influenza virus*), αλλά και οι *picornavirus*, *respiratory syncytial virus*, *coronavirus*, *parainfluenza*, *adenovirus*, *human metapneumovirus*. Στις παροξύνσεις μη λοιμώδους αιτιολογίας που είναι και οι λιγότερο συχνές, περιλαμβάνονται η έκθεση σε βλαβερές χημικές ουσίες – ρύπους όπως το διοξείδιο του θείου (SO_2), το διοξείδιο του αζώτου (NO_2) και το όζον (O_3). Επίσης περιλαμβάνονται η έκθεση σε καπνό, σε καύση βιομάζας αλλά και μεταβολές μετεωρολογικών συνθηκών όπως απότομες πτώσεις θερμοκρασίας ($>5^{\circ}C$), αυξημένη βαρομετρική πίεση και χαμηλά επίπεδα υγρασίας. Τέλος σε μικρότερα ποσοστά, αίτιο παροξύνσεων Χ.Α.Π. μπορεί να αποτελέσει επεισόδιο πνευμονικής εμβολής (που είναι συχνότερη σε ασθενείς με Χ.Α.Π.), η συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, αλλά και η διακοπή της χρόνιας αγωγής για τη νόσο από την πλευρά του ασθενούς[14].

ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΠΑΡΟΞΥΝΣΕΩΝ Χ.Α.Π.

Οι παροξύνσεις της Χ.Α.Π. χαρακτηρίζονται από δύο παθοφυσιολογικά στοιχεία: Από την εξέλιξη φλεγμονώδους διαδικασίας και από αλλαγές στον μεταβολισμό και στη λειτουργία των μυϊκών ινών και των μυών του οργανισμού, καρδιακών και κινητικών.

Η φλεγμονή αποτελεί βασικό στοιχείο μίας παρόξυνσης Χ.Α.Π. και ο καθορισμός της μπορεί να οδηγήσει στην ανακάλυψη νέων θεραπευτικών και φαρμακευτικών αγωγών για την αντιμετώπιση των παροξύνσεων. Κατά την διάρκεια των παροξύνσεων παρατηρείται αύξηση της ήδη υπάρχουσας φλεγμονής των αεροφόρων οδών με αυξημένη ροή ουδετεροφίλων, λεμφοκυττάρων και ενδεχομένως ηωσινοφίλων. Ο αριθμός των ουδετεροφίλων είναι ελαφρώς αλλά σταθερά αυξημένος στους βρογχικούς αδένες, στον υποβλεννογόνιο και υποεπιθηλιακό ιστό έπειτα από βοψίες που έγιναν σε ασθενείς με σταθερή νόσο (stable disease) σε σύγκριση με υγιείς (καπνιστές και μη), με τον αριθμό των ουδετεροφίλων με θετική συσχέτιση με το βαθμό απόφραξης των αεραγωγών. Ο αριθμός των ουδετεροφίλων αυξάνεται περαιτέρω όχι μόνο σε βακτηριδιακές ή ιογενείς λοιμώξεις αλλά – σε μικρότερο βαθμό ωστόσο – και σε παροξύνσεις αγνώστου αιτιολογίας. Τα ουδετερόφιλα αυξάνονται και στον ορό και στα στα πτύελα – βρογχικές εκκρίσεις των ασθενών. Μεγαλύτερη αύξηση τους συνδέεται με μεγαλύτερο βακτηριδιακό φορτίο στα δείγματα πτυέλων αλλά και με σοβαρότερο βαθμό απόφραξης κατά τη διάρκεια της παρόξυνσης, ενώ σταδιακή μείωσή τους συνοδεύεται με σταδιακή λύση της παρόξυνσης. Ο μηχανισμός της ουδετεροφιλίας οφείλεται στην αλληλεπίδραση μεταξύ των βακτηρίων με υποδοχείς αντιγόνου toll-like (toll-like receptors) επιθηλιακών κυττάρων, που οδηγεί στην απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτταροκινών οι οποίες επάγουν την αύξηση των πολυμορφοπύρηνων τα οποία με τη σειρά τους προκαλούν βακτηριακή απόπτωση, ενώ συντελείται και η λύση των πολυμορφοπύρηνων με απελευθέρωση της μυελοπεροξυδάσης η οποία είναι αυξημένη κατά τη διάρκεια των παροξύνσεων και στον ορό αλλά και στις εκκρίσεις των ασθενών. Οι πιο ισχυρές χημειοελκτικές κυτταροκίνες των ουδετεροφίλων είναι το λευκοτριένιο B₄, ο epithelial derived neutrophil attractant-78, ο tumor necrosis factor-α (TNF-α), και η ιντερλευκίνη 6 και 8 (IL-6 και IL-8). Μάλιστα η IL-8 είναι μονίμως αυξημένη σε εκκρίσεις ασθενών Χ.Α.Π. με συχνότερες παροξύνσεις. Η παρόξυνση της Χ.Α.Π. προκαλεί φλεγμονή όχι μόνο στους αεραγωγούς. Προκαλεί συστηματική φλεγμονή στον οργανισμό με αποτέλεσμα την αύξηση στην κυκλοφορία των ουδετεροφίλων, της CRP, του ινωδογόνου και της IL-8 και IL-6. Οι λόγοι της συστηματικής φλεγμονής είναι: Υπερέκκριση των κυτταροκινών από το πνευμονικό παρέγχυμα με αύξηση τους στη συστηματική κυκλοφορία, φλεγμονώδης αντίδραση στην ιστική υποξία και αντίδραση προκαλούμενη από λιποπολυσακχαρίτη παραγόμενο από τα βακτήρια, με προφλεγμονώδη δράση. Επίσης η συστηματική φλεγμονή ενισχύεται σταδιακά όλο και περισσότερο και από το έντονο οξειδωτικό stress που συνοδεύει κάθε παρόξυνση Χ.Α.Π. λόγω του ότι και το τελευταίο γίνεται όλο και πιο έντονο με

την ανάπτυξη της φλεγμονώδους διαδικασίας. Από τις λοιπές σειρές των λευκοκυττάρων κατά την παρόξυνση παρατηρείται αύξηση των λεμφοκυττάρων και σε δείγματα πτυέλων και σε βιοπτικά δείγματα με στόχο την κάθαρση ιδιαιτέρως ιογενών αλλά και βακτηριακών λοιμώξεων, ο αριθμός των ηωσινοφίλων μπορεί να αυξηθεί σε περίπτωση συνοσηρότητας με άσθμα, ενώ ο αριθμός των μακροφάγων δεν υπεισέρχεται μεταβολών κατά την παρόξυνση της νόσου[15].

Σημαντικές όμως μεταβολές κατά τη διάρκεια της παρόξυνσης συμβαίνουν σε επίπεδο μεταβολισμού και μυϊκής λειτουργίας. Αυτές οι μεταβολές διαφοροποιούν μία λοίμωξη αναπνευστικού σε έναν υγιή ασθενή από μία λοίμωξη με συνυπάρχουσα παρόξυνση σε έναν ασθενή με Χ.Α.Π., αφού το στοιχείο της φλεγμονής είναι κοινό και στις δύο περιπτώσεις. Ήδη σε ασθενείς με Χ.Α.Π. σε σταθερή κατάσταση (stable disease) παρατηρούνται μεταβολικές και δομικές μεταβολές των μυών σε σχέση με υγιή άτομα. Οι αναπνευστικοί μύες διακρίνονται με σημεία τραυματισμού και με αύξηση του αερόβιου μεταβολισμού μέσω της αύξησης των μυϊκών ινών τύπου I, την αύξηση της πυκνότητας των τριχοειδών αγγείων και την αύξηση της δραστηριότητας των ενζύμων της αερόβιας οδού. Αντίθετα στους μύς των άνω και κάτω άκρων παρατηρούνται μεν στοιχεία τραυματισμού, αλλά με μείωση των ανωτέρω στοιχείων και με συνοδό μείωση του μεγέθους των μυϊκών ινών, οδηγώντας σε ενίσχυση του αναερόβιου μεταβολισμού σε βάρος του αερόβιου[16]. Κατά τη διάρκεια της παρόξυνσης Χ.Α.Π. σημειώνονται δύο φαινόμενα: Η αύξηση των αντιστάσεων των αεραγωγών και δυναμική υπερδιάταση[17]. Αποτέλεσμα αυτών των δύο φαινομένων είναι η μείωση της εισπνευστικής ικανότητας των ασθενών να σχετίζεται θετικά (με γραμμική συσχέτιση) με το βαθμό δυσλειτουργίας των εισπνευστικών μυών και αρνητικά με τη δύναμη των εκπνευστικών μυών[18]. Συνεπώς σε μεγαλύτερο βαθμό παρόξυνσης και σοβαρότερη Χ.Α.Π. παρατηρείται μεγαλύτερη χρήση των εκπνευστικών αναπνευστικών μυών λόγω της αυξημένης αντίστασης των αεραγωγών και μείωση της δύναμης των εισπνευστικών μυών λόγω αυξημένης υπερδιάτασης των πνευμόνων. Κάτι ανάλογο παρατηρείται και κατά τη διάρκεια της άσκησης ασθενών με σταθερή Χ.Α.Π. όπου τη στιγμή της σωματικής εξάντλησης παρατηρείται στατιστικά σημαντική μείωση της δύναμης των εισπνευστικών μυών και των μυών των κάτω και άνω άκρων, ενώ η μείωση της δύναμης των εκπνευστικών μυών δεν είναι στατιστικά σημαντική[19]. Αλλά και σε επίπεδο καρδιακής και αγγειακής λειτουργίας η παρόξυνση Χ.Α.Π. προκαλεί μεταβολές. Ασθενείς με συχνές παροξύνσεις έχουν και μεγαλύτερο βαθμό αρτηριοσκλήρυνσης, ενώ ο τραυματισμός του μυοκαρδίου είναι συχνός και στατιστικά σημαντικός κατά τη διάρκεια των παροξύνσεων της νόσου, και περισσότερο σε ασθενείς με ατομικό αναμνηστικό χρόνιας ισχαιμικής καρδιοπάθειας[20]. Τέλος η παρόξυνση Χ.Α.Π. έχει αρνητική επίδραση και στη λειτουργία της δεξιάς καρδιακής κοιλίας[21].

ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ Χ.Α.Π. – ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

Έχοντας περιγράψει με βάση τα παραπάνω τη παθοφυσιολογία και τις λειτουργικές μεταβολές που συμβαίνουν στην παρόξυνση της Χ.Α.Π., δημιουργείται εύλογα το ερώτημα εάν υπάρχουν και εάν έχουν μελετηθεί βιοχημικοί δείκτες οι οποίοι θα μπορούσαν να ορίσουν και να διακρίνουν την παρόξυνση της νόσου. Ιδιαίτερα τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει μελέτες διαφόρων δεικτών χωρίς όμως το άθροισμα αυτών των μελετών μετά από ποιοτικό και ποσοτικό έλεγχο να καταφέρει να μας δώσει τελικά μέχρι σήμερα τουλάχιστον, ολοκληρωμένο αποτέλεσμα μετα-ανάλυσης. Σε πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση έγινε έρευνα όλων των άρθρων με μελέτες σχετικά με βιοδείκτες για παρόξυνση Χ.Α.Π. σε MEDLINE (1966 – 2015), EMBASE (1980 – 2015), CINAHL (1982 – 2015) και Cochrane databases, ακολουθώντας τις κατευθυντήριες οδηγίες PRISMA (Preferred Reporting Items for Systemic Reviews and Meta-Analysis). Συνολικά από τις 2732 μελέτες που βρέθηκαν, 59 λήφθηκαν υπόψη και συμπεριλήφθηκαν στην ποιοτική σύνθεση, ενώ η ποσοτική σύνθεση δεν κατάφερε να δώσει αποτέλεσμα ικανό για μετα-ανάλυση. Από τις 59 αυτές μελέτες μόνο 12 (~20%) υπέβαλαν ανάλυση ROC (receiver operating characteristics) και στατιστική μέθοδο AUC (area-under-the curve), δηλαδή αναλύθηκε η ακρίβεια της ευαισθησίας και ειδικότητας των βιοχημικών δεικτών σε σχέση με την παρόξυνση (**ΠΙΝΑΚΑΣ 1**). Βιοχημικός δείκτης με AUC>85% ορίστηκε ως υψηλής ακρίβειας, ενώ δείκτης με AUC μεταξύ 0.7-0.85 θεωρήθηκε οριακός, χρήζοντας περαιτέρω αξιολόγησης και μελέτης πληθυσμών. Επίσης εφαρμόστηκαν οι κατευθυντήριες οδηγίες REMARK (REporting of Tumor MARKer Studies) που αποτελούνται από 20 σημεία. Όσο περισσότερα πληρούνται σε μία μελέτη τόσο θεωρείται αυτή πιο αξιόπιστη, Συνεπώς το άριστο αποδίδεται σε μελέτη που φέρει βαθμό REMARK 20. Καθώς οι οδηγίες αυτές αναφέρονται σε δείκτες προγνωστικούς για κακοήθειες, προσαρμόστηκαν στη Χ.Α.Π., αντικαθιστώντας στα σημεία 13 και 15 τον όρο “ογκολογικοί δείκτες” με τον όρο “δείκτες παροξύνσεως Χ.Α.Π.”, ενώ στα σημεία 14 και 17 χρησιμοποιήθηκαν μετρήσεις τιμών πνευμονικών λειτουργιών ως προγνωστικοί παράγοντες της Χ.Α.Π [22]. Από τις κάτωθι μελέτες μόνο μία (Bafadhel M., et al)[23] χρησιμοποίησε ένα δεύτερο ανεξάρτητο δείγμα κοόρτης για την αξιολόγηση των δεικτών προς μελέτη.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: Ευαισθησία και ειδικότητα διαφόρων βιοχημικών δεικτών σε σχέση με τη Χ.Α.Π. και της παροξύνσεις της. Μέτρηση της ακρίβειας (ευαισθησίας και ειδικότητας) μέσω της ανάλυσης ROC (receiver operating characteristics) και της στατιστικής μεθοόδου AUC (area-under-the curve).

Αναφορά	Δειγματοληψία	ΒΙΟΔΕΙΚΤΗΣ	AUC (95% CI)*	Επανάληψη	Χρήση ROC	mRE MAR K Score (/20)
Bafadhel M., et al. (2011) [23]	145 Χ.Α.Π.	CRP	1) 0.65 (0.57–0.74) 4) 0.73 (0.61–0.85)	ΝΑΙ	1)Διάκριση παρόξυνσης Χ.Α.Π. βακτηριακής αιτιολογίας	18
		IL-6	1) 0.67 (0.58–0.76)			
		Αμυλοειδές Α ορού	1) 0.67 (0.58–0.76)			
		TNFR1	1) 0.62 (0.53–0.71)			
		TNFR2	1) 0.60 (0.50–0.70)			
		CXCL10	2) 0.76 (0.67–0.86) 4) 0.65 (0.52–0.78)			
		CXCL11	2) 0.67 (0.56–0.78)			
		IFNγ	2) 0.65 (0.54–0.75)			
		Περιφερική ηωσινοφιλία %	3) 0.85 (0.78–0.93)			
		IL-5	3) 0.65 (0.55–0.76)			
CCL17	3) 0.63 (0.53–0.73)	2)Διάκριση παρόξυνσης Χ.Α.Π. ιογενούς αιτιολογίας	3)ROC για παροξύνσεις Χ.Α.Π. σε συσχέτιση με ηωσινοφιλία	4)Επικύρωση αποτελέσματος		

Αναφορά	Δειγματοληψία	ΒΙΟΔΕΙΚΤΗΣ	AUC (95% CI)*	Επανάληψη	Χρήση ROC	mRE MAR K Score (/20)
Lacoma, A., et al. (2011) [24]	• 217 με παρόξυνση X.A.Π.	CRP	1) 0.53 (0.72–1.61) 2) 0.68 (0.65–1.76)	ΟΧΙ	1) Διάκριση βακτηριακής αιτιολογίας παρόξυνση	16
		Προκαλσιτονίνη	1) 0.52 (0.71–1.38) 2) 0.66 (0.65–1.42)			
	• 46 με σταθερή X.A.Π.	Νεοπτερίνη	1) 0.61 (0.39–0.90) 2) 0.70 (0.31–0.87)	ΟΧΙ	X.A.Π. 2) Διάκριση βακτηριακής αιτιολογίας παρόξυνση X.A.Π. με κλινική συμπτωματολογία	15
		BNP	1) 0.55 (0.41–0.68) 2) 0.56 (0.45–0.66)			
Jin, Q., et al. (2013) [26]	64 με παρόξυνση X.A.Π.	RBP4	0.88 (0.78–0.94)	ΟΧΙ	Θνησιμότητα παροξύνσεων X.A.Π.	15

Αναφορά	Δειγματοληψία	ΒΙΟΔΕΙΚΤΗΣ	AUC (95% CI)*	Επανάληψη	Χρήση ROC	mRE MAR K Score (/20)
Hurst, J.R., et al.(2006) [27]	90 με παρόξυνση X.A.Π.	CRP	1) 0.66–0.80	ΟΧΙ	1)Διάκριση μεταξύ παροξύνσεων X.A.Π. και σταθερής X.A.Π.	14
		CRP, MMP-9, και MPlF-1	2) 0.88 (0.82–0.93)			
		36 βιοδείκτες	1) 0.75 (0.67–0.82)			
Gumus, A., et al. (2015) [28]	43 με παρόξυνση X.A.Π.	suPAR	0.81 (0.72–0.90)	ΟΧΙ	Διάκριση μεταξύ παρόξυνσης X.A.Π. στην 1 ^η και στην 7 ^η μέρα	13
		Ινωδογόνο	0.76 (0.66–0.86)			
		CRP	0.70 (0.58–0.81)			

Αναφορά	Δειγματοληψία	ΒΙΟΔΕΙΚΤΗΣ	AUC (95% CI)*	Επ ανά λη ψη	Χρήση ROC	mRE MAR K Score (/20)
Shakoori, T.A., et al. (2009) [29]	<ul style="list-style-type: none"> • 13 με παρόξυνση Χ.Α.Π. • 14 με σταθερή Χ.Α.Π. • 54 Controls 	SP-D	1) 0.76 (0.60–0.92) 2) 0.68 (0.48–0.89)	ΟΧΙ	1) Διάκριση μεταξύ παροξύνσεων Χ.Α.Π. ως προς τη σταθερή Χ.Α.Π. και τα controls 2) Διάκριση μεταξύ παροξύνσεων Χ.Α.Π. ως προς τη σταθερή Χ.Α.Π.	13
Falsey, A.R., et al. (2012) [30]	<ul style="list-style-type: none"> • 184 με παρόξυνση Χ.Α.Π. • 56 με πνευμονία • 16 με βακτηριακή και ιογενή παρόξυνση Χ.Α.Π. 	Προκαλσιτονίνη	1) 0.76 (0.68–0.84) 2) 0.75 (0.67–0.82) 3) 0.70 (0.53–0.87)		1) Διάκριση μεταξύ παρόξυνσης Χ.Α.Π. και πνευμονίας τη μέρα 1 2) Διάκριση μεταξύ παρόξυνσης Χ.Α.Π. και πνευμονίας τη μέρα 2 3) Διάκριση	12

	• 25 με ιογενή παρόξυνση Χ.Α.Π.				μεταξύ βακτηριακής ή ιογενούς παρόξυνσης Χ.Α.Π. και ιογενούς παρόξυνσης Χ.Α.Π.	
						mRE
					Επ	MAR
					ανά	Κ
			AUC (95%	λη		Score
Αναφορά	Δειγματοληψία	ΒΙΟΔΕΙΚΤΗΣ	CI)*	ψη	Χρήση ROC	(/20)
Quint, J.K., et al. (2010) [31]	72 με παρόξυνση Χ.Α.Π.	IP-10 (CXCL10)	1) 0.78 (0.65–0.91) 2) 0.82 (0.74–0.90)	OXI	1) Διάκριση μεταξύ HRV+ παροξύνσεων Χ.Α.Π. και HRV- παροξύνσεων Χ.Α.Π. 2) Διάκριση μεταξύ HRV+ παροξύνσεων Χ.Α.Π. με ρινική συμπτωματολογία και HRV- παροξύνσεων Χ.Α.Π.	11

Αναφορά	Δειγματοληψία	ΒΙΟΔΕΙΚΤΗΣ	AUC (95% CI)*	Επανάληψη	Χρήση ROC	mRE MAR K Score (/20)
Pazarli, A.C., et al. (2012) [32]	• 68 με παρόξυνση X.A.Π. • 50 με σταθερή X.A.Π.	Προκαλσιτονίνη	1) 0.89 (0.80–0.97) 2) 0.89 (0.82–0.97)	ΟΧΙ	1) Διάκριση μεταξύ ήπιας και μέτριας-σοβαρής παρόξυνσης X.A.Π. 2) Διάκριση μεταξύ ασθενών με χρήση NPPV και χωρίς χρήση NPPV	10
Phua, J., et al. (2006) [33]	• 43 με X.A.Π. • 72 με πνευμονία • 35 με άσθμα • 63 Controls	sTREM-1	0.77 (0.70–0.84)	ΟΧΙ	1) Διάκριση μεταξύ των ασθενών που χρήζουν η όχι αντιμικροβιακής αγωγής	10
Adnan, A.M., et al. (2013) [34]	• 35 με παρόξυνση X.A.Π. • 30 με σταθερή X.A.Π. • 23 Controls	Εοταζίνη	1) 0.70 2) 0.87	ΟΧΙ	1) Διάκριση μεταξύ παροξύνσεων και σταθερής X.A.Π. 2) Διάκριση μεταξύ σταθερής X.A.Π. και controls	6

*AUC για προβλεπόμενη χρήση σε σχέση με την καμπύλη ROC

Συντμήσεις: AUC=Περιοχή κάτωθι της καμπύλης, CCL (chemokine C-C motif ligand)= χημοκίνη C-C motif ligand , CI (confidence interval)= διάστημα εμπιστοσύνης, CXCL (chemokine C-X-C motif ligand)= χημοκίνη C-X-C motif ligand, ECP (eosinophil cationic protein)= ηωσινοφιλική κατιονική πρωτεΐνη, FE (frequent exacerbators)= ασθενείς με συχνές παροξύνσεις, HRV (human rhinovirus)= ανθρώπινος ρινοϊός, ICU (intensive care unit)= μονάδα εντατικής θεραπείας, IFN (interferon)= ιντερφερόνη, IL (interleukin)= ιντερλευκίνη, IP (interferon- γ inducible protein)= ιντερφερόνη- γ επαγωγός πρωτεΐνης, LVD (left ventricular dysfunction)= δυσλειτουργία AP κοιλίας, MMP-9 (matrix metalloproteinase-9)=μήτρα μεταλλοπεπτιδάσης-9, MPIF-1 (myeloid progenitor inhibitory factor-1) = μυελικός προγενήτορας επιβραδυντικού παράγοντα-1, N/A = not available, NPPV (non-invasive positive pressure ventilation)= μη επεμβατικός αερισμός θετικής πίεσης, RBP (retinol-binding protein) = δεσμευτική πρωτεΐνη ρετινόλης, REMARK (recommendations for tumor marker prognostic studies) = συστάσεις προγνωστικών μελετών για ογκολογικούς δείκτες, ROC (receiver-operator characteristics)= καμπύλη ROC, Sens (sensitivity) = ευαισθησία, Spec (specificity)= ειδικότητα, SP-D (surfactant protein-D)= επιφανειοδραστικός παράγοντας- D, suPAR (soluble urokinase-type plasminogen activator receptor)= υποδοχέας ενεργοποίησης διαλυτού, τύπου ουροκινάσης, πλασμινογόνου, TNFR (tumor necrosis factor receptor.)= υποδοχέας παράγοντα νέκρωσης όγκων.

(Ανατύπωση από: Chen YW, Leung JM, Sin DD. A Systematic Review of Diagnostic Biomarkers of COPD Exacerbation. PLoS One. 2016 Jul 19;11(7):e0158843).

Από τις μελέτες που προέκυψαν συνολικά από τη ποιοτική σύνθεση, μελετήθηκαν συνολικά 134 βιοδείκτες. Άλλοι σχετίζονταν με την οξεία φάση της φλεγμονής (όπως CRP, ταχύτητα καθίζησης ερυθροκυττάρων και ινωδογόνο), άλλοι με κυτταροκίνες (όπως ιντερλευκίνες IL-6, IL-8 και TNF- α), δείκτες καρδιακής προέλευσης (BNP), και δείκτες που εμπλέκονται στην παραγωγή κολλαγόνου (MMP-9) ή στον μεταβολισμό των λιπαρών οξέων (αντιπονεκτίνη). Ο πιο μελετημένος βιοδείκτης είναι η CRP ο οποίος στις 26 από τις 28 μελέτες όπου ελέγχθηκε, παρουσίασε ανάλογα αποτελέσματα παρά τη χρήση διαφορετικών τεχνικών στις διάφορες μελέτες (όπως ανοσονεφελομετρία ή τεστ latex ανοσοσυγκόλλησης), με στατιστικά σημαντική αύξηση κατά τη διάρκεια της παρόξυνσης της Χ.Α.Π. σε σχέση με τη σταθερή Χ.Α.Π. και με υγιά (control) πληθυσμό. Η IL-6 μελετήθηκε σε 18 άρθρα όπου στα 13 παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση στην παρόξυνση Χ.Α.Π. σε σχέση με τη σταθερή Χ.Α.Π. Ο TNF- α παρουσίασε αύξηση, χωρίς όμως αποδεδειγμένη στατιστική σημαντικότητα, στους ασθενείς με παρόξυνση Χ.Α.Π. σε σχέση με ασθενείς με σταθερή Χ.Α.Π. και controls[22]. Σε μεμονωμένες μελέτες η προκαλσιτονίνη προκύπτει να διακρίνει (AUC: 0.89) την ήπια από τη μέτρια-σοβαρή Χ.Α.Π. και τους ασθενείς με χρήση ή όχι μη επεμβατικού μηχανικού αερισμού[32], η εοταξίνη, που πρόκειται για χημοτακτική πρωτεΐνη των ηωσινοφίλων, φαίνεται να διακρίνει (AUC: 0.87) τη σταθερή Χ.Α.Π. από τα controls[34], ενώ η πρωτεΐνη RBP4 μεταφορέας της ρετινόλης η οποία συμμετέχει στην εμβρυϊκή ανάπτυξη, φαίνεται να αποτελεί (AUC: 0.88) δείκτη θνησιμότητας των παροξύνσεων Χ.Α.Π.[26], και η περιφερική ηωσινοφιλία % δείκτη διάκρισης (AUC: 0.85) των ηωσινοφιλικών παροξύνσεων Χ.Α.Π.[23].

Με βάση τα παραπάνω κατά την περίοδο της παρόξυνσης Χ.Α.Π. η κλινική εικόνα της φλεγμονώδους διαδικασίας η οποία και εκφράζεται με συμπτωματολογία επιδείνωσης δύσπνοιας με συνοδό βήχα με αυξημένη απόχρεμψη, επιβεβαιώνεται και εργαστηριακά με τη θετική συσχέτιση δεικτών φλεγμονής όπως η CRP, με την παρόξυνση της Χ.Α.Π. και τη διάκριση των παροξύνσεων από τη σταθερή νόσο και τον υγιή πληθυσμό (controls). Προκαλεί όμως ιδιαίτερο ενδιαφέρον η περαιτέρω μελέτη και άλλων εργαστηριακών δεικτών, που μπορούν να συσχετισθούν όχι μόνο με τη φλεγμονώδη διαδικασία, αλλά και με τις αλλαγές στο μεταβολισμό και τις λειτουργικές και δομικές αλλαγές των μυών που συμβαίνουν όπως έχει προαναφερθεί, κατά τη διάρκεια της παρόξυνσης. Η γαλακτική αφυδρογονάση (lactate dehydrogenase ή LDH) και τα ισοένζυμά της, είναι βιοχημικοί δείκτες ελάχιστα μελετημένοι προς αυτή την κατεύθυνση, παρά ταύτα θα μπορούσαν να αποτελέσουν πεδίο έρευνας εάν λάβουμε υπόψη στοιχεία που πρόκειται να περιγραφούν παρακάτω, όπως η δομή τους, η λειτουργία τους και ο μεταβολικός ρόλος τους.

LDH – ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ

Η γαλακτική αφυδρογονάση (LDH) είναι ένας μεταφορέας υδρογόνου, το ένζυμο που δρα ως καταλύτης για την οξείδωση του γαλακτικού οξέως σε πυρουβικό οξύ και αντίστροφα, με το νικοτιναμίδ-αδενιν διουκλεοτίδιο (NAD^+) να δρα ως υποδοχέας υδρογόνου. Πιο αναλυτικά:

LDH, pH: 8.8-9.8

L-Γαλακτικό + NAD^+ ↔ Πυρουβικό + $\text{NADH} + \text{H}^+$

pH: 7.4-7.8

Πρόκειται για αμφίδρομη αντίδραση όπου η αναγωγή του πυρουβικού σε γαλακτικό οξύ, αποτελεί το τελευταίο στάδιο της μεταβολικής αλυσίδας της αναερόβιας γλυκόλυσης, μιας αντίδρασης που συμβαίνει σε περίπτωση έλλειψης ή χαμηλής επάρκειας οξυγόνου. Η αναερόβια οδός είναι αυτή που εξασφαλίζει στον οργανισμό την απαιτούμενη ενέργεια σε μορφή ATP στον οργανισμό, ATP το οποίο παράγεται με την μετατροπή της γλυκόζης σε πυρουβικό οξύ όπου το NAD^+ δρα ως καταλύτης. Η μετατροπή του πυρουβικού σε γαλακτικό οξύ είναι ευεργετική για τον οργανισμό λόγω της παραγωγής NAD^+ και της συνέχισης της αναερόβιας γλυκόλυσης, εξασφαλίζοντας έτσι για τον οργανισμό συνεχή παραγωγή ενέργειας όταν οι ποσότητες οξυγόνου δεν επαρκούν για την αερόβια οδό, και ο ρόλος του LDH που δρα ως καταλύτης για αυτή την αντίδραση είναι εξαιρετικά σημαντικός [3,4].

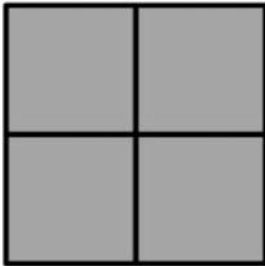
ΙΣΟΕΝΖΥΜΑ LDH – ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΣΥΣΤΑΣΗ

Το ένζυμο LDH είναι ένα τετραμερές αποτελούμενο από 4 πεπτιδικές αλυσίδες. Οι δύο συνηθέστεροι και πιο κοινοί τύποι πεπτιδικών αλυσίδων που συνθέτουν την LDH είναι η M (Muscle) και H (Heart) έχοντας το ίδιο μέγεθος και σε ποσοστό 75% την ίδια δομή και λαμβάνοντας τα αρχικά τους λόγω της επικράτησης της κάθε μίας από αυτές στους αντίστοιχους ιστούς, ενώ κωδικοποιούνται από τα γονίδια LDH-A και LDH-B αντίστοιχα[35] (**ΕΙΚΟΝΑ 1**) . Σε συνδυασμό μεταξύ τους μπορούν να σχηματίσουν πέντε διαφορετικά τετραμερή που αποτελούν τα ισοένζυμα LDH, τα οποία είναι:

- LDH1 (HHHH) σε μεγαλύτερο ποσοστό σε σχέση με τα άλλα ισοένζυμα στην καρδιά, ερυθροκύτταρα, εγκέφαλο.
- LDH2 (HHHM) σε μεγαλύτερο ποσοστό σε σχέση με τα άλλα ισοένζυμα στον ορό του αίματος και στο δικτυοενδοθηλιακό σύστημα.
- LDH3 (HHMM) σε μεγαλύτερο ποσοστό σε σχέση με τα άλλα ισοένζυμα στον πνεύμονα
- LDH4 (HMMM) σε μεγαλύτερο ποσοστό σε σχέση με τα άλλα ισοένζυμα σε νεφρό, πλακούντα, πάγκρεας και
- LDH5 (MMMM) σε μεγαλύτερο ποσοστό σε σχέση με τα άλλα ισοένζυμα σε σκελετικό μυ και ήπαρ[4,22].

Στον ορό επικρατεί η LDH2 με αναλογία ισοενζύμων: LDH1: 19-30% ,LDH2: 32-48%, LDH3: 12-22%,LDH4: 5-11%, LDH5: 5-13%. Στον πνεύμονα επικρατεί η LDH3 με αναλογία ~30% ενώ οι εκτιμώμενες αναλογίες των υπολοίπων ισοενζύμων είναι: LDH1~10%, LDH2~ 20%, LDH4~ 25%, LDH5~15%. Η LDH βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων, σχεδόν σε όλα τα όργανα του οργανισμού. Τα επίπεδα του ενζύμου LDH στους διάφορους ιστούς (σε U/g καθαρού βάρους), είναι πολύ ψηλότερα σε σχέση με τον ορό του αίματος. Στο ήπαρ σε συγκέντρωση 9000U/g, στην καρδιά σε συγκέντρωση 25000U/g, στο νεφρό σε συγκέντρωση 15000U/g, στο σκελετικό μυ σε συγκέντρωση 9000U/g και στον πνεύμονα σε συγκέντρωση 9500U/g. Στον ορό του αίματος η διακύμανση των συγκεντρώσεων της LDH είναι 200- 450U/L, ενώ στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα (BAL-bronchoalveolar lavage) είναι 10- 50U/L όπου ο καθορισμός των ισοενζύμων γίνεται εφικτός όταν η συγκεντρώσεις είναι >50U/L[4].

**hLDH-1, H4
(B4)**



(Καρδιά, ερυθρά αιμοσφαίρια)

**hLDH-2, M1H3
(A1B3)**



(Δικτυοενδοθηλιακό

Σύστημα)

**hLDH-3, M2H2
(A2B2)**



(Πνεύμονες)

**hLDH-4, M3H1
(A3B1)**



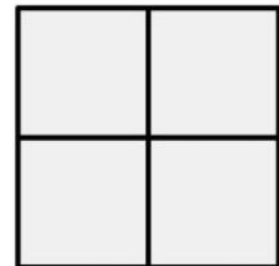
(Νεφρά, Πλακούντας,

**hLDH-5, M4
(A4)**



(Ήπαρ, Γραμμωτός μυς)

**hLDHC, LDHX
(C4)**



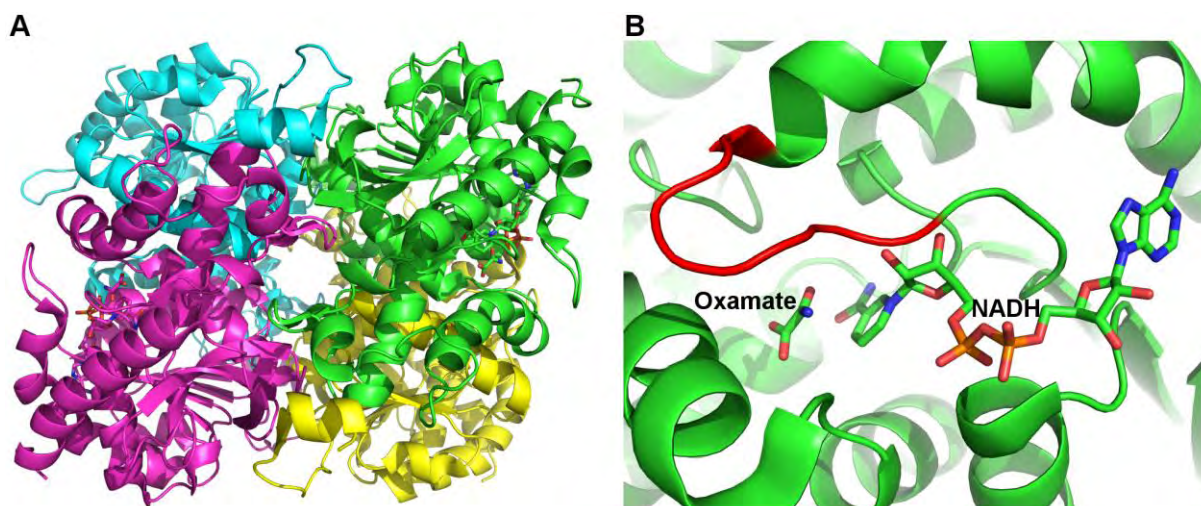
(Σπερματοζώαρια)

Πάνκρεας)

ΕΙΚΟΝΑ 1: Σχηματική αναπαράσταση των διαφορετικών ισομορφών της ανθρώπινης LDH. Το κάθε ένα από τα ισοένζυμα LDH σχηματίζεται από τέσσερα τετράγωνα (τετραμερή). Το κάθε ένα από τα τετράγωνα αντιπροσωπεύει υπομονάδα είτε της LDH-A (σκοτεινό γκρι), είτε της LDH-B (μεσαίο γκρι), είτε της LDH-C (ανοιχτό γκρι). Στην κορυφή καταγράφεται η ονοματολογία και η σύνθεση των υποομάδων του κάθε ισοενζύμου, ενώ στη βάση καταγράφονται τα όργανα με την υψηλότερη συγκέντρωση για το αντίστοιχο ισοένζυμο. Το ισοένζυμο hLDHC₄ το οποίο αποτελείται από έναν διαφορετικό τύπο πεπτιδικών αλυσίδων που δεν παρατηρούνται στα υπόλοιπα ισοένζυμα, και είναι η LDH-C, βρίσκεται αποκλειστικά στα σπερματοζώαρια. (Ανατύπωση από: Dempster S, Harper S, Moses JE, Dreveny I. Structural characterization of the apo form and NADH binary complex of human lactate dehydrogenase. Acta Crystallogr D Biol Crystallogr. 2014 May;70(Pt 5):1484-90)

Ο ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΙΣΟΕΝΖΥΜΩΝ LDH

Οι διαφορές στις ιδιότητες των παραπάνω ισοενζύμων οφείλονται στην διαφορετική αναλογία σύνθεσης των πεπτιδικών αλυσίδων τους, αφού οι πρωτεΐνες M και H διαφέρουν σε χαρακτηριστικά και λειτουργίες. Η συνολική ποσότητα πρωτεΐνης M είναι σχεδόν διπλάσια και η καταλυτική της δράση πιο αργή σε σχέση με την H στον ανθρώπινο οργανισμό, αλλά η σημαντικότερη διαφορά τους είναι η αντίθετη καταλυτική τους λειτουργία[36]. Η πρωτεΐνη M - LDH-A προωθεί τον αναερόβιο μεταβολισμό καταλύοντας την μετατροπή του πυρουβικού οξέως σε γαλακτικό και προωθώντας την παραγωγή NAD⁺ (**ΕΙΚΟΝΑ 2**), ενώ η πρωτεΐνη H - LDH-B αντιστρόφως καταλύει τη μετατροπή του γαλακτικού οξέως σε πυρουβικό, μειώνοντας έτσι τον αναερόβιο, και ενισχύοντας τον αερόβιο μεταβολισμό[3,37].



ΕΙΚΟΝΑ 2: Δομή της ανθρώπινης LDH-A. A: Η τετραμερής δομή της LDH-A όπου το κάθε ένα από τα πολυπεπίδια έχει και διαφορετικό χρώμα (πράσινο, μωβ, γαλάζιο και κίτρινο αντίστοιχα). B: Σύνδεση του NADH με την πεπτιδική αλυσίδα LDH-A. Έτσι επιτυγχάνεται η μετατροπή του NADH σε NAD⁺ και η περαιτέρω ενίσχυση της αναερόβιας γλυκόλυσης. Το οξαμικό οξύ αποτελεί συνένζυμο που επιβραδύνει την παραπάνω αντίδραση. (Ανατύπωση από: Shi Y, Pinto BM. Human lactate dehydrogenase a inhibitors: a molecular dynamics investigation. Shi Y, Pinto BM. PLoS One. 2014 Jan 17;9(1):e86365).

LDH ΚΑΙ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ

Οι δημοσιευμένες μελέτες που αφορούν την τιμή της LDH στον ορό του αίματος σε σχέση με διάφορες πνευμονικές παθήσεις είναι πολύ λίγες, και ακόμη λιγότερες είναι εκείνες στις οποίες έχουν μετρηθεί και τα ισοένζυμα LDH. Μία σύνοψη των πνευμονικών παθήσεων που προκαλούν

αλλοιώσεις στις τιμές της LDH με κατά κύριο λόγο αύξηση, παρουσιάζεται παρακάτω (ΠΙΝΑΚΑΣ 2).

ΠΙΝΑΚΑΣ 2: Πνευμονικές παθήσεις που σχετίζονται με αυξημένη δραστηριότητα LDH ορού.

ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΠΑΘΗΣΗ	ΚΥΡΙΑ ΠΑΘΟΓΕΝΕΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ
ΑΠΟΦΡΑΚΤΙΚΟΥ ΤΥΠΟΥ και ΛΟΙΠΕΣ	
Εμφύσημα	
Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (Χ.Α.Π.)	Κυτταρική βλάβη ή κυτταρικός θάνατος
Πνευμοθώρακας	
Πνευμονική εμβολή	
ΛΟΙΜΩΞΕΙΣ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟΥ	
Βρογχίτιδα- Πνευμονία	
Φυματίωση	φλεγμονή
Λοίμωξη από <i>pneumocystis carinii</i>	
ΔΙΑΜΕΣΕΣ ΠΝΕΥΜΟΝΟΠΑΘΕΙΕΣ	
Αποφωλιδοτική διάμεση πνευμονία	
Ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση	
Πνευμονίτιδα εξ υπερευαισθησίας-Εξωγενής	
αλλεργική κυψελιδίτιδα	Φλεγμονή και/ή κυτταρική βλάβη, μετασχηματισμός (remodeling)/ Ίνωση
Φαρμακευτική πνευμονίτιδα	
Κυψελιδική πρωτεΐνωση	
Πνευμονοκονίωση-Πυριτίαση	
Οξύ σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας	

(Ανατύπωση από: Drent M, Cobben NA, Henderson RF, Wouters EF, van Dieijen-Visser M. Usefulness of lactate dehydrogenase and its isoenzymes as indicators of lung damage or inflammation. Eur Respir J. 1996 Aug;9(8):1736-42).

Κοινό σημείο όλων αυτών των παθήσεων που μπορεί να συσχετισθεί με τις αλλοιώσεις των τιμών της LDH, είναι ο κυτταρικός θάνατος και η φλεγμονή χωρίς όμως να έχει ερευνηθεί η παθοφυσιολογία και ο μεταβολισμός της LDH και των ισοενζύμων της εκτός του πνευμονικού παρεγχύματος. Σε σχέση με το πνευμονικό παρέγχυμα φαίνεται ότι στις παθήσεις του αναπνευστικού οι μεταβολές της LDH συμβαίνουν λόγω: 1) λύσης (νέκρωσης) των αναπνευστικών και/ή κυψελιδικών επιθηλιακών κυττάρων, μακροφάγων, 2) διαταραχών και αλλαγών στη διαπερατότητα της κυψελιδοτριχοειδικής μεμβράνης στα πλαίσια τραυματισμού του πνευμονικού παρεγχύματος (όπως οίδημα ή αιμορραγία), και 3) αύξησης της διαφοράς συγκέντρωσης της LDH μεταξύ κυψελίδας και αίματος[4].

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

Η μόνη μετα-ανάλυση που συσχετίζει την LDH με πάθηση εκ του αναπνευστικού συστήματος, αφορά την ποσοτική ανασκόπηση μέτρησης διαφόρων βιοχημικών δεικτών σε ασθενείς με οξύ

σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας (acute respiratory distress syndrome- ARDS) και τη θνησιμότητά τους από αυτή. Συγκεκριμένα τα κλινικά αποτελέσματα αφορούσαν 1) διάγνωση ARDS στον πληθυσμό με επικινδυνότητα εκδήλωσης της νόσου και 2) θνητότητα των ασθενών με ARDS. Συμπεριλήφθηκαν 54 μελέτες για ένα σύνολο 3753 ασθενών. Απομονώθηκαν 20 βιοδείκτες για τη σχέση τους για την περίπτωση ARDS σε άτομα με επικινδυνότητα εκδήλωσης της νόσου, και 19 σχετικά με τη θνησιμότητα από ARDS. Η LDH προέκυψε με υψηλή συσχέτιση (odds ratio [95%],5.7 [1.7-19.1]) με την πιθανότητα ARDS στον πληθυσμό με επικινδυνότητα εκδήλωσης της νόσου[5]

Σε συνολικό πληθυσμό 87 ατόμων (58 υγιών και 29 με Χ.Α.Π.) μετρήθηκαν ένζυμα που έχουν σχέση με τον μεταβολισμό των αμινοξέων και κατ' επέκταση τη μυϊκή λειτουργία (όπως οι τρανσαμινάσες ασπαρτάτου- AST και αλανίνης- ALT), και ένζυμα σε σχέση με το οξειδωτικό stress και τη φλεγμονή (όπως LDH και αλκαλική φωσφατάση- ALP). AST και ALT προέκυψαν σημαντικά ελαττωμένες, και η LDH αυξημένη στους ασθενείς με Χ.Α.Π. σε σχέση με τους υγιείς μη καπνιστές. Η LDH προέκυψε στατιστικά σημαντικά ($p < 0,05$) ψηλότερη στη Χ.Α.Π. με συμμετρική κατανομή και απόκλιση από τη μέση τιμή των φυσιολογικών $\sim 7.5\%$ και το 50% των ασθενών με Χ.Α.Π. να έχει LDH με εντονότερη καταλυτική λειτουργία, γεγονός που μπορεί να οφείλεται στη χρόνια υποξαιμία και στην χρήση μεγαλύτερων ποσοτήτων γαλακτικού ως υπόστρωμα για την LDH[2].

Σε δείγμα 43 ασθενών με Χ.Α.Π. (με υποομάδες σε διαφορετικά στάδια της νόσου) σε σταθερή κατάσταση, μετρήθηκαν η FEV₁, ο δείκτης μάζας σώματος (body mass index- BMI), ο βαθμός και η LDH με τα ισοένζυμά της. Στο 75% των ασθενών παρατηρείται αύξηση της τιμής της LDH (361 ± 59) χωρίς να σχετίζεται με τη βαρύτητα της Χ.Α.Π., ενώ προκύπτει αύξηση των τιμών της LDH₃, LDH₄ και μείωση των τιμών LDH₁, LDH₂. Στατιστικά σημαντική προκύπτει μόνο η συσχέτιση της LDH₃ με την hs-CRP όπου είναι μέτρια θετική ($r=0.33$, $p:0.01$)[7].

Σε άλλη μελέτη σε σύνολο 178 ασθενών με μέτρια ή σοβαρή Χ.Α.Π. μετρήθηκε η LDH σε σχέση με την ηλικία, τη FEV₁, το συντελεστή διάχυσης (TL_{CO}), το βαθμό δύσπνοιας (mMRC dyspnea scale), το δείκτη μάζας σώματος (BMI), το δείκτη μάζας λίπους (fat free mass index- FFMI), δοκιμασία βάδισης 6 λεπτών (6 minute walking distance- 6MWD), και αίσθημα δύσπνοιας κατά Borg score. 30 ασθενείς (16.9%) είχαν αυξημένη LDH ορού (>480U/l) ενώ δε βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές όσον αφορά την ηλικία, την πνευμονική λειτουργία και την σωματική σύνθεση, μεταξύ των ασθενών με χαμηλή και υψηλή LDH. Στατιστικά σημαντική προέκυψε ανάμεσα στους ασθενείς με υψηλή και χαμηλή LDH, η δοκιμασία 6MWD ($p=0.0016$, $r:-0.29$) αλλά και η δύσπνοια mMRC ($p=0.05$), όπου βρέθηκε αυξημένη σε ασθενείς με υψηλότερη LDH[8].

Άλλη μελέτη μετρήσε τη συνολική LDH και τα ισοένζυμα της από βιοψία στον τετρακέφαλο μυ, με ηλεκτροφόρηση σε γέλη αγαρόζης, σε 18 ασθενείς με Χ.Α.Π. και 10 υγιείς μη καπνιστές. Έγινε ακόμη

λειτουργικός έλεγχος αναπνευστικού και 6MWD. Υγιείς και ασθενείς είχαν παρόμοιες τιμές συνολικής LDH και των ισοενζύμων αυτής. Σε υποομάδα 5 ασθενών (γυναίκες με μειωμένη οξυγόνωση) βρέθηκαν υψηλές τιμές LDH₁, LDH₂, LDH₃ και μειωμένες τιμές LDH₅. Η LDH₅ σχετίζεται άμεσα με τη δοκιμασία 6MWD και το βαθμό οξυγόνωσης, ενώ το ποσοστό των μυϊκών ινών τύπου ΙΙΑ σχετίστηκε θετικά με τις συγκεντρώσεις των LDH₃-LDH₄, και το ποσοστό των μυϊκών ινών ΙΙΧ αρνητικά με τη συγκέντρωση της LDH₃. Συμπερασματικά η μέτρηση των ισοενζύμων ανέδειξε υποομάδα ασθενών Χ.Α.Π. με ψηλότερη συγκέντρωση καρδιακών ισοενζύμων και χαμηλότερη μυϊκών ισοενζύμων, μία κατάσταση που οδηγεί σε προσαρμογή υπέρ του αερόβιου μεταβολισμού[9].

Επίσης έχει γίνει ο προσδιορισμός των ισοενζύμων LDH και σε ασθενείς με χρόνια βήχα. Σε 83 ασθενείς με χρόνια βήχα (με βάση τα συμπτώματα συμπληρώνοντας το Hull Airway Reflux Questionnaire -HARQ), μετρήθηκαν η συνολική LDH, τα ισοένζυμα LDH στον ορό, οι FEV₁ –FVC και σε ορισμένους η κρεατιν- κινάση (CK). 42% των ασθενών είχαν τιμές LDH άνω του ανώτερου φυσιολογικού, και 78% στο ανώτερο ¼ του διαστήματος των φυσιολογικών τιμών και πάνω. Η αυξημένη τιμή LDH οφείλεται στην αύξηση όλων των ισοενζύμων, αλλά κυρίως των LDH₄ και LDH₅. Η αυξημένη LDH επιβεβαιώθηκε με νέα μέτρηση 8 μήνες μετά, ενώ σε σχέση με τη CK υπήρξε ασθενής θετική συσχέτιση, και καμία συσχέτιση με τις σπιρομετρικές τιμές[38].

Η LDH και τα ισοένζυμά της μετρήθηκαν και σε 201 πρώην ανθρακωρύχους με διάρκεια έκθεσης στον άνθρακα άνω των 20 ετών, ενώ μετρήθηκαν και η FEV₁ και τα ηπατικά ένζυμα. Οι τιμές της LDH ήταν υψηλές στο 79,1% του δείγματος (634±245 U/l). Ακόμη στα 196 από τα 201 άτομα (97.5%) μετρήθηκε υψηλή τιμή LDH₃ (31±4 %). Μέση αρνητική συσχέτιση βρέθηκε μεταξύ FEV₁ – LDH (r= -0.26, p< 0.001), αλλά και μεταξύ FEV₁- LDH₃ (r= -0.23, p< 0.001) ακόμη και στο γκρουπ του δείγματος (n=42) με φυσιολογικό LDH. Οι τιμές των ηπατικών ενζύμων ήταν εντός των φυσιολογικών ορίων[39].

Σε παιδιατρικό πληθυσμό με πνευμονία από μυκόπλασμα έγινε μέτρηση της LDH και των ισοενζύμων της, όπου 54 ασθενείς προέκυψαν με διάγνωση μη ανθιστάμενης πνευμονίας και 16 με διάγνωση ανθιστάμενης πνευμονίας όπου το δεύτερο γκρουπ ανέδειξε στατιστικά υψηλότερες τιμές LDH σε σχέση με το πρώτο (AUC: 0.812 , με ευαισθησία 75% και ειδικότητα 72.2% για τιμή cut off 408 IU/l). Επίσης στο γκρουπ των ασθενών μετρήθηκαν χαμηλότερες τιμές ποσοστών LDH₁- LDH₂, και υψηλότερες τιμές ποσοστών LDH₄- LDH₅, όπου οι μετρήσεις AUC για LDH₄, LDH₅ και LDH₄ +LDH₅ ήταν 0.813, 0.818 και 0.829 αντίστοιχα[40].

Η LDH και τα ισοένζυμα της μετρήθηκαν μέσω ηλεκτροφόρησης σε γέλη αγαρόζης και στον ορό 94 νεογνών παρόμοιου βάρους και χρόνου κήσεως, 64 από αυτά με αναπνευστική πάθηση και 30

υγιή. Σε 23 με πολύ σοβαρή νόσο και χρήση επεμβατικού αερισμού, μετρήθηκε η LDH και τα ισοένζυμα αυτής και στις βρογχικές εκκρίσεις. Οι LDH₁ –LDH₂ βρέθηκαν μειωμένες, και οι LDH₄-LDH₅ στατιστικά σημαντικά αυξημένες στον ορό των νεογνών με αναπνευστική δυσχέρεια σε σχέση με τα υγιή. Στα νεογνά όπου μετρήθηκε η LDH στον ορό και στις βρογχικές εκκρίσεις παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές χαμηλότερες τιμές LDH₂- LDH₃ και υψηλότερες τιμές LDH₅ στις βρογχικές εκκρίσεις σε σχέση με τον ορό, με θετική συσχέτιση των τιμών LDH₅ για τα δύο δείγματα[41].

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της μελέτης που θα ακολουθήσει είναι να μπορέσει να βρεθεί ένας βιοχημικός δείκτης που θα μπορούσε να διακρίνει μία παρόξυνση σε έναν ασθενή με Χ.Α.Π. επί εδάφους λοιμώξεως αναπνευστικού, από μία απλή λοίμωξη αναπνευστικού σε έναν κατά τα άλλα υγιή ασθενή από το αναπνευστικό. Γιατί κάτι τέτοιο είναι σημαντικό; Υπάρχει μεγάλο ποσοστό αδιάγνωστων ασθενών με Χ.Α.Π. -χρόνιων καπνιστών που θα μπορούσαν να διαγνωσθούν μέσα από έναν απλό εργαστηριακό έλεγχο τη στιγμή της λοίμωξης, και ακόμη γιατί ένας τέτοιος δείκτης θα μπορούσε να διακρίνει σε ήδη διαγνωσμένους ασθενείς με Χ.Α.Π. εάν κατά τη διάρκεια ενός επεισοδίου φλεγμονώδους διαδικασίας κυριαρχεί το στοιχείο της λοίμωξης ή της παρόξυνσης.

Όπως περιγράφηκε και στο γενικό μέρος η παρόξυνση της Χ.Α.Π. χαρακτηρίζεται από την εξέλιξη φλεγμονώδους διαδικασίας η οποία κατά κύριο λόγο οφείλεται σε λοιμώξεις αναπνευστικού και σπανιότερα σε άλλες αιτίες. Γι' αυτό και κλινικά χαρακτηρίζεται από αύξηση της συμπτωματολογίας του βήχα και της απόχρεμψης ενώ και εργαστηριακά επιβεβαιώνεται το στοιχείο της λοίμωξης και της φλεγμονής αφού η CRP, ο δείκτης ο οποίος έχει μελετηθεί περισσότερο από κάθε άλλον, παρουσίασε ανάλογα αποτελέσματα στις διάφορες μελέτες που έχουν γίνει, με στατιστικά σημαντική αύξηση κατά τη διάρκεια της παρόξυνσης της Χ.Α.Π. σε σχέση με τη σταθερή Χ.Α.Π. και με υγιή (control) πληθυσμό, ένας δείκτης ο οποίος είναι ο πλέον αξιόπιστος και στη διάγνωση κοινών λοιμώξεων αναπνευστικού σε υγιή άτομα. Οι βιοχημικοί δείκτες που χρησιμοποιούνται αλλά και αυτοί που έχουν μελετηθεί για τον προσδιορισμό των παροξύνσεων Χ.Α.Π. είναι δείκτες που σχετίζονται με τη διαδικασία της φλεγμονής και της λοίμωξης, και παρουσιάζονται αυξημένοι και σε υγιείς πληθυσμούς όταν βρίσκονται σε φάση λοίμωξης ή οξείας φλεγμονής. Από τη στιγμή που το στοιχείο της φλεγμονής είναι κοινό και στις δύο περιπτώσεις, θα πρέπει να μελετηθούν βιοχημικοί δείκτες που εκφράζουν χαρακτηριστικά τα οποία διαφέρουν ανάμεσα στις δύο ομάδες. Ποια θα μπορούσαν να είναι αυτά τα χαρακτηριστικά; Όπως έχει περιγραφεί, σε μία παρόξυνση Χ.Α.Π. συμβαίνουν αλλαγές στον αερόβιο και αναερόβιο μεταβολισμό, μπορεί να παρουσιαστεί επιδείνωση της δύσπνοιας, και μεταβολές στην καρδιαγγειακή λειτουργία. Ποιοι θα μπορούσαν να είναι οι βιοχημικοί δείκτες που δεν εμπεριέχουν μόνο το στοιχείο της λοίμωξης αλλά και ορισμένα από τα ανωτέρω χαρακτηριστικά; Η LDH και τα ισοένζυμα της όπως προαναφέρθηκε είναι εκτός από δείκτες φλεγμονής, και δείκτες μεταβολισμού, αναερόβιας και αερόβιας λειτουργίας, όπως και δείκτες καρδιαγγειακής λειτουργίας. Συνεπώς η παρόξυνση της Χ.Α.Π., και η LDH και τα ισοένζυμα της, σχετίζονται με κάποια κοινά χαρακτηριστικά, όπου μέσα από μελέτη πληθυσμών, θα μπορούσε να διερευνηθεί και η πιθανή ποσοτική τους συσχέτιση. Από τα αποτελέσματα της μελέτης αναμένεται κάποια πιθανή στατιστική διαφορά στις τιμές κάποιων εκ των ισοενζύμων LDH ή και τις ολικής ανάμεσα στις παροξύνσεις Χ.Α.Π. και στις λοιμώξεις αναπνευστικού, αλλά και κάποιος βαθμός συσχέτισης με την καπνιστική

συνήθεια, με τον βαθμό της Χ.Α.Π., με το βαθμό δύσπνοιας, με τα επιδημιολογικά στοιχεία, ή με άλλους εργαστηριακούς δείκτες όπως δείκτες φλεγμονής ή τιμές αερίων αρτηριακού αίματος.

ΥΛΙΚΟ και ΜΕΘΟΔΟΣ

Με βάση τα παραπάνω ερωτήματα διενεργήθηκε συγκριτική συγχρονική μελέτη για ένα σύνολο ατόμων που συμπεριλάμβανε ασθενείς με γνωστή Χ.Α.Π. και οι οποίοι βρίσκονταν σε παρόξυνση, και ασθενείς με λοίμωξη αναπνευστικού οι οποίοι δεν έπασχαν από Χ.Α.Π. Όλο το σύνολο των ασθενών εισήχθη στο νοσοκομείο για νοσηλεία λόγω οξείας και σοβαρής κλινικής εικόνας στα πλαίσια βαρειάς λοίμωξης ή παρόξυνσης Χ.Α.Π. Η μελέτη στηρίχθηκε κυρίως σε πληροφοριακό έντυπο και στη συλλογή ορού αίματος για την εξαγωγή εργαστηριακών ευρημάτων, το οποίο ελήφθη και μετρήθηκε στις περισσότερες περιπτώσεις κατά την εισαγωγή,

ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑΚΟ ΕΝΤΥΠΟ

Το πληροφοριακό έντυπο συμπληρωνόταν αρχικά είτε γραπτώς από τον ίδιο τον ασθενή είτε από τον θεράπων ιατρό που λάμβανε μέρος στην έρευνα και που έγραφε τις προφορικές απαντήσεις τις οποίες έδινε ο ασθενής μετά από προφορικές ερωτήσεις. Σε ορισμένες περιπτώσεις λόγω αδυναμίας επικοινωνίας με τον ασθενή η συμπλήρωση του πληροφοριακού εντύπου γινόταν από άτομα του οικείου περιβάλλοντος τα οποία είχαν πλήρη γνώση του ατομικού αναμνηστικού του ασθενούς αλλά και της πρόσφατης κλινικής εικόνας του που τον οδήγησε στο νοσοκομείο. Μετά τη συμπλήρωση του ερωτηματολογίου από τον ασθενή ή τους οικείους του, συμπληρώνονταν από τον ιατρό εργαστηριακά αποτελέσματα, αέρια αρτηριακού αίματος εφόσον είχαν ληφθεί, και διάγνωση εξόδου. Το συγκεκριμένο έντυπο με την ονομασία “ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΑΣΘΕΝΟΥΣ” παρατίθεται στο **ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1**. Στην κορυφή του ερωτηματολογίου συμπληρωνόταν από τον ιατρό το ΑΜ (αριθμός μητρώου νοσοκομείου), και το ΝΟΣ. που εξέφραζε την ημερομηνία εισαγωγής. Κατωτέρω συμπληρωνόταν το τηλέφωνο του ασθενούς ή κάποιου εκ των συνοδών, ενώ εν συνεχεία συμπληρωνόντουσαν Όνομα, Επώνυμο, ύψος, βάρος και ηλικία. Ακολούθως δίνονταν απαντήσεις στο ερώτημα της πιθανής καπνιστικής συνήθειας, όπου η μέτρησή της έγινε σε pack/years δηλ. στον αριθμό των πακέτων που καπνίζει καθημερινά επί το σύνολο των ετών καπνίσματος. Έτσι προέκυπταν νυν καπνιστές, πρώην καπνιστές και μη καπνιστές εφ’όρου ζωής. Σημαντικό ρόλο έπαιζε και η ερώτηση ιστορικού για συνύπαρξη άλλης νόσου-ων. Μετά την εισαγωγή των συνοσηροτήτων τέθηκε το ερώτημα των φαρμάκων που λάμβανε ο ασθενής, ενώ ακολούθως ερωτίτω εάν πάσχει από άσθμα ή ΧΑΠ. Σε περίπτωση θετικής απάντησης ο καθένας ρωτήθηκε εάν έχει κάνει ποτέ λειτουργικό έλεγχο αναπνευστικού (σπιρομέτρηση –καμπύλη ροής όγκου και διάχυση), και αν ναι πριν πόσο καιρό ενώ αναγράφονταν τα αποτελέσματα- τιμές των FEV₁ (forced expiratory volume in 1 sec ή βίαιος εκπνεόμενος όγκος στο 1 δευτερόλεπτο), FVC (forced vital capacity ή βίαια ζωτική

χωρητικότητα), FEV₁/FVC και FEF₂₅₋₇₅ (forced expiratory flow from 25% to 75% of vital capacity ή βίαια εκπνεόμενη ροή από το 25% έως το 75% της ολικής βίαιης ζωτικής χωρητικότητας), και τα ποσοστά των FEV₁, FVC, και FEF₂₅₋₇₅ επί των φυσιολογικών τιμών. Επίσης σε όσους ασθενείς είχε γίνει διάχυση (TL_{CO}) αναγραφόταν η απόλυτη τιμή αυτής και το ποσοστό της ως προς τη φυσιολογική, όπως και η τιμή της ολικής πνευμονικής χωρητικότητας (TLC – total lung capacity) η οποία είχε μετρηθεί με τη μέθοδο sample volume μέσω του αερίου μεθανίου κατά τη διάρκεια της διάχυσης. Εν συνεχεία απαντούσε στην ερώτηση σχετικά με το πόσες παροξύνσεις είχε ανά έτος, δηλαδή σχετικά με το πόσα επεισόδια είχε με αυξημένη δύσπνοια, βήχα ή απόχρεμψη ανά έτος τα τελευταία δύο έτη, ή πόσες φορές χρειάστηκε να νοσηλευτεί τα τελευταία 2 χρόνια λόγω της νόσου της Χ.Α.Π. ή λόγω λοιμώξεως από το αναπνευστικό. Κατόπιν υπήρχε η ένδειξη του CAT score και των αερίων αίματος (ABG's) τα οποία συμπληρωνόντουσαν από τον ιατρό μετά την ολοκλήρωση του ερωτηματολογίου προς τον ασθενή. Στη συνέχεια ο κάθε ασθενής ρωτήθηκε σχετικά με το βαθμό δύσπνοιας που είχε προ της οξείας κατάστασης με σκοπό τη βαθμολόγηση του με βάση την mMRC dyspnea scale, δηλαδή εάν δεν είχε καθόλου δύσπνοια επί κοπιώδους προσπάθειας (βαθμός 0), εάν είχε δύσπνοια όταν περπατούσε γρήγορα ή ανέβαινε σε ανηφορικό επίπεδο (βαθμός 1), βιάδιζε αργότερα από τους συνοδοιπόρους του σε επίπεδο έδαφος λόγω δύσπνοιας ή σταματούσε για αναπνοή όταν περπατούσε με τη δική του ταχύτητα (βαθμός 2), σταματούσε για αναπνοή, μετά διαδρομή περίπου 100 μέτρων, ή μετά λίγα λεπτά βιάδιση επί οριζοντίου επιπέδου (βαθμός 3) ή ήταν δυσπνοϊκός και απέφυγε να απομακρυνθεί από το σπίτι του ή δυσπνοούσε όταν ντυνόταν ή ξεντυνόταν (βαθμός 4). Τέλος ο ασθενής ερωτήθηκε σχετικά με ενδεχόμενες συνοσηρότητες οι οποίες αναγράφονταν, και ο ασθενής έπρεπε να υπογραμμίσει την πιθανή νόσο από την οποία έπασχε. Αφού είχε συμπληρωθεί το ερωτηματολόγιο και αφού είχε παραδοθεί, ο ιατρός συμπλήρωνε στο τέλος της σελίδας τη διάγνωση εξόδου του ασθενή, και τα αποτελέσματα του εργαστηριακού ελέγχου τα οποία συνέπιπταν με το δείγμα το οποίο είχε σταλεί για την ηλεκτροφόρηση των ισοενζύμων LDH.

Οι συγκεκριμένες πιθανές συνοσηρότητες οι οποίες αναγράφονταν στην τελευταία σελίδα του ερωτηματολογίου, ήταν σημαντικό να διαβαστούν και ενδεχομένως να υπογραμμισθούν από τον ασθενή, γιατί θεωρείται ότι θα μπορούσαν να επηρεάσουν το τελικό ισομορφικό αποτέλεσμα της ηλεκτροφόρησης των ισοενζύμων της LDH, έτσι ασθενείς με κάποια από αυτά τα νοσήματα θα έπρεπε να αποκλεισθούν από την περαιτέρω έρευνα. Τα νοσήματα τα οποία συμπεριλαμβάνονταν στη συγκεκριμένη λίστα ήταν τα εξής: Βρογχεκτασίες ή κυστική ίνωση, πρόσφατο έμφραγμα μυοκαρδίου (λιγότερο από δύο εβδομάδες), μυϊκή δυστροφία, αιμόλυση ή αιμολυτική αναιμία, μεγαλοβλαστική ή δρεπανοκυτταρική αναιμία, πνευμονικά ή νεφρικά εμφράγματα, πρόσφατη πνευμονική εμβολή (λιγότερο από 3 μήνες), σοβαρές ηπατικές νόσοι όπως κίρρωση ή αποφρακτικός ίκτερος ή ιογενής ηπατίτιδα, βαρύς αλκοολισμός, ενεργές διαταραχές του κολλαγόνου, ενεργός λοίμωξη πέραν του αναπνευστικού, εντερική απόφραξη, σοβαρές αιματολογικές νόσοι (λεμφώματα, λεμφοκυτταρική

λευχαιμία), σοβαρή καρδιακή ανεπάρκεια, κατάγματα ή σοβαρός τραυματισμός σκελετικών μυών, ενεργές νεοπλασίες-καρκίνος.

ΣΥΝΟΣΗΡΟΤΗΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟ ΙΣΟΜΟΡΦΙΚΟ PATTERN ΤΩΝ ΙΣΟΕΝΖΥΜΩΝ LDH

Πιθανοί ασθενείς με βρογχεκτασίες και κυστική ίνωση θα έπρεπε να αποκλειστούν από τη μελέτη με το δεδομένο ότι θα μπορούσαν να επηρεάσουν το αποτέλεσμα μεταξύ πληθυσμού αναφοράς και ασθενών με παροξύνσεις. Εξάλλου μεγάλο ποσοστό ασθενών με κυστική ίνωση αλλά και με έντονες βρογχεκτασίες χαρακτηρίζονται από αποφρακτικό σύνδρομο, κάτι που θα δημιουργούσε σύγχυση στο διαχωρισμό των δύο πληθυσμών που διαχωρίζονται αυστηρά σε αποφρακτικούς με παρόξυνση Χ.Α.Π. και σε μη αποφρακτικούς με λοιμώξεις αναπνευστικού. Συγκεκριμένες μεταβολές στο ισομορφικό πρότυπο –pattern των ισοενζύμων LDH μπορούν να μας δώσουν πληροφορίες για πιθανό τραυματισμό του μυοκαρδίου. Έτσι μία αναστροφή της LDH_1/LDH_2 από <1 σε >1 είναι διαγνωστική οξέως εμφράγματος του μυοκαρδίου, όπου η ολική LDH και η LDH_1 αρχίζουν και αυξάνονται 5 με 10 ώρες μετά την έναρξη του επεισοδίου, φτάνοντας στις ψηλότερες τιμές 60 με 144 ώρες μετά, και επιστρέφοντας στις φυσιολογικές τιμές μετά από 12 μέρες. Αλλά και σε σοβαρές καρδιακές νόσους χωρίς την ύπαρξη οξέως εμφράγματος οι τιμές των LDH, LDH_1 , όπως και άλλων ενζύμων (ασπαρατικής αμινοτρανσφεράσης και κρεατιν- κινάσης) μπορεί να είναι σημαντικά διαφορετικές από τη φυσιολογική[42]. Η αύξηση της LDH_1 είναι αυτή που διαφοροποιεί στο ισομορφικό πρότυπο της LDH το θωρακικό άλγος από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου σε σύγκριση με θωρακικό άλγος άλλου τύπου ή από άλλα έμφρακτα όπως το πνευμονικό και την πνευμονική εμβολή, όπου παρατηρείται η αύξηση της LDH_3 σε σχέση με τα υπόλοιπα ισοένζυμα[4,42]. Η LDH παρουσιάζεται αυξημένη και στις νεοπλασίες διαφόρων ειδών, με πολύ σημαντική αύξηση σε αιματολογικής αιτιολογίας κακοήθειες όπως στα λεμφώματα και στις λευχαιμίες. Σε νεοπλασίες μαζί με την αύξηση της συνολικής LDH παρουσιάζεται και μία αύξηση των ισοενζύμων όπου επικρατεί η αναερόβια δραστηριότητα, δηλαδή των LDH_4 και LDH_5 σε σχέση με τα υπόλοιπα ισοένζυμα[43]. Το αναερόβιο στοιχείο φαίνεται να είναι αυτό που προωθεί την εξέλιξη και τον πολλαπλασιασμό των κακοήθων κυττάρων, και βρίσκονται σε εξέλιξη μοριακές τεχνικές που οδηγούνε στην επιβράδυνση της εξέλιξης του καρκίνου μέσα από την ενεργοποίηση χημικών ουσιών που δρουν ως αναστολείς της LDH-A, της υπομονάδας M (muscle) των ισοενζύμων LDH[3]. Διάφορες αναιμίες, αιμολυτικές και η δρεπανοκυτταρική συνδέονται με αλλοιώσεις στην τιμή της LDH οι οποίες γίνονται πιο εμφανείς σε περίπτωση απόφραξης των αιμοφόρων αγγείων[44]. Η ολική LDH επίσης προκύπτει αρκετά αυξημένη σε νόσους με μυϊκή δυστροφία (όπως η μυϊκή δυστροφία του Duchenne) ενώ κάτι ανάλογο δε φαίνεται να συμβαίνει σε αταξινόμητες μυοπάθειες. Η βιοψία των σκελετικών μυών δείχνει μια μείωση της LDH_5 με συνοδό αύξηση των LDH_1 και LDH_2 [45]. Σε σχέση με τα κολλαγονικά

νοσήματα φαίνεται να αυξάνεται η LDH₃ σε σχέση με τα άλλα ισοένζυμα, ενώ προκύπτει και πιθανός συσχετισμός μεταξύ επιπέδων τιμών LDH₃ και προόδου νόσου[46]. Τέλος δύο βασικά όργανα τα οποία μπορούν να επηρεάσουν την ποσότητα της LDH είναι το ήπαρ και οι νεφροί. Σοβαρή ηπατική ανεπάρκεια που μπορεί να συσχετισθεί με ηπατίτιδα, κίρρωση, ασκίτη, ακόμη και περιτονίτιδα, σχετίζεται με αύξηση των τιμών της LDH, ενώ η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, κυρίως τα τελικά στάδια αυτής όπως εκείνα τα οποία χρήζουν αιμοδιάλυσης, σχετίζεται με αύξηση των τιμών της LDH όπου κυριαρχεί το ισομορφικό πρότυπο –pattern[47].

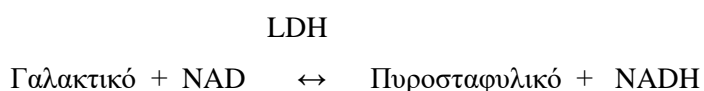
ΣΥΛΛΟΓΗ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ

Το δεύτερο μέρος συλλογής δεδομένων περιλάμβανε την εξαγωγή των αποτελεσμάτων εργαστηριακών δεικτών. Αυτή επιτεύχθηκε από τη λήψη δείγματος αίματος όλων των ασθενών στο μεγαλύτερο ποσοστό εξ' αυτών κατά την πρώτη ημέρα εισαγωγής στο νοσοκομείο. Ταυτόχρονα με τη λήψη αίματος για βιοχημικούς και αιματολογικούς δείκτες γινόταν και λήψη αερίων αρτηριακού αίματος. Η λήψη αίματος περιλάμβανε δύο δείγματα: Ένα δείγμα προς ανάλυση γενικής αίματος και ένα δείγμα προς ανάλυση βιοχημικών δεικτών (ορός αίματος), το οποίο μετέπειτα χρησιμοποιόταν για την μέτρηση των ισοενζύμων LDH μέσω ηλεκτροφόρησης. Από το δείγμα της γενικής αίματος χρησιμοποιήθηκαν για την στατιστική ανάλυση των δεδομένων ο απόλυτος αριθμός συνολικά των λευκών αιμοσφαιρίων, όπως επίσης ο απόλυτος αριθμός αλλά και η ποσοστιαία τιμή (επί του συνόλου των λευκών αιμοσφαιρίων) των πολυμορφοπύρηνων (ουδετερόφιλων) κυττάρων. Από το δείγμα του ορού όπου εξάχθηκαν διάφοροι βιοχημικοί δείκτες (οι οποίοι και χρησιμοποιήθηκαν στα πλαίσια της νοσηλείας για την αντιμετώπιση και την κλινική πορεία του ασθενούς) για τη στατιστική ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκαν: η συνολική LDH ορού, η C –αντιδρώσα πρωτεΐνη (C reactive protein -CRP), η κρεατίν- φωσφοκινάση (creatine phosphokinase- CPK), και η τροπονίνη I.

ΤΕΧΝΙΚΗ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗΣ ΙΣΟΕΝΖΥΜΩΝ LDH

Κατόπιν ο ορός του αίματος για τον κάθε ασθενή φυλασσόταν σε θερμοκρασία 2 έως 6°C για διάστημα το πολύ έως 48 ωρών. Χρησιμοποιήθηκε ΚΙΤ ισοενζύμων LDH το οποίο περιείχε 10 gel x 12 test, συνεπώς εντός 48ώρου γινόταν η συγκομιδή έως 12 δειγμάτων τα οποία κατόπιν έπρεπε να αναλυθούν και να ηλεκτροφορηθούν. Χρησιμοποιήθηκε το ΚΙΤ ισοενζύμων LD Vis-12 SAS-1 της HELENA Biosciences Europe το οποίο προορίζεται για το διαχωρισμό και τον ποσοτικό προσδιορισμό των ισοενζύμων της γαλακτικής αφυδρογονάσης στον ορό ή το πλάσμα μέσω ηλεκτροφόρησης πηκτωμάτων αгарόζης. Το κάθε ΚΙΤ αποτελείται από: 1) Πήκτωμα ισοενζύμων LD SAS-1 το οποίο περιέχει αгарόζη σε ρυθμιστικό διάλυμα βαρβιτάλης με οξίδιο του νατρίου ως συντηρητικό, 2) αντιδραστήρια ισοενζύμων LDH όπου περιέχει εκείνα τα συστατικά που απαιτούνται για την ταυτοποίηση των ισοενζύμων της γαλακτικής αφυδρογονάσης σύμφωνα με την αλληλουχία

αντιδράσεων που αναφέρεται στην **ΕΙΚΟΝΑ 3**, 3) διάλυμα αραίωσης ισοενζύμων LDH όπου περιέχει ρυθμιστικό διάλυμα AMP, βαρβιτάλης, βικίνης, και ασπαραγινικό με αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό, και 4) λοιπά συστατικά όπως στυπόχαρτα Β και C, καθώς και αρκετές μεμβράνες διάχυσης αντιδραστήριου για τη χρήση 10 πηκτωμάτων. Κάθε ισοένζυμο γαλακτικής αφυδρογονάσης χαρακτηρίζεται από έναν αριθμό που σχετίζεται με την ηλεκτροφορητική του κινητικότητα. Το ταχύτερα κινούμενο κλάσμα (πιο ανοδικό) είναι η LDH₁ ενώ το κλάσμα που κινείται πιο αργά (πιο καθοδικό) είναι η LDH₅, με τα ισοένζυμα LDH₂, LDH₃, και LDH₄, να είναι ενδιάμεσης κινητικότητας (με το LDH₂ να είναι πιο κινητικό από την LDH₃ και ούτω καθεξής). Η ταχύτερη ζώνη (LDH₁) μετακινείται με τρόπο παρόμοιο με εκείνο των α₁-σφαιρινών και η πιο αργή ζώνη (LDH₅) μετακινείται με τις γ-σφαιρίνες. Τα ισοένζυμα της γαλακτικής αφυδρογονάσης προσδιορίζονται με διάφορες μεθόδους. Η ηλεκτροφόρηση παρέχει πολύ περισσότερες πληροφορίες από τις άλλες μεθόδους διότι επιτρέπει τον πλήρη διαχωρισμό και των πέντε ισοενζύμων, χωρίς να υπάρχει κίνδυνος επιμόλυνσης. Τα υποστηρικτικά μέσα που χρησιμοποιούνται στην ηλεκτροφόρηση περιλαμβάνουν οξική κυτταρίνη, άγαρ, καθώς και πηκτώματα αγαρόζης και ακρυλαμιδίου. Το ΚΙΤ ισοενζύμων LD Vis-12 SAS-1 χρησιμοποιεί μια παραλλαγή της μεθόδου του Preston και διαχωρίζει τα ισοένζυμα της γαλακτικής αφυδρογονάσης με βάση την κινητικότητά τους σε πήκτωμα αγαρόζης. Οι ζώνες των ισοενζύμων γίνονται κατόπιν ορατές με ένα χρωματομετρικό αντιδραστήριο, το οποίο καθιστά ορατό τον ποσοτικό προσδιορισμό των ισοενζύμων σύμφωνα με την αλληλουχία αντιδράσεων της **ΕΙΚΟΝΑΣ 3**.



ΕΙΚΟΝΑ 3: Αλληλουχία αντιδράσεων σύμφωνα με την οποία οι ζώνες των ισοενζύμων γίνονται ορατές με χρωματομετρικό αντιδραστήριο, καθιστώντας έτσι ορατό και τον ποσοτικό προσδιορισμό των ισοενζύμων

Τα πρότυπα μπορούν να προσδιοριστούν ποσοτικά μέσω πυκνομετρίας στα 595nm ενώ τα όρια των φυσιολογικών τιμών σε ποσοστιαίες μονάδες που δίνει το συγκεκριμένο αντιδραστήριο για κάθε ένα από τα ισοένζυμα γαλακτικής αφυδρογονάσης είναι:

LDH₁: 20.6- 32%, LDH₂: 31,1- 35.9%, LDH₃: 19.8- 25.7%, LDH₄: 7- 10.4%, LDH₅: 6.5- 14%.

Υπόδειγμα εντύπου με τα αναγραφόμενα αποτελέσματα από την ηλεκτροφόρηση LDH, από έναν τυχαίο ασθενή, παρατίθεται στο **ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2**.

ΚΥΨΕΛΙΔΟΑΡΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΦΟΡΑ ΟΞΥΓΟΝΟΥ ΚΑΙ pO_2/FiO_2

Με βάση τα στοιχεία που συλλέχθηκαν από το ερωτηματολόγιο του ασθενούς μέσω του ερωτηματολογίου, δημιουργήθηκαν νέα δεδομένα των οποίων η χρήση τους ήταν αναγκαία για την μετέπειτα στατιστική ανάλυση. Αυτά τα δεδομένα προέκυψαν από τα αέρια αρτηριακού αίματος, από την καμπύλη ροής όγκου αλλά και από τη χρόνια συμπτωματολογία εκ του αναπνευστικού. Από τα αέρια αίματος προέκυψαν 1) Η κυψελιδοαρτηριακή διαφορά οξυγόνου ή $d(A-a)$, η οποία εξάγεται από τη διαφορά της μερικής πίεσης του οξυγόνου στις κυψελίδες μείον την μερική πίεση στο αρτηριακό αίμα, και 2) η pO_2/FiO_2 που είναι το αποτέλεσμα της μερικής αρτηριακής πίεσης του οξυγόνου διά το κλάσμα του οξυγόνου στον συνολικό όγκο του εισπνεόμενου αέρα. Τα δύο αυτά μεγέθη είναι χρήσιμα για την στατιστική ανάλυση με το να αποτελούν αντικειμενικά κριτήρια αναπνευστικής ικανότητας των ασθενών.

ΒΑΘΜΟΙ Χ.Α.Π. (Στάδια κατά GOLD)

Από τις τιμές της FEV_1 της οποίας η μέτρηση έγινε μέσω της καμπύλης ροής όγκου σε ασθενείς με Χ.Α.Π., προσδιορίστηκε ο βαθμός της Χ.Α.Π. (στάδιο κατά GOLD) για κάθε έναν από αυτούς. Η ταξινόμηση των ασθενών γίνεται με βάση τα στοιχεία του **ΠΙΝΑΚΑ 3**.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3: Ταξινόμηση του βαθμού διαταραχής του αερισμού (αποφρακτικού τύπου) στη Χ.Α.Π. (βασίζομενη στις τιμές μετά βρογχοδιαστολής)

ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ $FEV_1/FVC < 0.7$

GOLD 1 (I)	Ήπια απόφραξη	$FEV_1 \geq 80\%$ του προβλεπόμενου
GOLD 2 (II)	Μέτρια απόφραξη	$50\% \leq FEV_1 < 80\%$ του προβλεπόμενου
GOLD 3 (III)	Σοβαρή απόφραξη	$30\% \leq FEV_1 < 50\%$ του προβλεπόμενου
GOLD 4 (IV)	Πολύ σοβαρή απόφραξη	$FEV_1 < 30\%$ του προβλεπόμενου

Όπου FEV_1 : Forced expiratory volume in 1 sec (Βίαια εκπνεόμενος όγκος στο 1 sec). GOLD: Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease.

(Ανατύπωση από: Vogelmeier CF(1), Criner GJ(2), Martínez FJ(3), Anzueto A(4), Barnes PJ(5), Bourbeau J(6), Celli BR(7), Chen R(8), Decramer M(9), Fabbri LM(10), Frith P(11), Halpin DM(12), López Varela MV(13), Nishimura M(14), Roche N(15), Rodríguez-Roisin R(16), Sin DD(17), Singh D(18), Stockley R(19), Vestbo J(18), Wedzicha JA(20), Agustí A(21). Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Lung Disease 2017 Report: GOLD Executive Summary. Arch Bronconeumol. 2017 Mar;53(3):128-149. doi: 10.1016/j.arbres.2017.02.001.

GROUP Χ.Α.Π. (Κατά GOLD)

Επιπρόσθετα έγινε διαχωρισμός των ασθενών με Χ.Α.Π. βάσει το ιστορικό του αριθμού των παροξύνσεων ή των νοσηλειών ανά έτος, και του βαθμού δύσπνοιας πριν τη νοσηλεία τους, σε GROUP κατά GOLD όπου:

- GROUP A: Ασθενείς με το πολύ 1 παρόξυνση/ έτος, χωρίς καμμία νοσηλεία και βαθμό δύσπνοιας κατά mMRC: 0-1.

- GROUP B: Ασθενείς με το πολύ 1 παρόξυνση/ έτος, χωρίς καμμία νοσηλεία και βαθμό δύσπνοιας κατά mMRC ≥ 2 .
- GROUP C: Ασθενείς με ≥ 2 παροξύνσεις ή μια νοσηλεία λόγω παρόξυνσης/ έτος, και βαθμό δύσπνοιας κατά mMRC: 0-1.
- GROUP D: Ασθενείς με ≥ 2 παροξύνσεις ή μια νοσηλεία λόγω παρόξυνσης/ έτος, και βαθμό δύσπνοιας κατά mMRC ≥ 2 [1].

Ο διαχωρισμός των ασθενών με Χ.Α.Π. κατά βαθμό (με νούμερα) καθορίζει το βαθμό της διαταραχής του αερισμού, ενώ ο διαχωρισμός με βάση τα GROUP (με γράμματα) καθορίζει τη βαρύτητα της συμπτωματολογίας και την πιθανότητα νέας παρόξυνσης, τα οποία είναι στοιχεία που καθορίζουν την περαιτέρω θεραπευτική προσέγγιση[1].

ΧΡΟΝΙΚΟΣ ΚΑΙ ΤΟΠΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ – ΑΠΟΚΛΕΙΣΜΟΣ ΑΣΘΕΝΩΝ

Η μελέτη διεξάχθηκε από το Δεκέμβριο 2017 έως τον Ιούνιο 2018, σε ασθενείς οι οποίοι νοσηλεύτηκαν στη Β' Πνευμονολογική Κλινική του Γ.Ν.Α. ΣΙΣΜΑΝΟΓΛΕΙΟΥ, και η εργαστηριακή ανάλυση έγινε στο αιματολογικό και στο βιοχημικό εργαστήριο του ίδιου νοσοκομείου. Στο ίδιο βιοχημικό εργαστήριο έγινε και η ηλεκτροφόρηση των ισοενζύμων LDH. Χρησιμοποιήθηκαν συνολικά και τα 10 gel ηλεκτροφόρησης, και εξάχθηκαν αποτελέσματα από τα 9 gel καθώς το ένα από τα 10 δεν έδωσε κατάλληλα αποτελέσματα λόγω κακής χρήσης. Οι υπόλοιπες 9 ηλεκτροφορήσεις έγιναν τις ακόλουθες ημερομηνίες (χρησιμοποιώντας 1 gel σε κάθε μία): 29/12/2018, 13/01/2018, 19/01/2018, 24/01/2018, 01/02/2018, 12/02/2018, 27/03/2018, 18/05/2018 και 01/06/2018. Έγινε εργαστηριακός έλεγχος και ηλεκτροφόρηση ισοενζύμων γαλακτικής αφυδρογονάσης σε συνολικά 97 ασθενείς. Από αυτούς, 23 ασθενείς (24% επί του συνόλου των ασθενών) αποκλείστηκαν από τη μελέτη, 5 λόγω μη συμπλήρωσης του ερωτηματολογίου ασθενούς, και 18 λόγω συνοσηροτήτων οι οποίες θα μπορούσαν να επηρεάσουν την τιμή της LDH ή και τα ποσοστά των ισοενζύμων της. Από αυτούς τους τελευταίους 18 ασθενείς, 7 έπασχαν από σοβαρή καρδιακή ανεπάρκεια, 3 από οξύ στεφανιαίο επεισόδιο, 5 από σοβαρή μυοπάθεια- ημιπλιγία- χρόνια κατάκλιση, 1 από καρκίνο (Ca μαστού), 1 από νόσο του ανοσοποιητικού, και 1 από οξεία νεφρική βλάβη. Έτσι τελικά 74 ήταν οι ασθενείς (76% επί του συνόλου των ασθενών) οι οποίοι συμπεριλήφθηκαν στην τελική μελέτη και στατιστική ανάλυση.

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Στην περιγραφική στατιστική ανάλυση, οι συνεχείς μεταβλητές προσδιορίστηκαν ως μέση τιμή (τυπική απόκλιση), και οι κατηγορικές μεταβλητές ως ποσοστιαίες μετρήσεις (%). Οι διαφορές συχνότητας μεταξύ των κατηγορικών μεταβλητών αναλύθηκαν μέσω του Chi-square ή του Fischer's test, ενώ οι διαφορές στις μέσες τιμές μεταξύ των συνεχών μεταβλητών με τον έλεγχο t-test για

ανεξάρτητα δείγματα ή με Mann-Whitney U-test, ανάλογα με την κανονικότητα των δεδομένων. Η ανάλυση με την καμπύλη ROC (receiver operator characteristic), εφαρμόστηκε για να προσδιορίσει εκείνες τις μεταβλητές που είναι οι καταλληλότερες για τον διαχωρισμό των δύο ομάδων (cases - controls), ενώ ο δείκτης Youden εφαρμόστηκε για τον εντοπισμό των ιδανικότερων τιμών cut-off με την υψηλότερη δυνατή ευαισθησία και ειδικότητα.

Για τον έλεγχο συγχυτικών παραγόντων, χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση συμεταβλητότητας (analysis of covariance - ANCOVA). Ο χειρισμός των ελλιπών δεδομένων έγινε μέσω της μεθόδου πολλαπλής αναπλήρωσης (multiple imputation) χρησιμοποιώντας τη μέθοδο fully conditional specification. Η ελλιπής καθ' ολοκληρία (completely missing at random - CMAR) υπόθεση, ελέγχθηκε μέσω του Little test. Ο αριθμός των σειρών (sets) που αναπαράχθηκαν προσδιορίστηκε από το ποσοστό των ατόμων με ελλιπή στοιχεία σε τουλάχιστον μία από τις μεταβλητές ενδιαφέροντος. Στη συνέχεια τα αποτελέσματα της ανάλυσης ANCOVA σε κάθε set συγκεντρώθηκαν για να εξάγουν μια μέση εκτίμηση. Η ιεραρχική ανάλυση συστάδων (hierarchical cluster analysis) με τη μέθοδο του συσχετισμού μεταξύ ομάδων (between-groups linkage) χρησιμοποιήθηκε για να αναγνωριστούν πρότυπα (ισομορφικό ή μη) σχετικά με τους λόγους των ισοενζύμων LDH (ισοένζυμο LDH/ολικό LDH). Όλοι οι έλεγχοι στατιστικής σημαντικότητας προέκυψαν με αμφίπλευρο έλεγχο, με την τιμή $p < 0.05$ να θεωρείται το όριο του στατιστικά σημαντικού. Η ανάλυση διενεργήθηκε με το στατιστικό πρόγραμμα IBM® SPSS® Statistics Version 25

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Από τα 74 άτομα που εντάχθηκαν σε αυτή τη μελέτη, 42 (56,8%) διαγνώστηκαν με παρόξυνση Χ.Α.Π. (cases), και 32 (43,2%) διαγνώστηκαν με λοίμωξη κατώτερου αναπνευστικού (βρογχίτιδα ή πνευμονία) χωρίς διάγνωση Χ.Α.Π. (controls). Τα δημογραφικά, κλινικά, και εργαστηριακά δεδομένα του δείγματος είναι συγκεντρωμένα και παρουσιάζονται στον **ΠΙΝΑΚΑ 4**. Οι δυο ομάδες διαφέρουν στατιστικά σημαντικά στο φύλο (Chi-square= 13.046, $p < 0.001$), στο κάπνισμα (Chi-square= 32.123, $p < 0.001$)- αριθμό pack/years ($t = -7.618$, $p < 0.001$), στο ιστορικό χρόνιας αναπνευστικής ανεπάρκειας (Chi-square= 8.012, $p = 0.005$) και στο λόγο pO_2/FiO_2 ($t = 2.480$, $p = 0.016$). Τέλος, μετά από απομάκρυνση των ακραίων τιμών, προέκυψαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στη C αντιδρώσα πρωτεΐνη – CRP ($t = 5.305$, $p < 0.001$), και στην κρεατινφοσφοκινάση – CPK ($t = 2.211$, $p = 0.034$) μεταξύ των ομάδων.

Οι μέσες τιμές των λόγων των ισοενζύμων LDH για τις δύο ομάδες συγκεντρώνονται στον **ΠΙΝΑΚΑ 5** και παρουσιάζονται με γράφημα στην **ΕΙΚΟΝΑ 4**. Οι ασθενείς με παρόξυνση Χ.Α.Π. είχαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερες μέσες τιμές λόγων LDH_1 και LDH_2 , και στατιστικά σημαντικά χαμηλότερες μέσες τιμές λόγων LDH_3 και LDH_4 σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Η μέση τιμή του

λόγου της LDH₃ στην ομάδα ασθενών με παρόξυνση Χ.Α.Π. ήταν μάλιστα χαμηλότερη από το κατώτερο όριο αναφοράς του εργαστηρίου, ενώ και στις δύο ομάδες η μέση τιμή του λόγου της LDH₅ ήταν λίγο υψηλότερη από το ανώτερο φυσιολογικό όριο αναφοράς. Εφαρμόζοντας την ανάλυση με καμπύλη ROC (ΠΙΝΑΚΑΣ 6) το άθροισμα των λόγων LDH₃ και LDH₄ έχει την υψηλότερη ικανότητα διάκρισης των ασθενών με παρόξυνση Χ.Α.Π. σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (AUC 0.853, p<0.001), με ευαισθησία 78.1% και ειδικότητα 83.3% για τιμή λόγου LDH₃+LDH₄/LDH κάτω του 0.2912 (29.12%) (ΕΙΚΟΝΑ 5)

Χρησιμοποιήθηκε η ανάλυση μεταβλητότητας ANCOVA, μετά από πολλαπλή αναπλήρωση των ελλειπόν δεδομένων και εξαλείφοντας την επιρροή συγχυτικών παραγόντων, με σκοπό την επίτευξη της στατιστικής σύγκρισης των λόγων LDH μεταξύ των δύο ομάδων. Μεταβλητές που μελετήθηκαν ως συγχυτικοί παράγοντες ήταν το φύλο, η ηλικία, οι συνοσηρότητες, οι δείκτες φλεγμονής, τα μυϊκά και μυοκαρδιακά ένζυμα, και η ολική LDH. Όλες οι διαφορές στις μέσες τιμές, παρέμειναν στατιστικά σημαντικές έπειτα και από τις ανωτέρω προσαρμογές (ΠΙΝΑΚΑΣ 7)

Έγινε περαιτέρω ιεραρχική ανάλυση συστάδων, με σκοπό τον προσδιορισμό ομάδων ασθενών με χαρακτηριστικά πρότυπα λόγων ισοενζύμων LDH. Προσδιορίστηκαν δύο συστάδες, μια με επικρατέστερους τους λόγους των LDH₁, LDH₂, LDH₃ (ισομορφικό πρότυπο- pattern) (n=33), και η άλλη με επικρατέστερους τους λόγους των LDH₄, LDH₅ (n=9) (ΕΙΚΟΝΑ 6). Οι ασθενείς με επικρατούν πρότυπο- pattern LDH₄/5 είχαν στατιστικώς σημαντικά μειωμένη καπνιστική συνήθεια μετρήσιμη σε pack/years (Mann-Whitney U=73.000, p=0.047), και λιγότερες συνοσηρότητες όπως σακχαρώδη διαβήτη (Fisher's exact test p=0.017), και καρδιαγγειακή νόσο (Fisher's exact test p=0.018), αντίθετα είχαν μεγαλύτερο αριθμό λευκών κυττάρων (t=-3.039, p=0.014) σε σχέση με τους ασθενείς με επικρατούν pattern LDH₁/2/3 (ΠΙΝΑΚΑΣ 8).

ΠΙΝΑΚΑΣ 4: Περιγραφικά στοιχεία των δημογραφικών, κλινικών και εργαστηριακών δεδομένων των συμμετεχόντων στη μελέτη, και ποσοστά των ελλιπών δεδομένων.

ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ	CONTROLS	
	(n=32)	CASES (n=42)
Φύλο (%)		
Άντρες	11 (34.4)	32 (76.2)
Γυναίκες	21 (65.6)	10 (23.8)
Μέση ηλικία σε έτη (SD)	68.50 (20.07)	71.43 (9.21)
Μέσο BMI σε Kg/m ² (SD)	31.18 (6.91)	28.67 (4.99)
Ελλιπή δεδομένα (%)	19 (59.4)	14 (33.3)
Ιστορικό καπνίσματος (%)		
Ενεργοί καπνιστές	10 (31.3)	21 (50.0)
Πρώην καπνιστές	3 (9.4)	18 (42.9)
Μη καπνιστές	18 (56.3)	0 (0.0)
Ελλιπή δεδομένα	1 (3.1)	3 (7.1)
Μέση τιμή pack/years (SD)	19.00 (27.49)	85.26 (43.79)
Ελλιπή δεδομένα (%)	2 (6.3)	4 (9.5)
Συνοσηρότητες (%)		
Καρδιακή ανεπάρκεια	4 (12.5)	3 (7.1)
Ισχαιμική καρδιακή νόσος	3 (9.4)	7 (16.7)
Κολπική μαρμαρυγή	10 (31.2)	18 (42.9)
Αρτριακή υπέρταση	20 (62.5)	23 (54.8)
Αγχώδεις διαταραχές/κατάθλιψη	6 (18.8)	5 (11.9)
Σακχαρώδης διαβήτης	8 (25.0)	14 (33.3)
Ελλιπή δεδομένα	0 (0.0)	1 (2.4)
Χρόνια αναπνευστική ανεπάρκεια- ΧΑΑ (%)	4 (12.5)	18 (42.9)
Μη υπερκανικοί (% των ΧΑΑ)	1 (25.0)	7 (38.9)

Υπερκαπνικοί (% των ΧΑΑ)	3 (75.0)	10 (55.6)
Ελλιπή δεδομένα (% των ΧΑΑ)	0 (0.0)	1 (5.6)
	CONTROLS	
ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ	(n=32)	CASES (n=42)
<i>Χαρακτηριστικά των ασθενών με Χ.Α.Π.</i>		
Μέσος βαθμός δύσπνοιας mMRC (SD)		2.32 (1.20)
Ελλιπή δεδομένα (%)		8 (19.0)
Μέσος αριθμός παροξύνσεων ανά έτος (SD)		1.33 (0.92)
Ελλιπή δεδομένα (%)		9 (21.4)
Group κατά GOLD (%)		
A		6 (14.3)
B		8 (19.0)
C		2 (4.8)
D		17 (40.5)
Ελλιπή δεδομένα		9 (21.4)
Μέση FEV ₁ % της προβλεπόμενης (SD)		59.23 (18.78)
Στάδιο κατά GOLD (%)		
I		3 (7.1)
II		11 (26.2)
III		8 (19.0)
IV		0 (0.0)
Ελλιπή δεδομένα		20 (47.6)
Μέση FVC % του προβλεπόμενου (SD)		72.48 (15.90)
Ελλιπή δεδομένα (%)		21 (50.0)
Μέση FEV ₁ /FVC (SD)		62.13 (9.98)
Ελλιπή δεδομένα (%)		21 (50.0)

Μέση FEF ₂₅₋₇₅ % του προβλεπόμενου (SD)	34.07 (16.25)	
Ελλιπή δεδομένα (%)	23 (54.8)	
	CONTROLS	
ΜΕΤΑΒΑΛΗΤΗ	(n=32)	CASES (n=42)
<i>Αέρια αίματος</i>		
Μέση τιμή pO ₂ /FiO ₂ σε mmHg (SD)	268.81 (92.09)	218.59 (74.54)
Ελλιπή δεδομένα (%)	4 (12.5)	2 (4.8)
Μέση τιμή pCO ₂ σε mmHg (SD)	44.92 (12.41)	49.10 (12.93)
Ελλιπή δεδομένα (%)	7 (21.9)	2 (4.8)
Μέση τιμή pH (SD)	7.42 (0.07)	7.42 (0.06)
Ελλιπή δεδομένα (%)	7 (21.9)	2 (4.8)
Μέση τιμή HCO ₃ ⁻ σε mmol/l (SD)	28.55 (5.64)	31.52 (6.97)
Ελλιπή δεδομένα (%)	7 (21.9)	2 (4.8)
Μέση τιμή d(A-a) σε mmHg (SD)	85.17 (99.40)	95.07 (85.10)
Ελλιπή δεδομένα (%)	7 (21.9)	2 (4.8)
Μέση τιμή γαλακτικού οξέως σε mmol/l (SD)	1.29 (0.73)	1.39 (0.70)
Ελλιπή δεδομένα (%)	9 (28.1)	5 (11.9)
<i>Εργαστηριακά δεδομένα</i>		
Μέση τιμή λευκοκυττάρων (WBC) σε 10 ³ /μl (SD)	11.24 (4.72)	10.85 (4.73)
Μέση τιμή ουδετεροφίλων % των WBC (SD)	77.41 (10.98)	80.67 (9.57)
Μέση τιμή CRP σε mg/l (SD)	64.75 (58.26)	46.41 (64.27)
Μέση τιμή CPK σε U/L (SD)	204.63 (423.74)	91.17 (149.89)
Ελλιπή δεδομένα (%)	0 (0)	1 (2.4)
Μέση τιμή τροπονίνης I σε ng/ml (SD)	0.128 (0.355)	0.036 (0.048)
Ελλιπή δεδομένα (%)	2 (6.2)	1 (2.4)
Μέση τιμή LDH σε U/L (SD)	242.81 (109.47)	248.43 (89.76)

SD: standard deviation (τυπική απόκλιση) BMI: body mass index (δείκτης μάζας σώματος), ΧΑΑ: Χρόνια αναπνευστική ανεπάρκεια, Χ.Α.Π.: Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια mMRC: modified Medical Research Council, GOLD: Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease, FEV1: forced expiratory volume in 1 (sec Βίαιος εκπνεόμενος όγκος στο 1 δευτερόλεπτο), FVC: forced vital capacity (βίαια ζωτική χωρητικότητα), MEF25-75: maximal expiratory flow between 25 and 75% of vital capacity (μέγιστη εκπνευστική ροή μεταξύ 25 και 75% της ζωτικής χωρητικότητας), pO₂: μερική πίεση αρτηριακού οξυγόνου, FiO₂: κλάσμα εισπνεόμενου οξυγόνου pCO₂: μερική πίεση αρτηριακού διοξειδίου του άνθρακα d(A-a): κυψελιδοαρτηριακή διαφορά οξυγόνου (alveolar-arterial gradient), WBC: white blood cells (λευκά αιμοσφαίρια), CRP: C-reactive protein (C-αντιδράσα πρωτεΐνη), CPK: creatine phosphokinase (κρεατιν- φωσφοκινάση), LDH: lactate dehydrogenase (γαλακτική αφυδρογονάση).

ΠΙΝΑΚΑΣ 5: Σύγκριση ανάμεσα στα δύο γκρουπ (controls και cases), των μέσων τιμών των λόγων των ισοενζύμων LDH ως προς την ολική στον ορό του αίματος (LDH ratios)

LDH ratios	Φυσιολογικά όρια τιμών		Cases (n=42)	t test	p-value
	(normal ranges)	Controls (n=32)			
LDH1% (SD)	20.60- 32.00	21.68 (6.39)	25.71 (5.18)	-3.000	0.004
LDH2% (SD)	31.10- 35.90	31.00 (5.28)	33.99 (5.10)	-2.457	0.016
LDH3% (SD)	19.80- 25.70	21.59 (3.57)	17.10 (3.09)	5.791	<0.001
LDH4% (SD)	7.00- 10.40	10.92 (3.20)	8.55 (2.73)	3.427	0.001
LDH5% (SD)	6.50- 14.00	14.81 (7.91)	14.67 (8.61)	0.073	0.942

LDH: lactate dehydrogenase (γαλακτική αφυδρογονάση), SD: standard deviation (τυπική απόκλιση)

ΠΙΝΑΚΑΣ 6: Ανάλυση μέσω της καμπύλης ROC (Receiver Operating Characteristic), για την πρόβλεψη των παροξύνσεων Χ.Α.Π., μέσω τιμών cut off, ευασθησία και ειδικότητα των λόγων (ratios) κάθε ισοενζύμου LDH και αθροίσματος ισοενζύμων LDH, προς την ολική LDH στον ορό αίματος.

Λόγος (ratio) των ισοενζύμων LDH	AUC (95% CI)	Cut-off	Sens (%)	Spec (%)
LDH1%	0.693 (0.572 to 0.815)*	>24.35	64.3	68.7
LDH2%	0.651 (0.526 to 0.775)*	>33.73	59.5	68.7
LDH1% + LDH2%	0.706 (0.587 to 0.824)*	>59.19	64.3	78.1
LDH3%	0.836 (0.743 to 0.929)*	<19.34	78.1	81.0
LDH4%	0.712 (0.593 to 0.832)*	<9.13	71.9	66.7
LDH3% + LDH4%	0.853 (0.764 to 0.941)*	<29.12	78.1	83.3
LDH5%	0.513 (0.381 to 0.646)	<7.59	93.8	21.4

*Υποδηλώνει στατιστική σημαντικότητα επιπέδου $p < 0.05$. CI: confidence interval (Διάστημα αξιοπιστίας).

ΠΙΝΑΚΑΣ 7: Εκτιμήσεις των διαφορών στις μέσες τιμες, των λόγων του κάθε ισοενζύμου LDH προς την ολική στον ορό (LDH ratios), ανάμεσα στις δύο ομάδες (cases και controls), μετά από εφαρμογή της μεθόδου πολλαπλής αναπλήρωσης (multiple imputation) για τα ελλιπή δεδομένα.

	Μη προσαρμοσμένη εκτίμηση (95% CI)	Μερικώς προσαρμοσμένη εκτίμηση (95% CI)	Πλήρως προσαρμοσμένη εκτίμηση (95% CI)
LDH ₁ (%)	4.04 (1.40 to 6.67)*	4.30 (1.43 to 7.16)*	5.35 (2.21 to 8.50)*
LDH ₂ (%)	2.99 (0.60 to 5.37)*	2.90 (0.47 to 5.33)*	2.76 (0.11 to 5.40)*
LDH ₃ (%)	-4.49 (-6.01 to -2.97)*	-4.66 (-6.38 to -2.94)*	-4.45 (-6.27 to -2.63)*
LDH ₄ (%)	-2.37 (-3.72 to -1.01)*	-2.12 (-3.58 to -0.66)*	-2.54 (-4.18 to -0.90)*
LDH ₅ (%)	-0.14 (-3.97 to 3.68)	-0.37 (-3.75 to 3.02)	-1.06 (-5.37 to 3.25)

Προσαρμοσμένη εκτίμηση για το φύλο, την ηλικία, συνοσηρότητες όπως σακχαρώδης διαβήτης και καρδιαγγειακή νόσος (2^η στήλη), και επιπλέον για τα λευκά αιμοσφαίρια, για τη C αντιδρώσα πρωτεΐνη, για την κρεατι- φωσφοκινάση, τροπονίνη I και ολική LDH (3^η στήλη).

*Υποδηλώνει στατιστική σημαντικότητα επιπέδου $p < 0.05$. CI: confidence interval (Διάστημα αξιοπιστίας).

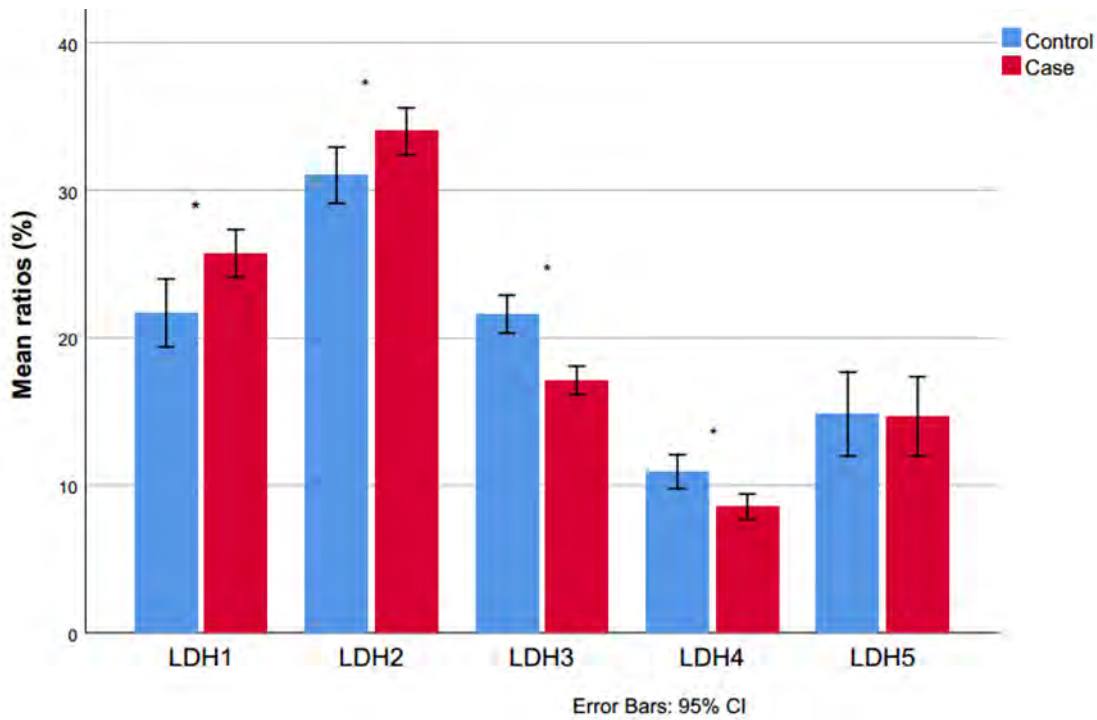
ΠΙΝΑΚΑΣ 8: Διαφορές ανάμεσα στις δύο συστάδες μεταξύ των ασθενών με παρόξυνση Χ.Α.Π., που προέκυψαν με βάση τα επικρατούντα patterns ισοενζύμων LDH.

Μεταβλητή	Συστάδα LDH1/2/3	Συστάδα LDH4/5	p-value
Φύλο (%)			
Άντρας	25(75.8)	7(77.8)	>0.999
Γυναίκα	8 (24.2)	2 (22.2)	
Μέση ηλικία σε χρόνια (SD)	72.09 (8.37)	69.00 (12.06)	0.378
Μέση τιμή BMI σε Kg/m ² (SD)	29.04 (5.21)	26.46 (2.89)	0.431
Ελλιπή δεδομένα (%)	9 (27.3)	5 (55.6)	
Ιστορικό καπνίσματος (%)			
Νυν καπνιστής	15(45.5)	6 (66.7)	0.464
Πρώην καπνιστής	15(45.5)	3 (33.3)	
Ελλιπή δεδομένα	3(9.1)	0 (0.0)	
Μέση τιμή pack/years (SD)	93.45(45.77)4	58.89 (22.61)	0.047
Ελλιπή δεδομένα (%)	(12.1)	0 (0.0)	
Συνοσηρότητες (%)			
Καρδιακή ανεπάρκεια	3 (9.1)	0 (0.0)	>0.999
Ισχαιμική καρδιακή νόσος	6 (18.2)	1 (11.1)	>0.999
Κοπλική μαρμαρυγή	17 (51.5)	1 (11.1)	0.054
Αρτηριακή υπέρταση	21 (63.6)	2 (22.2)	0.028
Αγχώδεις διαταραχές/Κατάθλιψη	4 (12.1)	1 (11.1)	>0.999
Σακχαρώδης διαβήτης	14 (42.4)	0 (0.0)	0.017
Ελλιπή δεδομένα	1 (3.0)	0 (0.0)	
Χρόνια αναπνευστική ανεπάρκεια- ΧΑΑ (%)	15 (45.5)	3 (33.3)	0.708
Μη υπερκαπνική (% των ΧΑΑ)	5 (33.3)	2 (66.7)	0.537

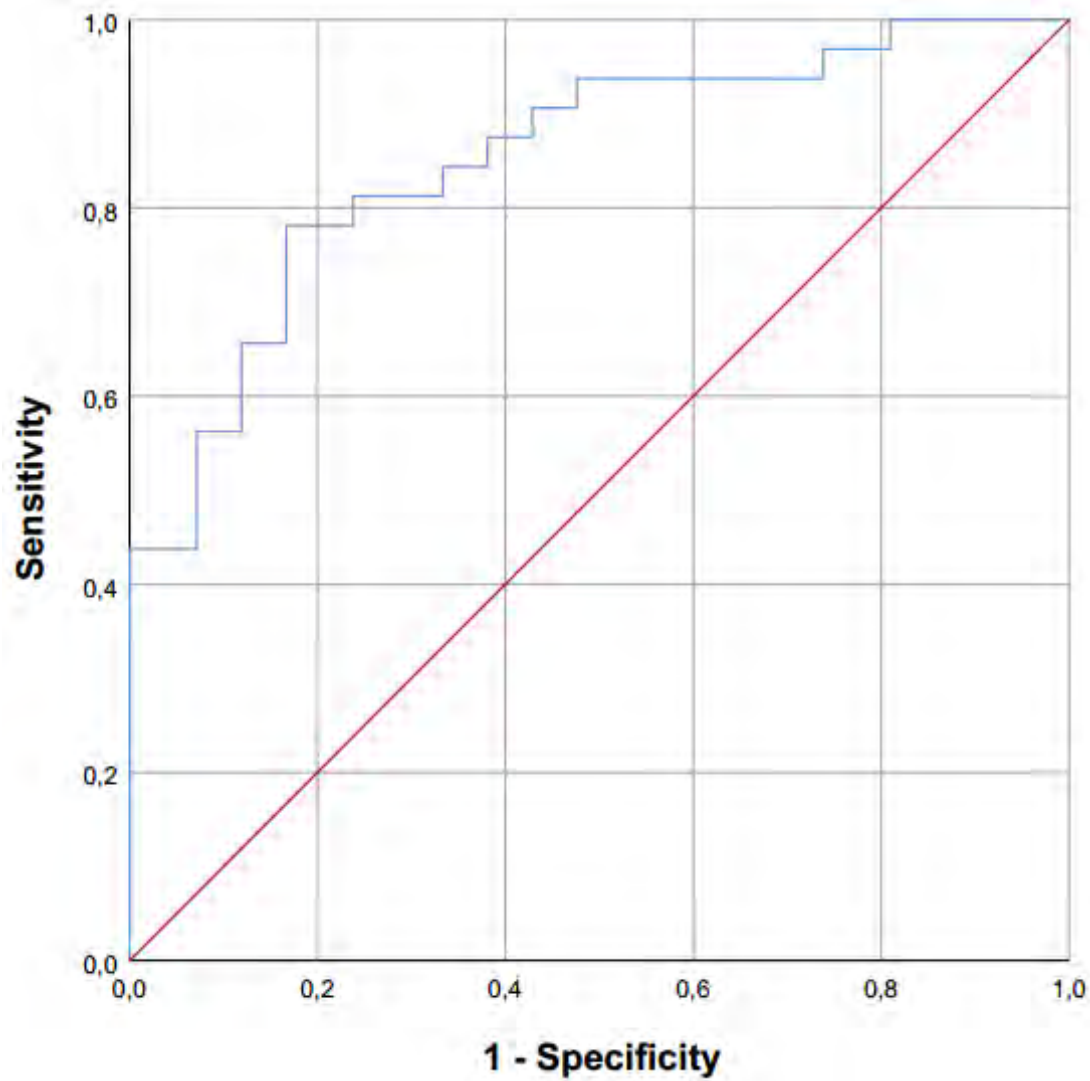
Υπερκαπνική (% των ΧΑΑ)	9 (60.0)	1 (33.3)	0.537
Ελλιπή δεδομένα (% των ΧΑΑ)	1 (6.7)	0 (0.0)	
Μεταβλητή	Συστάδα LDH1/2/3	Συστάδα LDH4/5	p-value
<i>Εκτίμηση Χ.Α.Π.</i>			
Μέση τιμή βαθμού δύσπνοιας- mMRC (SD)	2.41 (1.15)	2.00 (1.41)	0.465
Ελλιπή δεδομένα	6 (18.2)	2 (22.2)	
Μέση τιμή παροξύνσεων ανά έτος (SD)	1.33 (0.92)	1.33 (1.03)	0.918
Ελλιπή δεδομένα	6 (18.2)	3 (33.3)	
Group D κατά GOLD (SD)	13 (39.4)	4 (44.4)	0.656
Ελλιπή δεδομένα	6 (18.2)	3 (33.3)	
<i>Αρτηριακά αέρια αίματος</i>			
Μέση τιμή pO ₂ /FiO ₂ ΣΕ mmHg (SD)	222.27 (74.08)	205.92 (79.21)	0.569
Ελλιπή δεδομένα (%)	2 (6.1)	0 (0.0)	
Μέση τιμή pCO ₂ σε mmHg (SD)	50.65 (14.04)	43.78 (5.85)	0.179
Ελλιπή δεδομένα (%)	2 (6.1)	0 (0.0)	
Μέση τιμή pH (SD)	7.41 (0.07)	7.44 (0.05)	0.298
Ελλιπή δεδομένα (%)	2 (6.1)	0 (0.0)	
Μέση τιμή HCO ₃ ⁻ σε mmol/Lt (SD)	32.05 (7.25)	29.69 (5.88)	0.379
Ελλιπή δεδομένα (%)	2 (6.1)	0 (0.0)	
Μέση τιμή d(A-a) σε mmHg (SD)	91.41 (85.00)	107.69 (89.32)	0.627
Ελλιπή δεδομένα (%)	2 (6.1)	0 (0.0)	
Μέση τιμή γαλακτικού οξέως σε mmol/Lt (SD)	1.36 (0.61)	1.51 (1.02)	0.824
Ελλιπή δεδομένα (%)	4 (12.1)	1 (11.1)	
<i>Εργαστηριακά δεδομένα</i>			
Μέση τιμή των WBC σε x10 ³ /μl (SD)	9.40 (2.85)	16.14 (6.48)	0.014

Μέση τιμή των ουδετερόφιλων % των WBC (SD)	79.73 (9.93)	84.11 (7.58)	0.228
Μέση τιμή της CRP σε mg/L (SD)	51.21 (67.50)	28.80 (50.01)	0.297
Μέση τιμή της CPK σε U/L (SD)	99.53 (167.84)	61.44 (43.70)	0.431
Ελλιπή δεδομένα (%)	1 (3.0)	0 (0.0)	
Μέση τιμή τροπονίνης I ορού σε ng/ml (SD)	0.033 (0.042)	0.043 (0.067)	0.603
Ελλιπή δεδομένα	1 (3.0)	0 (0.0)	
Μέση τιμή LDH σε U/L (SD)	239.33 (78.52)	281.78 (122.63)	0.453
	Συστάδα	Συστάδα	
Μεταβλητή	LDH1/2/3	LDH4/5	p-value

SD: standard deviation (τυπική απόκλιση), BMI: body mass index (δείκτης μάζας σώματος), ΧΑΑ: Χρόνια αναπνευστική ανεπάρκεια, Χ.Α.Π.: Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, mMRC, modified Medical Research Council, GOLD: Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease, pO₂: μερική πίεση αρτηριακού οξυγόνου, FiO₂: κλάσμα εισπνεόμενου οξυγόνου pCO₂: μερική πίεση αρτηριακού διοξειδίου του άνθρακα, d(A-a): alveolar-arterial gradient (κυψελιδοαρτηριακή διαφορά οξυγόνου), WBC: λευκά αιμοσφαίρια (white blood cells), CRP: C- αντιδράσα πρωτεΐνη (C-reactive protein), CPK: creatine phosphokinase (κρεατιν-φοσφοκινάση), LDH: lactate dehydrogenase (γαλακτική αφυδρογονάση).

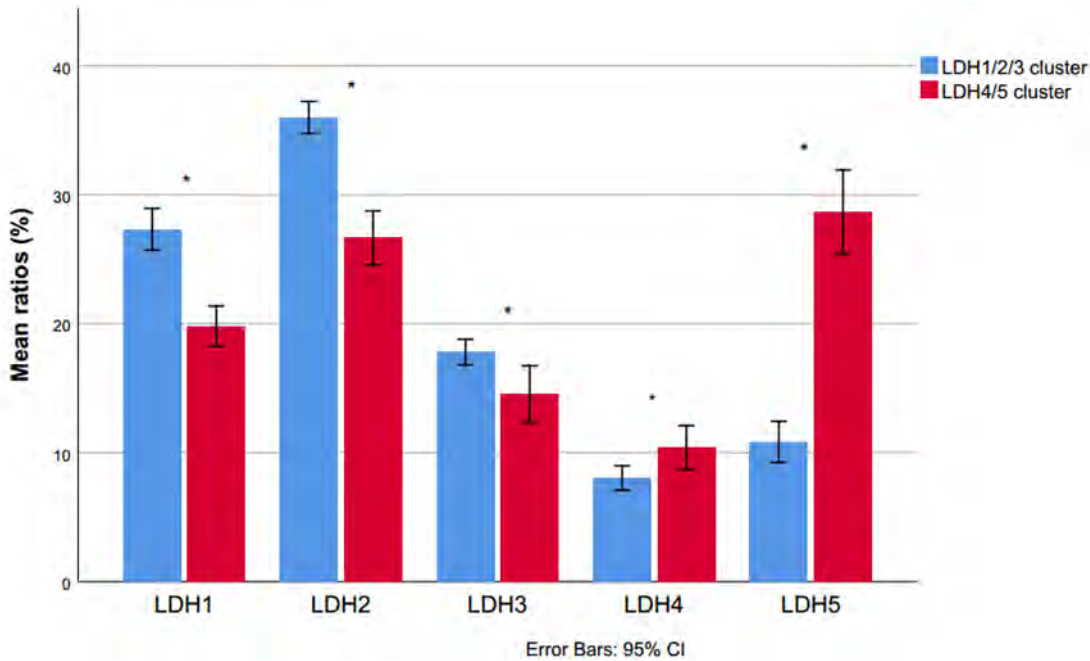


ΕΙΚΟΝΑ 4: Σχηματοποίηση των μέσων τιμών των λόγων των ισοενζύμων LDH προς την ολική (LDH ratios) στις δύο ομάδες (cases και controls). Οι στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις δυο ομάδες υποδεικνύονται με τον αστερίσκο *.



ΕΙΚΟΝΑ 5: Καμπύλη ROC από το άθροισμα των λόγων LDH₃ και LDH₄ προς την ολική LDH (LDH₃ και LDH₄ ratios), για την πρόβλεψη των παροξύνσεων Χ.Α.Π.

Sensitivity: Ευαισθησία, Specificity: Ειδικότητα



ΕΙΚΟΝΑ 6: Διαφορές ανάμεσα στις μέσες τιμές των λόγων των ισοενζύμων LDH προς την ολική (LDH ratios) ανάμεσα στις δύο συστάδες των ασθενών με παρόξυνση Χ.Α.Π. Η μία με αυξημένους λόγους των LDH₁, LDH₂, LDH₃, και μία με αυξημένους λόγους των LDH₄ και LDH₅. Στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις συστάδες υποδεικνύονται με αστερίσκο *.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Με βάση τα δημογραφικά, κλινικά και εργαστηριακά δεδομένα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν στη συγκεκριμένη μελέτη, παρουσιάστηκαν ανάμεσα στον υγιή πληθυσμό και στους ασθενείς με Χ.Α.Π. υπό παρόξυνση, στατιστικά σημαντικές διαφορές κυρίως σε χαρακτηριστικά κλινικά και επιδημιολογικά, που γνωρίζουμε ήδη ότι διαφέρουν ανάμεσα στους δύο πληθυσμούς, και οι αλλαγές τους χαρακτηρίζουν τους ασθενείς με Χ.Α.Π., όπως το φύλο, η καπνιστική συνήθεια, και η χρόνια αναπνευστική ανεπάρκεια. Αλλά και στατιστικά σημαντικές διαφορές σε εργαστηριακές τιμές όπως η CRP, η CPK, αλλά και οι λόγοι των ισοενζύμων LDH₃ και LDH₄ προς την ολική LDH, που θα μπορούσαν να εμνηνευτούν βάσει ιδιαίτερων μηχανισμών που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια μίας παρόξυνσης Χ.Α.Π., που τη διαφοροποιούν από μία απλή λοίμωξη αναπνευστικού. Επίσης ο διαχωρισμός των ασθενών με παρόξυνση Χ.Α.Π. σε δύο συστάδες, μία με κυρίαρχο pattern ισοενζύμων LDH₁,LDH₂,LDH₃ (N=33) και μία με κυρίαρχο pattern LDH₄,LDH₅ (N=9), κατέληξε σε στατιστικά σημαντικά αυξημένες συνοσηρότητες, αυξημένη καπνιστική συνήθεια, και μειωμένο αριθμό λευκών αιμοσφαιρίων στο πρώτο pattern σε σχέση με το δεύτερο αντίστοιχα, κάτι που θα μπορούσε να εξηγηθεί με βάση το ρόλο του κάθε ισοενζύμου LDH στον ανθρώπινο οργανισμό.

Έτσι παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά στο φύλο (Chi-square=32.123, $p<0.001$), όπου το 76.2% των ασθενών (N=32) με παρόξυνση Χ.Α.Π. είναι άντρες, ενώ στους υγιείς με λοίμωξη το ποσοστό των αντρών είναι μόνο 34.4% (N=11), κάτι που αναμένεται αφού παγκοσμίως η νόσος της Χ.Α.Π. προσβάλλει σε μεγαλύτερο ποσοστό τους άντρες, ιδιαίτερα λόγω της καπνιστικής συνήθειας, με αυξητική όμως τάση στο γυναικείο πληθυσμό λόγω της σταδιακά αυξανόμενης καπνιστικής συνήθειας από την πλευρά των γυναικών.

Στατιστικά σημαντική διαφορά παρατηρείται και στην καπνιστική συνήθεια ($t= -7.618$, $p<0.001$) με μετρήσιμο μέγεθος τα πακέτα/ έτη (pack/ year). Όπως αναμενόταν όλοι οι ασθενείς με παρόξυνση Χ.Α.Π. (οι οποίοι έχουν απαντήσει στην ερώτηση της πιθανής καπνιστικής συνήθειας), είναι νυν (το 50%) ή πρώην καπνιστές (το 42.9% επί των ασθενών με Χ.Α.Π) με μέση τιμή pack/ years 85.26. Αντίθετα το μεγαλύτερο ποσοστό (56,3%) των υγιών ασθενών με λοίμωξη δεν έχουν ιστορικό καπνιστικής συνήθειας , ενώ η μέση τιμή των pack/years είναι 19.00. Ως pack/ year ορίζεται ο αριθμός των καταναλισκόμενων πακέτων τσιγάρων την ημέρα επί τα συνολικά έτη καπνιστικής συνήθειας.

Στατιστικά σημαντική διαφορά παρουσιάζεται και σε επίπεδο χρόνιας αναπνευστικής ανεπάρκειας (Chi-square= 8.012, $p=0.005$), η οποία χαρακτηρίζει το 42.9% (N=18) των ασθενών με Χ.Α.Π. και μόνο το 12.5% των υπόλοιπων ασθενών, όπου πρόκειται για άτομα προχωρημένης ηλικίας με αρκετές συνοσηρότητες. Ανάλογα και η μέση τιμή pO_2/FiO_2 είναι στατιστικά σημαντικά μειωμένη ($t=2.480$, $p=0.016$) στους ασθενείς με Χ.Α.Π. (218.59mmHg) σε σχέση με τους υπόλοιπους ασθενείς (268.81mmHg) κάτι που δικαιολογείται από τη μεγαλύτερη αναπνευστική δυσχέρεια των πρώτων σε σχέση με τους δεύτερους.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει η διαφορά στις μέσες τιμές της CRP μεταξύ των δύο πληθυσμών η οποία -έπειτα από απομάκρυνση των ακραίων τιμών- προκύπτει στατιστικά σημαντική ($t=5.305$, $p<0.001$), με αυξημένη μέση τιμή στον υγιή πληθυσμό με λοίμωξη αναπνευστικού (64.75mg/l), σε σχέση με τους ασθενείς με παρόξυνση Χ.Α.Π. (46.41mg/l). Αποτέλεσμα που μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι η εκδήλωση παρόξυνσης συντελείται και ενισχύεται και από παράγοντες πέραν της λοιμώξεως αναπνευστικού, αλλά και από το γεγονός ότι η τιμή της CRP στις παροξύνσεις Χ.Α.Π. επηρεάζεται από το είδος της λοίμωξης όπως επιβεβαιώνεται από προηγούμενες μελέτες, σαν αυτή των Bafadhel M., et al. όπου προκύπτει μετρίου βαθμού διαφορά στη μέση τιμή της CRP με AUC-95%CI:0.65 (0.57–0.74), μεταξύ παρόξυνσης Χ.Α.Π. βακτηριακής αιτιολογίας και λοιπών ασθενών με Χ.Α.Π.[23], και τη μελέτη των Lacombe, A., et al όπου στις παροξύνσεις Χ.Α.Π. βακτηριακής αιτιολογίας με κλινική συμπτωματολογία, διακρίνεται μια διαφορά στις μέσες τιμές της CRP με βαθμό AUC-95%CI: 0.68 (0.65–1.76)[24]. Στηριζόμενοι στο αποτέλεσμα των Hurst, J.R., et al.,

σύμφωνα με το οποίο προκύπτει στατιστικά σημαντικά AUC-95%CI: 0.88 (0.82–0.93) αυξημένη μέση τιμή της CRP στις παροξύνσεις με ένα τουλάχιστον κύριο σύμπτωμα σε σχέση με τη σταθερή Χ.Α.Π.[27], προστίθεται το αποτέλεσμα της δικής μας μελέτης σύμφωνα με την οποία ναι μεν προκύπτει αύξηση της CRP στην παρόξυνση Χ.Α.Π., αλλά σε πολύ μικρότερο βαθμό σε σχέση με την αύξηση της CRP η οποία συμβαίνει στις λοιμώξεις αναπνευστικού στον υγιή πληθυσμό. Η παρόξυνση βάσει του ανωτέρω αποτελέσματος παρουσιάζεται με μικρότερους δείκτες φλεγμονής. Φαίνεται λοιπόν να προκαλείται και από άλλους παράγοντες όπως μεταβολικές διαταραχές, οι οποίες έχουν προαναφερθεί και οι οποίες είναι δυνατόν να συσχετισθούν όπως θα φανεί παρακάτω, με μεταβολές τιμών εργαστηριακών μεγεθών.

Ένα εργαστηριακό μέγεθος με στατιστικά σημαντική διαφορά ($t=2.211$, $p=0.034$) ανάμεσα στους controls και στους ασθενείς με παρόξυνση Χ.Α.Π. προκύπτει να είναι η CPK η οποία εμφανίζεται με σαφώς αυξημένη μέση τιμή στο πρώτο group (204.63U/L) σε σχέση με το δεύτερο (91.17U/L) αντίστοιχα. Η τιμή της CPK επηρεάζεται από διάφορες παθολογικές καταστάσεις όπως νευρομυϊκές παθήσεις (ακόμη και αρχόμενες), θυροειδοπάθειες (υπο και υπερθυροειδισμός), φάρμακα όπως στατίνες, έντονη σωματική άσκηση, αλλά και καταστάσεις stress όπως κρίσεις, σπασμοί ή έντονη αδυναμία/καταβολή δυνάμεων[48], καταστάσεις οι οποίες δεν συμπεριλήφθηκαν στα κριτήρια αποκλεισμού της συγκεκριμένης μελέτης, συνεπώς το παραπάνω αποτέλεσμα μπορεί να είναι αμφισβητήσιμο λόγω μη ελέγχου συγχυτικών παραγόντων που σχετίζονται με τη CPK. Παρά ταύτα προκύπτουν τιμές CPK και στα δύο γκρουπ στα πλαίσια του φυσιολογικού εύρους, αφού δεν ξεπερνούν το ενάμισο της φυσιολογικής τιμής και έτσι δε χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης[48], ενώ η αυξημένη τιμή στους controls θα μπορούσε να αποδοθεί στην οξεία κατάσταση stress λόγω λοίμωξης με πιθανή ραβδομύωση στα πλαίσια εμπυρέτου με συνοδό έντονη αδυναμία/καταβολή και πιθανούς μυϊκούς σπασμούς, κάτι που μπορεί να παρουσιάζεται και στους ασθενείς με παρόξυνση Χ.Α.Π. αλλά με ηπιότερη συμπτωματολογία και χαμηλότερους δείκτες φλεγμονής, που σε συνδυασμό με τη μειωμένη μάζα σώματος λόγω της χρόνιας νόσου αποτελούν παράγοντες που συμβάλλουν στην σημαντικά μειωμένη τιμή της CPK σε αυτούς τους ασθενείς σε σχέση με τους κατά τα άλλα υγιείς με λοίμωξη αναπνευστικού.

Η συγκριτική μελέτη των τιμών ισοενζύμων LDH και των λόγων αυτών ως προς την ολική LDH, αποτελεί πρωτότυπη μελέτη, διενεργείται για πρώτη φορά, και συνεπώς δεν υπάρχουν βιβλιογραφικά δεδομένα με αποτελέσματα άλλων ερευνών για περαιτέρω σύγκριση. Οι ασθενείς με παρόξυνση Χ.Α.Π. είχαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερες μέσες τιμές λόγων LDH1 και LDH2, και στατιστικά σημαντικά χαμηλότερες μέσες τιμές λόγων LDH3 και LDH4 ως προς την ολική, σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου ακόμη και μετά από εφαρμογή της μεθόδου πολλαπλής αναπλήρωσης (multiple imputation) για τα ελλιπή δεδομένα. Μέση τιμή LDH₁ ως προς την ολική % κατά 5.35% υψηλότερη,

LDH₂ ως προς την ολική % υψηλότερη κατά 2,76%, ενώ LDH₃ και LDH₄ ως προς την ολική % χαμηλότερες κατά 4.45% και 2.54% αντίστοιχα (p<0.05). Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα προκύπτει μια αύξηση των ισοενζύμων που προωθούν τον αερόβιο μεταβολισμό (LDH₁, LDH₂) και μείωση των ισοενζύμων που προωθούν τον αναερόβιο μεταβολισμό (LDH₄) όπως και του ισοενζύμου LDH₃ που προωθεί στον ίδιο βαθμό αερόβιο και αναερόβιο μεταβολισμό. Αν λάβουμε συμπερασματικά το πρότυπο των λόγων των ισοενζύμων LDH ως προς την ολική προκύπτει να υπερισχύουν στο σύνολο τα ισοένζυμα τα υπέρ του αερόβιου σε σχέση με τον αναερόβιο μεταβολισμό. Παρατηρούμε ότι στον ασθενή με Χ.Α.Π. υπερισχύει το στοιχείο του αερόβιου μεταβολισμού, κάτι που επιβεβαιώνεται και παθοφυσιολογικά αφού έχει διαπιστωθεί ότι σε άτομα με Χ.Α.Π., στους μεσοπλεύριους μυς συντελείται ενζυμική δραστηριότητα ανάλογη με αυτή της σωματικής άσκησης αντοχής ενός υγιούς ατόμου[49]. Γι' αυτό και οι αναπνευστικοί μύς διακρίνονται με σημεία τραυματισμού και με αύξηση του αερόβιου μεταβολισμού μέσω της αύξησης των μυϊκών ιών τύπου I, την αύξηση της πυκνότητας των τριχοειδών αγγείων και την αύξηση της δραστηριότητας των ενζύμων της αερόβιας οδού[16]. Κατά τη διάρκεια της παρόξυνσης Χ.Α.Π. σημειώνονται δύο φαινόμενα: Η αύξηση των αντιστάσεων των αεραγωγών και δυναμική υπερδιάταση[17]. Αποτέλεσμα αυτών των δύο φαινομένων είναι η μείωση της εισπνευστικής ικανότητας των ασθενών να σχετίζεται θετικά (με γραμμική συσχέτιση) με το βαθμό δυσλειτουργίας των εισπνευστικών μυών και αρνητικά με τη δύναμη των εκπνευστικών μυών[18]. Περαιτέρω σε περίπτωση παρόξυνσης ή σοβαρότερη Χ.Α.Π. παρατηρείται μεγαλύτερη χρήση των εκπνευστικών αναπνευστικών μυών λόγω της αυξημένης αντίστασης των αεραγωγών και μείωση της δύναμης των εισπνευστικών μυών λόγω αυξημένης υπερδιάτασης των πνευμόνων. Κάτι ανάλογο παρατηρείται και κατά τη διάρκεια της άσκησης ασθενών με σταθερή Χ.Α.Π. όπου τη στιγμή της σωματικής εξάντλησης παρατηρείται στατιστικά σημαντική μείωση της δύναμης των εισπνευστικών μυών και των μυών των κάτω και άνω άκρων, ενώ η μείωση της δύναμης των εκπνευστικών μυών δεν είναι στατιστικά σημαντική[19]. Συνεπώς η παρόξυνση Χ.Α.Π. θα μπορούσε να προσομοιάσει με μια κατάσταση έντονης άσκησης ενός φυσιολογικού ατόμου, που οδηγεί σε αύξηση του αερόβιου μεταβολισμού και τη διαφοροποιεί από μια απλή λοίμωξη αναπνευστικού, οδηγώντας σε αύξηση εκείνων των ισοενζύμων LDH με κυρίαρχο το αερόβιο στοιχείο όπως οι LDH₁, LDH₂ αλλά και η LDH₃.

Επίσης ασθενείς με συχνές παροξύνσεις έχουν μεγαλύτερο βαθμό αρτηριοσκλήρυνσης ιδιαίτερα όταν αυτές συνδέονται με λοιμώξεις αναπνευστικού, αφού φαίνεται να προκαλείται από τη διαδικασία της φλεγμονής, φαίνεται να έχουν αρνητική επίπτωση στη λειτουργικότητα της δεξιάς κοιλίας[21] ενώ ο τραυματισμός του μυοκαρδίου είναι συχνός και στατιστικά σημαντικός κατά τη διάρκεια των παροξύνσεων της νόσου, και περισσότερο σε ασθενείς με ατομικό αναμνηστικό χρόνιας ισχαιμικής καρδιοπάθειας, με το ισοένζυμο LDH₁ να είναι εκείνο που το χαρακτηρίζει, με την αύξησή του σε

ανάλογες καταστάσεις[20]. Όλες αυτές οι διαδικασίες που συμβαίνουν σε μια παρόξυνση Χ.Α.Π. και όχι σε μια απλή λοίμωξη αναπνευστικού, συνεισφέρουν στη διαφοροποίηση μεταξύ των δύο ομάδων και στην περαιτέρω στατιστικά σημαντική αύξηση της LDH₁ στην ομάδα των ασθενών με παρόξυνση Χ.Α.Π. σε σχέση με τις απλές λοιμώξεις αναπνευστικού.

Έτσι εφαρμόζοντας την ανάλυση με καμπύλη ROC, το άθροισμα των λόγων LDH₃ και LDH₄ έχει την υψηλότερη ικανότητα διάκρισης των ασθενών με παρόξυνση Χ.Α.Π. σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (AUC 0.853, p<0.001), με ευαισθησία 78.1% και ειδικότητα 83.3% για τιμή λόγου LDH₃+LDH₄/LDH κάτω του 0.2912 (29.12%), αλλά και ο λόγος LDH₃/LDH παρουσιάζει υψηλή ευαισθησία (78.1%) και ειδικότητα (81%) με AUC:0.836, p<0.05, αποτελέσματα που δικαιολογούνται σύμφωνα με την παθοφυσιολογία και τις μεταβολικές αλλαγές των ασθενών με παρόξυνση Χ.Α.Π. όπως προαναφέρθηκε.

Ο διαχωρισμός των ασθενών με παρόξυνση Χ.Α.Π. σε δυο συστάδες, μια με επικρατέστερους τους λόγους των LDH₁, LDH₂, LDH₃ (ισομορφικό πρότυπο- pattern) (n=33), και η άλλη με επικρατέστερους τους λόγους των LDH₄, LDH₅ (n=9) έδωσε αποτελέσματα ανάλογα με αυτά που προέκυψαν ανάμεσα στους ασθενείς με παρόξυνση Χ.Α.Π. και στους controls με λοίμωξη αναπνευστικού. Όπως οι ασθενείς με παρόξυνση Χ.Α.Π. είχαν υψηλότερα ποσοστά LDH₁, LDH₂ και χαμηλότερα ποσοστά LDH₄ σε σχέση με τους controls, που αποδόθηκε στο υψηλότερο καρδιαγγειακό stress και στον αυξημένο αερόβιο μεταβολισμό στην πρώτη ομάδα σε σχέση με τη δεύτερη αντίστοιχα, έτσι και μεταξύ των ασθενών με Χ.Α.Π. προκύπτει ότι σε εκείνους όπου ευνοείται ο αερόβιος μεταβολισμός, με αυξημένα ποσοστά των LDH₁, LDH₂, LDH₃ και με μειωμένα της LDH₄ και LDH₅, υπάρχουν περισσότερες συνοσηρότητες από το καρδιαγγειακό, σακχαρώδη διαβήτη, αλλά και αυξημένη καπνιστική συνήθεια, δηλαδή συνθήκες που ευνοούν το καρδιαγγειακό stress αλλά και την αναπνευστική δυσχέρεια που προκαλεί την επίταση της αερόβιας λειτουργίας σε μια παρόξυνση. Τα χαμηλά λευκά αιμοσφαίρια σε αυτή τη συστάδα των ασθενών θα μπορούσαν να αποδοθούν στην έκπτωση της αμυντικής λειτουργίας, αλλά και στην πιθανότητα οι παροξύνσεις να εκδηλώνονται πιο εύκολα και με εκλυτικούς παράγοντες πέρα των λοιμώξεων, αφού πρόκειται για κατηγορία ασθενών Χ.Α.Π. με περισσότερες συνοσηρότητες και βαρύτερη καπνιστική συνήθεια. Ανάλογο αποτέλεσμα με αυτό της CRP που προέκυψε μειωμένο στους ασθενείς με Χ.Α.Π. σε σχέση με τους controls.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η ανωτέρω συγκριτική συγχρονική μελέτη που διενεργήθηκε ανάμεσα σε ασθενείς με Χ.Α.Π. σε συνθήκες παρόξυνσης, και σε μη αποφρακτικούς ασθενείς με λοίμωξη αναπνευστικού, συγκρίνοντας κυρίως τις τιμές και τα ποσοστά των ισοενζύμων LDH, είναι μια πρωτότυπη μελέτη όπου έγινε για

πρώτη φορά, δίνοντας ως κύριο τελικό αποτέλεσμα τον προσδιορισμό των ποσοστών των ισοενζύμων LDH₃ και LDH₄ ως δείκτες υψηλής ευαισθησίας και ειδικότητας για το διαχωρισμό αυτών των δυο ομάδων. Αποτέλεσμα που θα μπορούσε να τους χαρακτηρίσει και ως βιοχημικούς δείκτες παρόξυνσης Χ.Α.Π. Τα συμπεράσματα αυτής της μελέτης θα μπορούσαν να αποτελέσουν την αφετηρία για την απόλυτη και συγκριτική μέτρηση των ισοενζύμων LDH σε ακόμη μεγαλύτερους πληθυσμούς ασθενών, αλλά και σε άλλους πληθυσμούς αναπνευστικών ασθενών, όπως ασθενείς με σταθερή Χ.Α.Π., για ακόμη εγκυρότερα και πληρέστερα αποτελέσματα.

BIBΛIOΓPAΦIA

1. Vogelmeier CF(1), Criner GJ(2), Martínez FJ(3), Anzueto A(4), Barnes PJ(5), Bourbeau J(6), Celli BR(7), Chen R(8), Decramer M(9), Fabbri LM(10), Frith P(11), Halpin DM(12), López Varela MV(13), Nishimura M(14), Roche N(15), Rodríguez-Roisin R(16), Sin DD(17), Singh D(18), Stockley R(19), Vestbo J(18), Wedzicha JA(20), Agustí A(21). Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Lung Disease 2017 Report: GOLD Executive Summary. *Arch Bronconeumol.* 2017 Mar;53(3):128-149. doi: 10.1016/j.arbres.2017.02.001.
2. Cepelak I(1), Dodig S, Romić D, Ruljancić N, Popović-Grle S, Malic A. Enzyme catalytic activities in chronic obstructive pulmonary disease. *Arch Med Res.* 2006 Jul;37(5):624-9.
3. Shi Y(1), Pinto BM(1). Human lactate dehydrogenase a inhibitors: a molecular dynamics investigation. *PLoS One.* 2014 Jan 17;9(1):e86365.
4. Drent M(1), Cobben NA, Henderson RF, Wouters EF, van Diejen-Visser M. Usefulness of lactate dehydrogenase and its isoenzymes as indicators of lung damage or inflammation. *Eur Respir J.* 1996 Aug;9(8):1736-42.
5. Terpstra ML(1), Aman J, van Nieuw Amerongen GP, Groeneveld AB. Plasma biomarkers for acute respiratory distress syndrome: a systematic review and meta-analysis*. *Crit Care Med.* 2014 Mar;42(3):691-700.
6. Han S(1), Mallampalli RK(2). The acute respiratory distress syndrome: from mechanism to translation. *J Immunol.* 2015 Feb 1;194(3):855-60.
7. Nillawar AN(1), Bardapurkar JS, Bardapurkar SJ. High sensitive C-reactive protein as a systemic inflammatory marker and LDH-3 isoenzyme in chronic obstructive pulmonary disease. *Lung India.* 2012 Jan;29(1):24-9.
8. Spruit MA, Pennings HJ, Does JD, Möller GM, Janssen PP, Wouters EF. Serum LDH and exercise capacity in COPD. *Thorax.* 2008 May;63(5):472.
9. Torres SH(1), de Oca M, Loeb E, Zabner-Oziel P, Wallis V, Hernández N. [Lactate dehydrogenase isozymes in skeletal muscle of patients with chronic obstructive pulmonary disease]. *Arch Bronconeumol.* 2009 Feb;45(2):75-80.
10. Launois C(1), Barbe C, Bertin E, Nardi J, Perotin JM, Dury S, Lebagry F, Deslee G. The modified Medical Research Council scale for the assessment of dyspnea in daily living in obesity: a pilot study. *BMC Pulm Med.* 2012 Oct 1;12:61.
11. Minov J(1), Karadzinska-Bislimovska J(1), Vasilevska K(2), Stoleski S(1), Mijakoski D(1). Course of COPD Assessment Test (CAT) Scores During Bacterial Exacerbations of Chronic Obstructive Pulmonary Disease Treated in Outpatient Setting. *Open Respir Med J.* 2015 Mar 31;9:39-45.
12. Anthonisen NR, Manfreda J, Warren CPW, Hershfield ES, Harding GKM, Nelson NA. Antibiotic therapy in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Ann Intern Med* 1987;106(2):196–204.
13. Wedzicha JA(1), Donaldson GC. Exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Care.* 2003 Dec;48(12):1204-13;

14. Ko FW(1), Chan KP(2), Hui DS(2), Goddard JR(3)(4), Shaw JG(3)(4), Reid DW(3)(4)(5), Yang IA(3)(4). Acute exacerbation of COPD. *Respirology*. 2016 Oct;21(7):1152-65.
15. Bathoorn E(1), Kerstjens H, Postma D, Timens W, MacNee W. Airways inflammation and treatment during acute exacerbations of COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2008;3(2):217-29.
16. Gea J(1), Agustí A, Roca J. Pathophysiology of muscle dysfunction in COPD. *J Appl Physiol* (1985). 2013 May;114(9):1222-34.
17. Reddy RM(1), Guntupalli KK. Review of ventilatory techniques to optimize mechanical ventilation in acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. . *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2007;2(4):441-52.
18. Mesquita R(1), Donária L, Genz IC, Pitta F, Probst VS. Respiratory muscle strength during and after hospitalization for COPD exacerbation. *Respir Care*. 2013 Dec;58(12):2142-9.
19. Bachasson D(1), Wuyam B, Pepin JL, Tamisier R, Levy P, Verges S. Quadriceps and respiratory muscle fatigue following high-intensity cycling in COPD patients. *PLoS One*. 2013 Dec 6;8(12):e83432.
20. Patel AR(1), Kowlessar BS, Donaldson GC, Mackay AJ, Singh R, George SN, Garcha DS, Wedzicha JA, Hurst JR. Cardiovascular risk, myocardial injury, and exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013 Nov 1;188(9):1091-9.
21. Ozben B(1), Eryuksel E, Tanrikulu AM, Papila N, Ozyigit T, Celikel T, Basaran Y. Acute Exacerbation Impairs Right Ventricular Function in COPD Patients. . *Hellenic J Cardiol*. 2015 Jul-Aug;56(4):324-31.
22. Chen YW(1), Leung JM(1), Sin DD(1). A Systematic Review of Diagnostic Biomarkers of COPD Exacerbation. *PLoS One*. 2016 Jul 19;11(7):e0158843.
23. Bafadhel M, McKenna S, Terry S, Mistry V, Reid C, et al. (2011) Acute Exacerbations of Chronic Obstructive Pulmonary Disease Identification of Biologic Clusters and Their Biomarkers. *Am J Respir Crit Care Med* 184: 662–671. doi: 10.1164/rccm.201104-0597OC PMID: 21680942
24. Lacoma A, Prat C, Andreo F, Lores L, Ruiz-Manzano J, et al. (2011) Value of procalcitonin, C-reactive protein, and neopterin in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 6: 157–169. doi: 10.2147/COPD.S16070 PMID: 21468168
25. Stolz D, Breidthardt T, Christ-Crain M, Bingisser R, Miedinger D, et al. (2008) Use of B-type natriuretic peptide in the risk stratification of acute exacerbations of COPD. *Chest* 133: 1088–1094. doi: 10.1378/chest.07-1959 PMID: 18339792
26. Jin Q, Chen Y, Lou Y, He X (2013) Low Serum retinol-binding protein-4 levels in acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease at intensive care unit admission is a predictor of mortality in elderly patients. *J Inflamm (Lond)* 10: 31.
27. Hurst JR, Donaldson GC, Perera WR, Wilkinson TMA, Bilello JA, et al. (2006) Use of plasma biomarkers at exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 174: 867–874. PMID: 16799074
28. Gumus A, Altintas N, Cinarka H, Kirbas A, Haziroglu M, et al. (2015) Soluble urokinase-type plasminogen activator receptor is a novel biomarker predicting acute exacerbation in COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 10: 357–365. doi: 10.2147/COPD.S77654 PMID: 25709430

29. Shakoori TA, Sin DD, Ghafoor F, Bashir S, Bokhari SN (2009) Serum surfactant protein D during acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Dis Markers* 27: 287–294. doi: 10.3233/DMA-2009-0674 PMID: 20075511
30. Falsey AR, Becker KL, Swinburne AJ, Nylen ES, Snider RH, et al. (2012) Utility of serum procalcitonin values in patients with acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: a cautionary note. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 7: 127–135. doi: 10.2147/COPD.S29149 PMID: 22399852
31. Quint JK, Donaldson GC, Goldring JJ, Baghai-Ravary R, Hurst JR, et al. (2010) Serum IP-10 as a biomarker of human rhinovirus infection at exacerbation of COPD. *Chest* 137: 812–822. doi: 10.1378/chest.09-1541 PMID: 19837822
32. Pazarli AC, Koseoglu HI, Doruk S, Sahin S, Etikan I, et al. (2012) Procalcitonin: Is it a predictor of noninvasive positive pressure ventilation necessity in acute chronic obstructive pulmonary disease exacerbation? *J Res Med Sci* 17: 1047–1051. PMID: 23833579
33. Phua J, Koay ES, Zhang D, Tai LK, Boo XL, et al. (2006) Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in acute respiratory infections. *Eur Respir J* 28: 695–702. PMID: 16837506
34. Adnan AM, Ammar AZ, Khalil K (2013) Role of eotaxin in chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Int J Pharm Sci Rev Res* 21: 10–14.
35. Dempster S(1), Harper S(2), Moses JE(1), Dreveny I(2). Structural characterization of the apo form and NADH binary complex of human lactate dehydrogenase. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*. 2014 May;70(Pt 5):1484-90.
36. Eventoff W, Rossmann MG, Taylor SS, Torff HJ, Meyer H, Keil W, Kiltz HH. Structural adaptations of lactate dehydrogenase isozymes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1977 Jul;74(7):2677-81.
37. Liang X(1), Liu L(1), Fu T(1), Zhou Q(1), Zhou D(1), Xiao L(1), Liu J(1), Kong Y(2), Xie H(3), Yi F(3), Lai L(4), Vega RB(4), Kelly DP(4), Smith SR(3), Gan Z(5)(6). Exercise Inducible Lactate Dehydrogenase B Regulates Mitochondrial Function in Skeletal Muscle. *J Biol Chem*. 2016 Dec 2;291(49):25306-25318.
38. Faruqi S(1), Wilmot R, Wright C, Morice AH. Serum LDH in chronic cough: a potential marker of airway inflammation. *Clin Respir J*. 2012 Apr;6(2):81-7. doi: 10.1111/j.1752-699X.2011.00250.x. Epub 2011 Jul 18.
39. Cobben NA(1), Drent M, Schols AM, Lamers RJ, Wouters EF, Van Dieijen-Visser MP. Serum lactate dehydrogenase and its isoenzyme pattern in ex-coalminers. *Respir Med*. 1997 Nov;91(10):616-23.
40. Liu TY(1), Lee WJ(2), Tsai CM(1), Kuo KC(1), Lee CH(3), Hsieh KS(1), Chang CH(4), Su YT(5), Niu CK(1), Yu HR(6). Serum lactate dehydrogenase isoenzymes 4 plus 5 is a better biomarker than total lactate dehydrogenase for refractory *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia in children. *Pediatr Neonatol*. 2017 Dec 26. pii: S1875-9572(17)30472-2. doi: 10.1016/j.pedneo.2017.12.008.
41. Sánchez Navarro MR(1), Oliver Almendros C, Peña Caballero M, Hurtado JA, Samaniego Muñoz M. Lactate dehydrogenase isoenzymes in the serum and bronchial aspirate of newborn infants with respiratory difficulty of different etiologies. *An Esp Pediatr*. 1996 Jul;45(1):62-6.

42. Lott JA, Stang JM. Serum enzymes and isoenzymes in the diagnosis and differential diagnosis of myocardial ischemia and necrosis. *Clin Chem*. 1980 Aug;26(9):1241-50.
43. Giannoulaki EE(1), Kalpaxis DL, Tentas C, Fessas P. Lactate dehydrogenase isoenzyme pattern in sera of patients with malignant diseases. . *Clin Chem*. 1989 Mar;35(3):396-9.
44. Gardner K, Thein SL. Super-elevated LDH and thrombocytopenia are markers of a severe subtype of vaso-occlusive crisis in sickle cell disease. *Am J Hematol*. 2015 Oct;90(10):E206-7. doi: 10.1002/ajh.24126. Epub 2015 Sep 1.
45. Yasmineh WG, Ibrahim GA, Abbasnezhad M, Awad EA. Isoenzyme distribution of creatine kinase and lactate dehydrogenase in serum and skeletal muscle in Duchenne muscular dystrophy, collagen disease, and other muscular disorders. *Clin Chem*. 1978 Nov;24(11):1985-9
46. Ozel AT, Ibrahim G, Awad EA, Fish LA. Lactate dehydrogenase isoenzyme levels in collagen disease. *Arch Phys Med Rehabil*. 1977 Oct;58(10):431-4
47. Vaziri ND(1), Miyada DS, Kim I, Reid J, Ocariz J. Serum LDH and LDH isoenzymes in chronic renal failure: effect of hemodialysis. *Int J Artif Organs*. 1990 Apr;13(4):223-7
48. Moghadam-Kia S(1)(2), Oddis CV(1), Aggarwal R(3). Approach to asymptomatic creatine kinase elevation. *Cleve Clin J Med*. 2016 Jan;83(1):37-42. doi: 10.3949/ccjm.83a.14120.
49. Sanchez J(1), Brunet A, Medrano G, Debesse B, Derenne JP. Metabolic enzymatic activities in the intercostal and serratus muscles and in the latissimus dorsi of middle-aged normal men and patients with moderate obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J*. 1988 Apr;1(4):37683.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1

A.M.: ΝΟΣ. : ΑΠΟ.....

ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΑΣΘΕΝΟΥΣ (τηλ:)

Επώνυμο: Όνομα: Ετών: Ύψος:Βάρος: Είστε Καπνιστής; ΝΑΙ ΟΧΙ

- Αν ΝΑΙ πόσων ετών ξεκινήσατε; Πόσα τσιγάρα κάνετε την ημέρα;
- Αν ΟΧΙ ήσασαν καπνιστής στο παρελθόν; Σε ποια ηλικία το διακόψατε;Πόσα χρόνια καπνίζατε; Πόσα τσιγάρα κάνατε την ημέρα;.....

Πάσχετε από κάποια νόσο και αν ΝΑΙ ποια είναι αυτή;

Λαμβάνετε φάρμακα και αν ΝΑΙ ποια είναι αυτά;

Πάσχετε από ΧΑΠ ή άσθμα; ΝΑΙ ΟΧΙ Δεν γνωρίζω

- Αν ΝΑΙ έχετε κάνει ποτέ σπιρομέτρηση; Πριν πόσο καιρό ήταν η τελευταία;Σπιρομετρικές τιμές;.....
Πόσες φορές χρειάστηκε να νοσηλευθείτε τα τελευταία 2 χρόνια λόγω ΧΑΠ ή λοίμωξης στο αναπνευστικό;.....Τα τελευταία 2 χρόνια πόσα επεισόδια είχατε με αυξημένη δύσπνοια, φλέγματα και βήχα;.....
CAT score;.....ABG's.....

ΑΠΟ ΤΑ ΠΑΡΑΚΑΤΩ ΝΟΥΜΕΡΑ ΚΥΚΛΩΣΤΕ ΑΥΤΟ ΠΟΥ ΑΝΤΙΠΡΟΣΩΠΕΥΕΙ ΚΑΛΥΤΕΡΑ ΤΗΝ ΔΥΣΠΝΟΙΑ ΣΑΣ ΟΤΑΝ Η ΧΑΠ ΣΑΣ ΕΙΝΑΙ ΣΕ ΣΤΑΘΕΡΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ (ΔΗΛΑΔΗ ΟΧΙ ΕΠΙΔΕΙΝΩΜΕΝΗ).

- 0 δεν προκαλείται δύσπνοια, εκτός επί κοπιώδους προσπάθειας
- 1 δύσπνοια, όταν περπατάω γρήγορα ή ανεβαίνω ανηφορικό επίπεδο
- 2 βαδίζω αργότερα από τους συνοδοιπόρους μου σε επίπεδο έδαφος λόγω δύσπνοιας, σταματάω για αναπνοή, όταν περπατάω με τη δική μου ταχύτητα.
- 3 σταματάω για αναπνοή, μετά διαδρομή περίπου 100 μέτρων ή μετά λίγα λεπτά, βάδιση επί οριζοντίου επιπέδου.
- 4 Είμαι δυσπνοϊκός και αποφεύγω να απομακρυνθώ από το σπίτι μου ή δυσπνοώ όταν ντύνομαι ή ξεντύνομαι.

ΕΑΝ ΝΟΣΗΛΕΥΕΣΘΕ ΛΟΓΩ ΧΑΠ Η ΛΟΙΜΩΞΗΣ ΚΥΚΛΩΣΤΕ ΑΠΟ ΤΑ ΠΑΡΑΚΑΤΩ ΝΟΥΜΕΡΑ ΑΥΤΟ ΠΟΥ ΑΝΤΙΠΡΟΣΩΠΕΥΕ ΚΑΛΥΤΕΡΑ ΤΗ ΔΥΣΠΝΟΙΑ ΠΟΥ ΣΑΣ ΟΔΗΓΗΣΕ ΣΤΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ

- 0 Όχι δύσπνοια, εκτός επί κοπιώδους προσπάθειας
- 1 Δύσπνοια, όταν περπάταγα γρήγορα ή ανέβαινα ανηφορικό επίπεδο
- 2 Βάδιζα αργότερα από τους συνοδοιπόρους μου σε επίπεδο έδαφος λόγω δύσπνοιας, σταμάταγα για αναπνοή, όταν περπάταγα με τη δική μου ταχύτητα.
- 3 Σταμάταγα για αναπνοή, μετά διαδρομή περίπου 100 μέτρων ή μετά λίγα λεπτά, βάδιση επί οριζοντίου επιπέδου.
- 4 Ήμωνα δυσπνοιϊκός και απέφευγα να απομακρυνθώ από το σπίτι μου ή δυσπνοούσα όταν ντυνόμουν ή ξεντυνόμουν.

CAT score..... ABG'S.....

ΥΠΟΓΡΑΜΜΙΣΤΕ ΑΝ ΕΧΕΤΕ ΚΑΠΟΙΟ ΑΠΟ ΤΑ ΠΑΡΑΚΑΤΩ ΝΟΣΗΜΑΤΑ:

Βρογχεκτασίες ή κυστική ίνωση

Πρόσφατο έμφραγμα μυοκαρδίου (λιγότερο από δύο εβδομάδες)

Μυϊκή δυστροφία

Αιμόλυση ή αιμολυτική αναιμία, μεγαλοβλαστική ή δρεπανοκυτταρική αναιμία

Πνευμονικά ή νεφρικά εμφράγματα, πρόσφατη πνευμονική εμβολή (λιγότερο από 3 μήνες)

Σοβαρές ηπατικές νόσοι όπως κίρρωση ή αποφρακτικός ίκτερος ή ιογενής ηπατίτιδα, βαρύς αλκοολισμός

Ενεργές διαταραχές του κολλαγόνου

Ενεργός λοίμωξη πέραν του αναπνευστικού,

Εντερική απόφραξη

Σοβαρές αιματολογικές νόσοι (λεμφώματα, λεμφοκυτταρική λευχαιμία),

Σοβαρή καρδιακή ανεπάρκεια

Κατάγματα ή σοβαρός τραυματισμός σκελετικών μυών

Ενεργές νεοπλασίες-καρκίνος

ΔΙΑΓΝΩΣΗ:

CRP:

WBC:

NEUT:

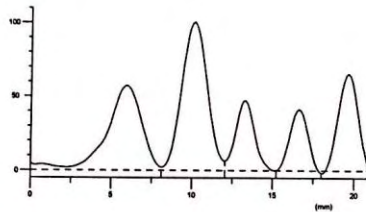
LDH:

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 2

**ΣΙΣΜΑΝΟΓΛΕΙΟ ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ
ΒΙΟΧΗΜΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ**

ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ ΙΣΟΕΝΖΥΜΩΝ LDH

Item	Value	Nr of Band on GEL
ΟΝΟΜΑ ΑΣΘΕΝΗ ΚΩΔΙΚΟΣ ΑΣΘΕΝΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ()	0.00	11



Index	Band	Rel.Area	Conc. ()	Range ()
1	LD1	27.11%	0.00	20.60% ... 32.00%
2	LD2	34.29%	0.00	31.10% ... 35.90%
3	LD3	11.92% L	0.00	19.80% ... 25.70%
4	LD4	9.88%	0.00	7.00% ... 10.40%
5	LD5	16.80% H	0.00	6.50% ... 14.00%
Total			0.00	

Ratio

ΣΧΟΛΙΑ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ

18/5/2018 1:25:20μμ

