



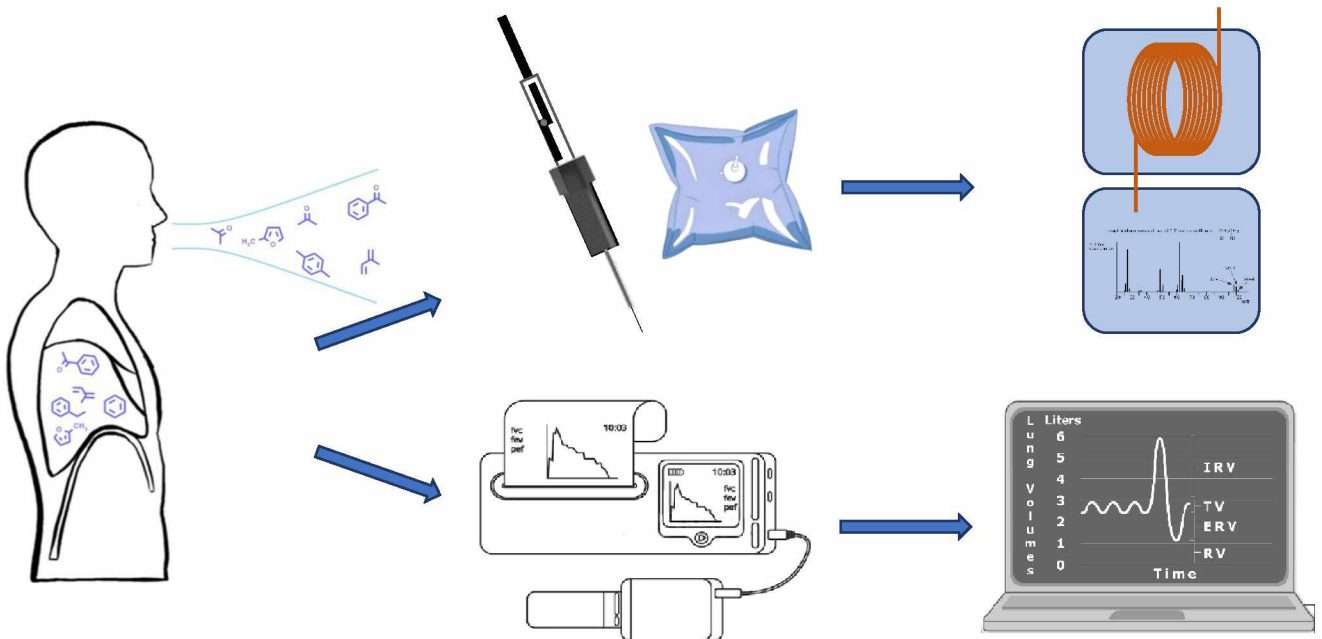
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ & ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ  
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
“ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑ”

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Ιωάννα Χατζέλλη

Χημικός

“Μελέτη του μεταβολικού προφίλ του εκπνεόμενου αέρα για τη διάγνωση των παθήσεων του αναπνευστικού συστήματος.”



ΛΑΡΙΣΑ 2020

**“Μελέτη του μεταβολικού προφίλ του εκπνεόμενου αέρα για  
τη διάγνωση των παθήσεων του αναπνευστικού  
συστήματος.”**

**“Study of the metabolic profile of the exhaled air for the  
diagnosis of respiratory system diseases”**

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:

ΤΣΑΚΑΛΩΦ ΑΝΔΡΕΑΣ, ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ  
ΧΗΜΕΙΑΣ, ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ, ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΤΣΑΚΑΛΩΦ ΑΝΔΡΕΑΣ, ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ  
ΧΗΜΕΙΑΣ, ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ, ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΓΟΥΡΓΟΥΛΙΑΝΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΝΕΥΜΟΝΟΛΟΓΙΑΣ,  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ, ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΚΟΥΡΕΑΣ ΜΙΧΑΗΛ, ΜΕΤΑΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΟΣ ΕΡΕΥΝΗΤΗΣ, ΤΜΗΜΑ  
ΙΑΤΡΙΚΗΣ, ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Ευχαριστίες .....	7
Περίληψη.....	8
Abstract .....	10
Λίστα συντομεύσεων .....	12

### ΜΕΡΟΣ ΠΡΩΤΟ

#### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1<sup>ο</sup>: ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΚΑΙ ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

1. Φυσιολογία του πνεύμονα.....	13
1.1 Πνευμονική Λειτουργία .....	14
1.2. Σπυρομέτρηση.....	15
1.2.1. Παράμετροι Σπυρομέτρησης.....	17
1.3. Παθήσεις του αναπνευστικού συστήματος.....	18
1.3.1. Αποφρακτικές πνευμονοπάθειες .....	18
1.3.1.1. Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια .....	19
1.3.1.2. Άσθμα.....	20
1.3.1.3. Πνευμονικό Εμφύσημα .....	21
1.3.1.4. Βρογχίτιδα .....	21
1.3.1.5. Κυστική Ίνωση.....	22
1.4. Περιοριστικές πνευμονοπάθειες.....	22
1.4.1. Ιδιοπαθής Πνευμονική Ίνωση .....	23
1.5. Καρκίνος του Πνεύμονα .....	23

#### ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2<sup>ο</sup>: ΜΕΘΟΔΟΙ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΩΝ ΠΑΘΗΣΕΩΝ

2. Συμβατικές μέθοδοι διάγνωσης του καρκίνου του πνεύμονα.....	29
2.1. Η έννοια της διαγνωστικής αξίας των μεθόδων.....	29
2.2. Αξονική τομογραφία (Computed Tomography).....	31
2.3. Μαγνητική τομογραφία (Magnetic Resonance Imaging).....	31
2.4. Βρογχοσκόπηση .....	32
2.5. Καινοτόμες μέθοδοι διάγνωσης αναπνευστικών παθήσεων.....	34

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3<sup>ο</sup> : ΟΙ ΠΤΗΤΙΚΕΣ ΟΡΓΑΝΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΩΣ**

### **ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ**

- 3. Ανίχνευση πτητικών οργανικών ενώσεων (ΠΟΕ) στον εκπνεόμενο αέρα... 35
- 3.1. Η αξία των ΠΟΕ στη έγκαιρη διάγνωση πνευμονοπαθειών ..... 36
- 3.2. Μέθοδοι διάγνωσης πνευμονοπαθειών μέσω ανάλυσης εκπνεόμενου αέρα... 37

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4<sup>ο</sup>: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΕΚΠΝΕΟΜΕΝΟΥ ΑΕΡΑ**

- 4. Μεθοδολογία ενόργανης ανάλυσης των ΠΟΕ του εκπνεόμενου αέρα..... 41
- 4.1. Δειγματοληψία εκπνεόμενου αέρα σε σάκους Tedlar ..... 41
- 4.2. Απομόνωση και προσυγκέντρωση των ΠΟΕ με μικροεκχύλιση στερεής φάσης (Solid Phase Micro-Extraction) ..... 42
- 4.3. Αέρια Χρωματογραφία-Φασματομετρία Μάζας με αναλυτή μάζας παγίδας ιόντων (GC-IT-MS) ..... 43
- 4.4. Στοχευμένη και μη στοχευμένη ανάλυση των ΠΟΕ..... 46

## **ΜΕΡΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ**

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1<sup>ο</sup>: ΕΝΟΡΓΑΝΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΚΠΝΕΟΜΕΝΟΥ ΑΕΡΑ**

- 1. Πειραματικό μέρος..... 47
- 1.1. Πρωτόκολλο κατασκευής καμπύλης βαθμονόμησης..... 51
- 1.2. Πρωτόκολλο συλλογής και ανάλυσης πραγματικών δειγμάτων εκπνεόμενου αέρα 52
- 1.3 Μέθοδος στατιστικής επεξεργασίας αποτελεσμάτων ..... 53

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2<sup>ο</sup>: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ / ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

- 2.1. Χαρακτηριστικά του υπό μελέτη πληθυσμού ..... 54
- 2.2. Συγκεντρώσεις ΠΟΕ στην εκπνοή των συμμετεχόντων ..... 54
- 2.3. Αποτελέσματα Σπιρομετρήσεων ..... 55
- 2.4. Αποτελέσματα ανάλυσης για τον προσδιορισμό συσχετίσεων μεταξύ επιπέδων ΠΟΕ και παραμέτρων σπιρομέτρησης ..... 56
- 3. Συμπεράσματα ..... 72
- 4. Βιβλιογραφία..... 73
- 5. Παράρτημα..... 77

## Ευχαριστίες

Κατά την ολοκλήρωση της διπλωματικής μου εργασίας είναι απαραίτητο να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες σε ορισμένους ανθρώπους χωρίς την συμβολή των οποίων δε θα μπορούσε να ολοκληρωθεί αυτή η εργασία.

Πρώτα από όλους θα ήθελα ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου και σπουδαίο επιστήμονα, κύριο Τσακάλωφ Ανδρέα, για την ανεκτικότητα, την εμπιστοσύνη και την καθοδήγησή του σε κάθε μου βήμα.

Επίσης, ευχαριστώ τον κύριο Κουρέα Μιχαήλ χωρίς τη βοήθεια και υποστήριξη του οποίου δε θα ήταν δυνατή η ολοκλήρωση αυτής της εργασίας.

Ευχαριστώ τον διακεκριμένο και σπουδαίο πνευμονολόγο και καθηγητή, Γουργουλιάνη Κωνσταντίνο για την άψογη συνεργασία καθ' όλη τη διάρκεια της διπλωματικής μου εργασίας.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς την οικογένεια μου για την αμέριστη ηθική και υλική υποστήριξη που μου παρείχε όλο αυτό το διάστημα, τονίζοντας ιδιαίτερα την πρότερη συμβολή του πατέρα μου Χατζέλλη Μιχαήλ στο οποίο τη μνήμη αφιερώνω την παρακάτω διπλωματική.

## Περίληψη

**Εισαγωγή:** Σύμφωνα με τον παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, κάθε χρόνο τα αναπνευστικά νοσήματα προκαλούν περίπου 1 εκατομμύριο θανάτους. Ο καρκίνος του πνεύμονα ευθύνεται για τους περισσότερους θανάτους από αναπνευστικά νοσήματα, έπειτα ακολουθούν, η Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια, (ΧΑΠ), οι λοιμώξεις του κατώτερου αναπνευστικού και η φυματίωση<sup>[1]</sup>. Ετησίως στην Ευρωπαϊκή Ένωση, το 12,5% των θανάτων οφείλονται σε αναπνευστικά νοσήματα, ενώ παράλληλα ο αριθμός των εισαγωγών στο νοσοκομείο εξαιτίας αυτών ανέρχεται τουλάχιστον στα 6 εκατομμύρια.. Η μη έγκαιρη διάγνωση είναι ο βασικός παράγοντας της αυξημένης θνησιμότητας που συνοδεύει τις ασθένειες του αναπνευστικού συστήματος. Επομένως υπάρχει ανάγκη για ανάπτυξη διαγνωστικών μεθόδων οι οποίες θα εντοπίζουν την ασθένεια σε πρώιμο στάδιο με τον ελάχιστο επεμβατικό τρόπο και μειωμένο κόστος. Η ανάλυση των πτητικών οργανικών ενώσεων (ΠΟΕ) στον εκπνεόμενο αέρα είναι μια νέα υποσχόμενη μεθοδολογία για την πρώιμη διάγνωση του καρκίνου που καλύπτει αυτές τις απαιτήσεις<sup>[2]</sup>. Σε προηγούμενη μελέτη του εργαστηρίου βρέθηκε ότι οι συγκεντρώσεις τολουολίου, αιθυλοβενζολίου και στυρολίου ήταν αυξημένες σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα και σε ασθενείς με άλλες αναπνευστικές παθήσεις σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες<sup>[3]</sup>. Επομένως οι μεταβολές στις συγκεντρώσεις των ΠΟΕ μπορεί εν δυνάμει να αντανακλούν μεταβολές στην πνευμονική λειτουργία αλλά και στη βιοχημική κατάσταση του ανθρώπου.

**Στόχος εργασίας:** Μελέτη του μεταβολικού προφίλ του εκπνεόμενου αέρα (με έμφαση στις μονοαρωματικές ενώσεις) και συσχέτισή του με την λειτουργία του αναπνευστικού συστήματος, με απώτερο στόχο την ανάπτυξη μεθοδολογίας διάγνωσης των αναπνευστικών παθήσεων, όπως ο καρκίνος του πνεύμονα, η ΧΑΠ και η κυστική ίνωση.

**Μεθοδολογία :** Η παρούσα μελέτη περιλαμβάνει αρχικά τον έλεγχο της αναπνευστικής λειτουργίας με τη μέθοδο της σπιρομέτρησης. Παράλληλα πραγματοποιείται ανάλυση των μεταβολιτών με δειγματοληψία του εκπνεόμενου αέρα από υγιείς και ασθενείς εθελοντές της Πνευμονολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας, προσυγκέντρωση των ΠΟΕ μέσω μικροεκχύλισης στερεής φάσης (SPME) και ενόργανη ανάλυση με αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μαζών (GC-MS). Η επεξεργασία των δεδομένων της ενόργανης ανάλυσης πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό Xcalibur™, με το πρόγραμμα Microsoft Excel και το στατιστικό πακέτο IBM SPSS v.26. Το μεταβολικό προφίλ συσχετίζεται με τις παραμέτρους της αναπνευστικής λειτουργίας με απώτερο στόχο την αποκάλυψη του τρόπου με τον οποίο οι διαταραχές του αναπνευστικού συστήματος (καρκίνος, ΧΑΠ) επηρεάζουν την συγκέντρωση των μεταβολιτών στον εκπνεόμενο αέρα.

**Αποτελέσματα:** Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ των ΠΟΕ και των παραμέτρων της σπιρομέτρησης. Συγκεκριμένα βρέθηκε να συσχετίζεται η συγκέντρωση της ακετόνης με την παράμετρο FEV1 (P-Value=0,004). Επίσης παρατηρήθηκε συσχέτιση της κυψελιδικής κλίσης της ισοπροπανόλης με την



παράμετρο FVC (P-Value=0,005), με την παράμετρο ERV (P-Value<0,0001), με την παράμετρο RV (P-Value<0,0001), με την παράμετρο FRC (P-Value<0,003) και με την παράμετρο TLC (P-Value<0,0001). Επιπλέον βρέθηκε να συσχετίζεται ο λόγος συγκέντρωσης εκπνοής/εισπνοής της ισοπροπανόλης με την παράμετρο FEV1 (P-Value=0,005), με την παράμετρο FVC (P-Value=0,002), με την παράμετρο RV (P-Value=0,001), με την παράμετρο FRC (P-Value<0,0007) και με την παράμετρο TLC (P-Value<0,0001). Βρέθηκε επίσης συσχέτιση της κυψελιδικής κλίσης του βενζολίου, με τις παραμέτρους: RV (P-Value=0,001) και FRC (P-Value=0,0037). Τέλος βρέθηκε συσχέτιση του λόγου συγκέντρωσης εκπνοής/εισπνοής του βενζολίου με τις παραμέτρους RV (P-Value=0,001), FRC (P-Value<0,0007) και TLC (P-Value=0,004). Για τις ενώσεις :τολουόλιο, βουτυρικό αιθυλεστέρα, αιθυλοβενζόλιο και στυρόλιο δεν βρέθηκε κάποια σημαντική συσχέτιση.

**Συμπεράσματα:** Το πλήθος των συσχετίσεων που βρέθηκε για ορισμένες από τις ΠΟΕ-στόχους με τις παραμέτρους της σπιρομέτρησης αποτελεί ισχυρή ένδειξη ότι η μεταβολή των συγκεντρώσεων των ΠΟΕ στον εκπνεόμενο αέρα εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την λειτουργία του αναπνευστικού συστήματος.

## Abstract

**Introduction:** According to the World Health Organization (WHO), respiratory diseases cause about 1 million deaths per year. Lung cancer is the leading cause of death compared to other respiratory diseases, followed by Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD), lower respiratory tract infections and tuberculosis<sup>[1]</sup>. Every year in the European Union 12,5% of deaths are due to respiratory diseases while lung diseases are responsible for at least 6 million hospitalizations. Late detection and diagnosis are the main factors of increased mortality that accompanies diseases of the respiratory system. Therefore, there is a need to develop diagnostic methods that will be able to detect the disease at an early stage with minimal invasiveness and reduced cost.

The analysis of volatile organic compounds (VOCs) in exhaled air is a promising new methodology for the early diagnosis of cancer that meets these requirements<sup>[2]</sup>. A previous study showed that toluene, ethylbenzene, and styrene concentrations were elevated in patients with lung cancer and in patients with other respiratory conditions compared to healthy controls<sup>[3]</sup>. Therefore, changes in VOCs concentrations may potentially reflect changes of human lung function and biochemical status.

**Objective:** The study of the metabolic profile of exhaled air (with emphasis on monoaromatic compounds) and its correlation with the function of the respiratory system, with main goal of developing a methodology for diagnosing respiratory diseases such as lung cancer, COPD and cystic fibrosis.

**Methodology:** The present study initially includes the determination of pulmonary function by the method of spirometry. Concurrently exhaled breath samples were collected, metabolites were analysed by sampling of exhaled air from healthy volunteers and patients of Respiratory Medicine Department of University Hospital of Larisa with, pre-concentration of VOCs by solid phase microextraction (SPME) and instrumental analysis by gas chromatography-mass spectrometry (GC - MS). The instrumental data were processed using the Xcalibur software, Microsoft Excel and IBM SPSS v.26. The metabolic profile is correlated with the parameters of respiratory function with the goal of revealing the way in which respiratory diseases (cancer, COPD) affect the concentration of metabolites in the exhaled air.

**Results:** Significant correlations were found between VOC's and the parameters measured with spirometry. Specifically, correlation was found between the concentration of acetone with the parameter FEV1 (P-Value = 0,004). It was also observed that the alveolar gradient of isopropanol was correlated with the parameters FVC (P-Value = 0,005), ERV (P-Value<0,0001), RV (P-Value<0,0001), FRC (P-Value<0,003) and TLC (P-Value<0,0001). In addition, the exhalation/inhalation concentration ratio of isopropanol was found to correlate with the parameters FEV1 (P-Value=0,005), FVC (P-Value=0.002), RV(P-Value=0.001), FRC (P-Value<0,0007) and TLC (P-Value<0,0001). A correlation was also found between the alveolar gradient of benzene with the parameters RV (P-Value=0,001) and FRC(P-Value=0,0037). Finally, the exhalation/inhalation concentration ratio of benzene was correlated with the parameters RV(P-Value=0.001),FRC (P-Value<0.0007 ) and TLC

(P-Value= 0,004). For the compounds: toluene, ethyl butyrate, ethylbenzene and styrene no significant correlation was found.

**Conclusions:** The number of correlations found for some of the target VOC's with the parameters of spirometry is a strong indication that the variations of VOC's concentrations in exhaled air depends significantly on the of the respiratory system function.

### **Λίστα συντομεύσεων**

- CAR/PDMS: Carboxen/Polydimethylsiloxane
- CI: Chemical Ionization
- COPD: Chronic Obstructive Pulmonary Disease
- CT: Computed Tomography
- DVB: Divinylbenzene
- ERV: Expiratory Reserved Volume
- ESI: Electrospray Ionization
- FEF: Forced Expiratory Flow
- FEV1: Forced Expiratory Volume in 1s
- FRC: Functional Residual Capacity
- FVC: Forced Vital Capacity
- GC-MS: Gas Chromatography- Mass Spectrometry
- HPLC: High Performance Liquid Chromatography
- IC: Inspiratory Capacity
- IRV: Inspiratory Reserve Volume
- IT: Ion Trap
- LDCT: Low Dose Computed Tomography
- MBC: Maximum Breathing Capacity
- MMEF: Maximum Mid Expiratory Flow rate
- MRI: Magnetic Resonance Imaging
- MVV: Maximal Voluntary Ventilation
- NPV: Negative Predictive Value
- NSCLC: Non-Small-Cell Lung Cancer
- ppt: parts-per-trillion
- PPV: Positive Predictive Value
- PTR-MS: Proton Transfer Reaction Mass Spectrometry
- RV: Residual Volume
- SCLC: Small Cell Lung Cancer
- SIFT-MS: Selected Ion Flow Tube Mass Spectrometry
- SPME: Solid Phase Micro-Extraction
- TLC: Total Lung Capacity
- TOF: Time Of Flight
- TV: Tidal Volume
- VC: Vital Capacity
- VOC: Volatile Organic Compound
- EI: Electron Ionization
- ΙΠΙ: Ιδιοπαθής Πνευμονική Ίνωση
- ΚΙ: κυστική ίνωση
- ΠΟΕ: Πτητικές Οργανικές Ενώσεις
- ΧΑΠ: Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια

## Μέρος Πρώτο.

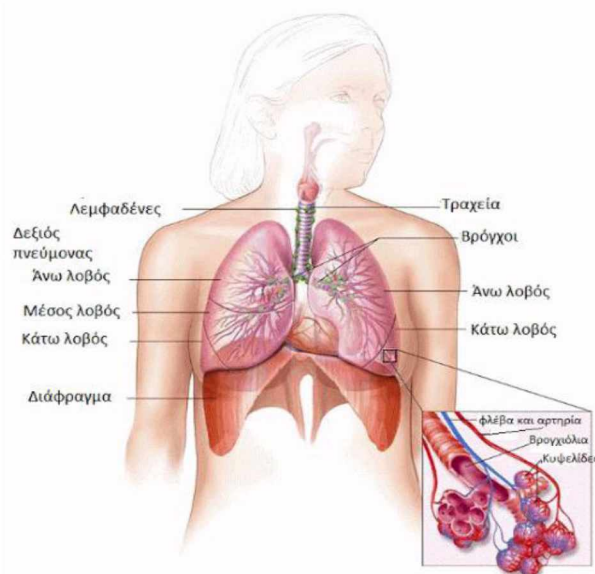
### Κεφάλαιο1ο: ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΚΑΙ ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

#### 1. Φυσιολογία του πνεύμονα

Το αναπνευστικό σύστημα είναι υπεύθυνο για την πρόσληψη οξυγόνου και την απομάκρυνση του διοξειδίου του άνθρακα, αλλά και μερικών προϊόντων του μεταβολισμού. Είναι επίσης υπεύθυνο για την παραγωγή ομιλίας και για την ανίχνευση οσμών. Το αναπνευστικό σύστημα αποτελείται τη ρινική κοιλότητα, το στοματοφάρυγγα, το λάρυγγα, την τραχεία, τους βρόγχους, τα βρογχιόλια και τους πνεύμονες.

Ως κύρια όργανα του αναπνευστικού συστήματος, οι πνεύμονες δρουν με βασική τους λειτουργία είναι την ανταλλαγή αερίων μεταξύ της ατμόσφαιρας και των κυψελίδων. Βρίσκονται στο κατώτερο μέρος του αναπνευστικού συστήματος και χωρίζονται περαιτέρω σε μεμονωμένους λοβούς, οι οποίοι τελικά υποδιαιρούνται σε πάνω από 300 εκατομμύρια κυψελίδες (Εικόνα 1).

Η κυκλοφορία του αίματος είναι πολύ σημαντική, καθώς απαιτείται αίμα για τη μεταφορά οξυγόνου από τους πνεύμονες σε άλλους ιστούς σε όλο το σώμα. Η πνευμονική αρτηρία παρέχει αποοξυγονωμένο αίμα στα τριχοειδή αγγεία που σχηματίζουν αναπνευστικές μεμβράνες με τις κυψελίδες και οι πνευμονικές φλέβες επιστρέφουν το οξυγονωμένο αίμα στην καρδιά για περαιτέρω διανομή σε όλο το σώμα. Οι πνεύμονες επιπλέον συμβάλλουν στην εκκαθάριση του οργανισμού από φάρμακα και άλλα χημικά προϊόντα σχηματίζοντας προϊόντα που μπορούν να υποστούν περαιτέρω επεξεργασία κατά μήκος των οδών απέκκρισης<sup>[4, 5]</sup>.



Εικόνα 1. Ανατομία του κατώτερου αναπνευστικού<sup>[6]</sup>

## 1.1. Πνευμονική Λειτουργία

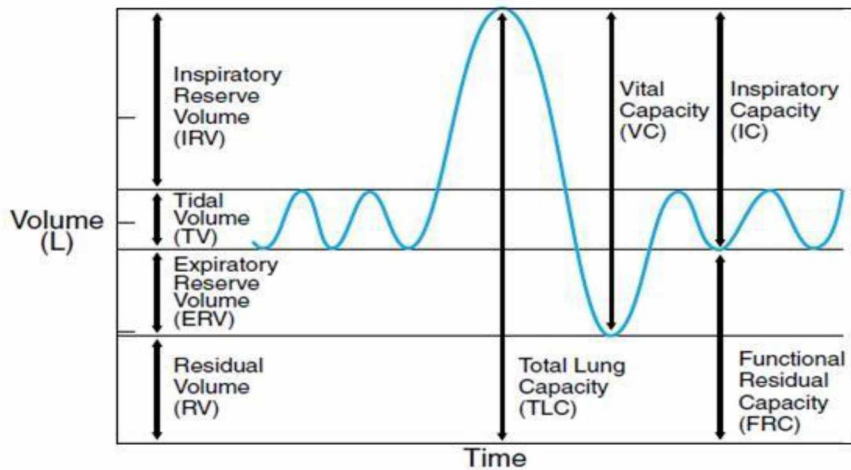
Υπάρχουν τέσσερις (4) βασικοί όγκοι και τέσσερις (4) χωρητικότητες που περιγράφουν τη λειτουργία του αναπνευστικού συστήματος. (Εικόνα 2):

### *Αναπνευστικοί όγκοι*

1. Αναπνεόμενος όγκος (Tidal volume, TV) : είναι ο όγκος αέρα που διακινείται από το αναπνευστικό σύστημα κατά την διάρκεια κάθε ήρεμης αναπνοής (εισπνοή ή εκπνοή).
2. Εισπνευστικός εφεδρικός όγκος (Inspiratory Reserve Volume, IRV) είναι η διαφορά του όγκου του αέρα μιας μέγιστης εισπνοής από μια ήρεμη εισπνοή, δείχνει δηλαδή πόσο αέρα επιπλέον μπορεί να εισπνεύσει το άτομο.
3. Εκπνευστικός εφεδρικός όγκος (Expiratory Reserverd Volume, ERV) είναι η διαφορά του όγκου του αέρα μιας μέγιστης εκπνοής από μία ήρεμη εκπνοή.
4. Υπολειπόμενος όγκος (Residual Volume, RV) : είναι ο όγκος αέρα που παραμένει εντός του αναπνευστικού συστήματος μετά από τη μέγιστη εκπνοή.

### *Αναπνευστικές χωρητικότητες*

1. Εισπνευστική Χωρητικότητα (Inspiratory Capacity, IC) : Είναι ο συνολικός όγκος αέρα μια μέγιστης εισπνοής (TV + IRV)
2. Λειτουργική Υπολειπόμενη Χωρητικότητα (Functional Residual Capacity, FRC) είναι ο όγκος αέρα που παραμένει εντός του αναπνευστικού συστήματος στο τέλος ήρεμης εκπνοής. ( ERV+RV)
3. Ζωτική Χωρητικότητα (Vital Capacity, VC) είναι ο όγκος αέρα που εκπνέεται από την μέγιστη εισπνευστική θέση ως την μέγιστη εκπνευστική θέση ή και αντιστρόφως. Όταν αναφερόμαστε σε βεβιασμένη εισπνοή και εκπνοή η χωρητικότητα αυτή ονομάζεται “βεβιασμένη ζωτική χωρητικότητα” (Forced Vital Capacity, FVC )
4. Ολική Πνευμονική Χωρητικότητα (Total Lung Capacity, TLC): είναι ο όγκος αέρα που περιέχεται στο αναπνευστικό σύστημα στην μέγιστη εισπνευστική θέση<sup>[7, 8]</sup>.



Εικόνα 2. Αναπνευστικοί όγκοι και χωρητικότητες<sup>[9]</sup>

## 1.2. Σπυρομέτρηση

### Ορισμός

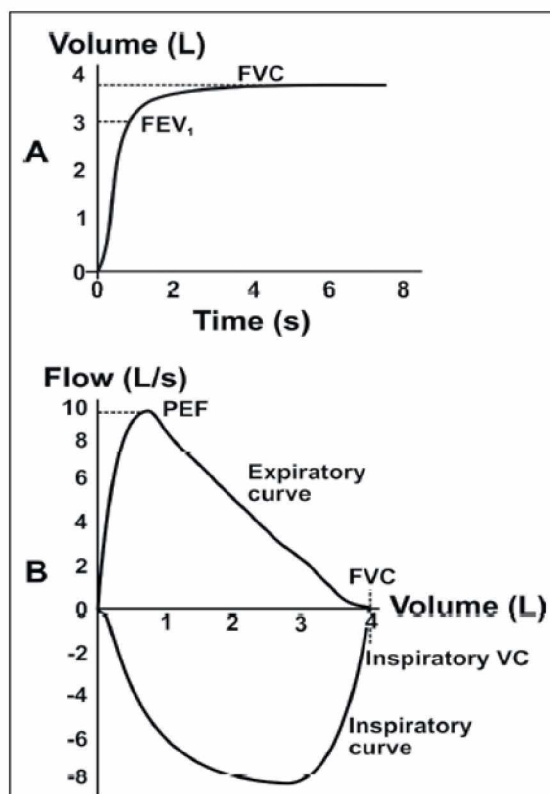
Ο όρος σπυρομέτρηση αναφέρεται στις βασικές δοκιμές πνευμονικής λειτουργίας που μετρούν τον εισπνεόμενο και εκπνεόμενο αέρα. Οι τρεις σχετικές μετρήσεις είναι ο όγκος του αέρα, ο χρόνος και η ροή. Η σπυρομέτρηση είναι μια μη επεμβατική τεχνική και πραγματοποιείται με τη χρήση μιας συσκευής που ονομάζεται σπυρόμετρο (Εικόνα 3). Σκοπός αυτής της μέτρησης είναι η ανίχνευση της παρουσίας ή απουσίας πνευμονικής νόσου όπως το άσθμα και η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ), καθώς και η γενικότερη αξιολόγηση της αναπνευστικής λειτουργίας, παράλληλα με ποσοτικοποίηση της πνευμονικής ανεπάρκειας. Η σπυρομέτρηση αποτελεί μια αξιόπιστη μέθοδο διάγνωσης και προσυμπτωματικού ελέγχου με ευαισθησία και ειδικότητα 92% και 85% αντίστοιχα στη διάγνωση της ΧΑΠ<sup>[10]</sup>. Ωστόσο η σπυρομέτρηση από μόνη της ως μέθοδος δεν μπορεί να δώσει πληροφορίες για τα αίτια στα οποία οφείλεται η εκάστοτε πνευμονική νόσος<sup>[11]</sup>.



Εικόνα 3. Φορητό ψηφιακό σπυρόμετρο<sup>[12]</sup>

Τα περισσότερα σπιρόμετρα εμφανίζουν στην οθόνη τους τα ακόλουθα γραφήματα, που ονομάζονται σπιρογράμματα (Εικόνα 4):

- Καμπύλη όγκου-χρόνου, που δείχνει το συνολικό όγκο του εισπνεόμενου και εκπνεόμενου αέρα (L) κατά μήκος του άξονα y και τον χρόνο (s) κατά μήκος του άξονα x (Εικόνα 4A).
- Καμπύλη όγκου-ροής, η οποία απεικονίζει γραφικά το ρυθμό ροής (L/s) του εισπνεόμενου και εκπνεόμενου αέρα στον άξονα y και το συνολικό όγκο (L) του αέρα που εισπνέεται ή εκπνέεται στον άξονα x (Εικόνα 4B).



Εικόνα 4. A: διάγραμμα όγκου-χρόνου, B: διάγραμμα ροής-όγκου<sup>[13]</sup>



### 1.2.1. Παράμετροι Σπυρομέτρησης

Από τα σπυρογράμματα προκύπτουν και υπολογίζονται πάνω από 40 διαφορετικές παράμετροι. Μερικές από τις βασικότερες παραμέτρους είναι:

- ▶ Ο βιαίως εκπνεόμενος όγκος σε 1s (Forced Expiratory Volume in 1s, FEV1): είναι ο όγκος που εκπνέει ένα άτομο κατά τη διάρκεια μιας βίαιης εκπνοής στο πρώτο δευτερόλεπτο.
- ▶ Η βιαίως εκπνεόμενη ζωτική χωρητικότητα (Forced Vital Capacity, FVC): είναι ο συνολικός όγκος αέρα που εκπνέεται κατά τη δοκιμή FEV.
- ▶ Η μέγιστη μεσοεκπνευστική ροή (Maximum Mid Expiratory Flow rate, MMEF): Μέτρηση του ρυθμού ροής του αέρα στο μέσον ενός προσδιορισμού FVC (από το επίπεδο 25% στο επίπεδο του 75 %). Οι κοινές συντομογραφίες είναι MMFR και FEF 25%-75%.
- ▶ Η μέγιστη αναπνευστική ικανότητα (MBC or MVV) είναι ο συνολικός όγκος αέρα που εκπνέεται κατά τη διάρκεια 12 δευτερολέπτων ταχείας, βαθιάς αναπνοής
- ▶ Η διαχυτική ικανότητα του πνεύμονα για το μονοξείδιο του άνθρακα DLCO (Carbon monoxide diffusing capacity of the lung): είναι ο ρυθμός (ml/min ανά mm υδραργύρου Hg) με τον οποίο διαχέεται το μονοξείδιο του άνθρακα από τις αναπνευστικές μεμβράνες. Η παράμετρος αυτή διορθωμένη ως προς τον κυψελιδικό όγκο αναφέρεται ως DLCO/VA. <sup>[14]</sup>

Οι φυσιολογικές τιμές των παραμέτρων (Πίνακας 1), εξαρτώνται από τα φυσικοσωματικά χαρακτηριστικά του κάθε ατόμου (ύψος, βάρος, ηλικία, φύλο) καθώς και από τον τρόπο ζωής (κάπνισμα, διατροφή, άσκηση) <sup>[15]</sup>.

Lung function parameters	Normal Values Average adult male
FEV1: Forced expiratory volume in 1s	FEV1 $\geq$ 80%**.
FVC : forced vital capacity	FVC $\geq$ 80%.
FEV1/FVC	75%-85%
MVV : maximal voluntary ventilation	140–180 and 80–120 Lt/min
MMEF : Maximum mid expiratory flow rate	> 50%
VT: Tidal volume	7 mL/kg of body mass
DLCO: Carbon monoxide diffusing capacity of the lung	76-140%

Πίνακας 1. Φυσιολογικές τιμές παραμέτρων σπιρομέτρησης για τον μέσο ενήλικο άνδρα. \*\* % ποσοστό προβλεπόμενης τιμής βάσει των χαρακτηριστικών του εξεταζόμενου ( ηλικία, φύλο, ύψος, βάρος ,κλπ)

### 1.3. Παθήσεις του αναπνευστικού συστήματος

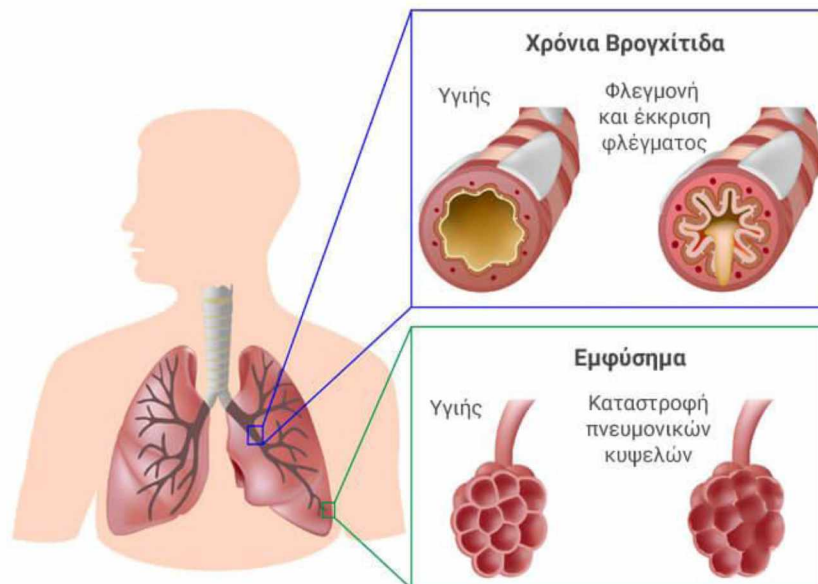
Οι παθήσεις του αναπνευστικού συστήματος αναφέρονται σε διάφορους τύπους ασθενειών ή διαταραχών που εμποδίζουν την καλή λειτουργία των πνευμόνων. Υπάρχουν πολλές διαφορετικές ασθένειες των πνευμόνων, μερικές από τις οποίες προκαλούνται από λοιμώξεις, άλλες πνευμονοπάθειες σχετίζονται με περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως το άσθμα, το μεσοθηλίωμα και ο καρκίνος του πνεύμονα. Οι χρόνιες ασθένειες του κατώτερου αναπνευστικού είναι ένα σύνολο καταστάσεων που περιλαμβάνουν τη χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ), το εμφύσημα και τη χρόνια βρογχίτιδα<sup>[16]</sup>.

#### 1.3.1. Αποφρακτικές πνευμονοπάθειες

Οι αποφρακτικές πνευμονικές παθήσεις χαρακτηρίζονται από μείωση της ροής του αέρα λόγω αυξημένης αντίστασης από μερική ή πλήρη απόφραξη των αεραγωγών σε οποιοδήποτε επίπεδο. Τέτοιες αποφράξεις μπορεί να προκύψουν από την άμεση στένωση του αυλού των αεραγωγών ή από μειωμένη ελαστική ανάκρουση του πνευμονικού παρεγχύματος που περιβάλλει τους αεραγωγούς με αποτέλεσμα τη μείωση του διαμέτρου του αυλού. Τα αίτια που προκαλούν φαινόμενα απόφραξης των αεραγωγών περιλαμβάνουν καρκινικούς όγκους, αναρροφημένα ξένα σώματα, άσθμα, εμφύσημα, χρόνια βρογχίτιδα, κυστική ίνωση και βρογχιολίτιδα<sup>[17]</sup>.

### 1.3.1.1.Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια

Η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ) είναι υπεύθυνη για την πρόωρη θνησιμότητα, τα υψηλά ποσοστά θανάτου και το σημαντικό κόστος για τα συστήματα υγείας. Η πρόβλεψη για το 2020 δείχνει ότι η ΧΑΠ θα είναι η τρίτη κύρια αιτία θανάτου παγκοσμίως<sup>[18]</sup>. Η νόσος αυτή χαρακτηρίζεται από λειτουργικές και δομικές αλλοιώσεις των πνευμόνων που προκαλούνται κυρίως από τη μακροχρόνια εισπνοή επιβλαβών σωματιδίων. Κύριος παράγοντας που προκαλεί ΧΑΠ είναι ο καπνός των τσιγάρων ο οποίος προκαλεί απόφραξη μικρών αεραγωγών στη ΧΑΠ, η οποία είναι γνωστό ότι παραμένει ακόμη και μετά τη διακοπή του καπνίσματος<sup>[19]</sup>. Οι περισσότεροι ασθενείς με ΧΑΠ παρουσιάζουν και τα τρία παθολογικά χαρακτηριστικά: βρογχίτιδα, καταστροφή του παρεγχυματικού συστήματος (εμφύσημα) και άσθμα (Εικόνα 5)<sup>[20]</sup>. Έχει αρκετές ομοιότητες στα συμπτώματα με το άσθμα, αλλά διαφέρει στο ότι συχνά το άσθμα είναι αναστρέψιμο και στο γεγονός ότι



οι ασθενείς με ΧΑΠ είναι ανθεκτικοί σε κορτικοστεροειδή<sup>[21]</sup>.

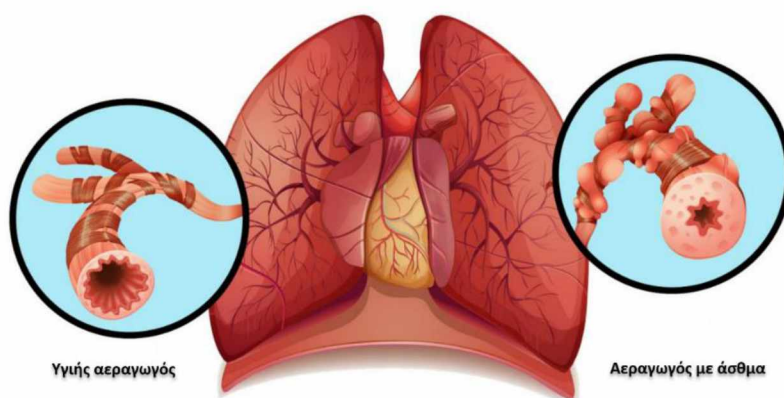
Εικόνα 5. Παθολογικά χαρακτηριστικά ΧΑΠ<sup>[22]</sup>

Η Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια ανιχνεύεται αποτελεσματικά και έγκαιρα με τη μέθοδο της σπιρομέτρησης. Ο λόγος  $FEV_1 / FVC$  με τιμή μικρότερη του 70% της προβλεπόμενης τιμής (ή  $FEV_1 / FVC < 0,70$ ) είναι το βασικό κριτήριο διάγνωσης της ΧΑΠ βάσει των οδηγιών της Παγκόσμιας Πρωτοβουλίας για τη ΧΑΠ (Global Initiative for COPD). Μια επίσης χαρακτηριστική τιμή είναι η τιμή  $FEV_{1h}$  οποία καθορίζει και το στάδιο βαρύτητας της νόσου. Γενικά, με βάση της σπιρομέτρηση, η ΧΑΠ σταδιοποιείται, κατά GOLD, σε τέσσερα στάδια βαρύτητας:

1. στάδιο-I-ήπια ( $FEV_1 \geq 80\%$  προβλεπόμενης τιμής)
2. στάδιο-II-σημαντική ( $50\% \leq FEV_1 < 80\%$  προβλεπόμενης τιμής)
3. στάδιο-III-βαριά ( $30\% \leq FEV_1 < 50\%$  προβλεπόμενης τιμής)
4. στάδιο-IV-πολύ βαριά ( $FEV_1 < 30\%$  προβλεπόμενης τιμής)<sup>[23]</sup>

### 1.3.1.2.Άσθμα

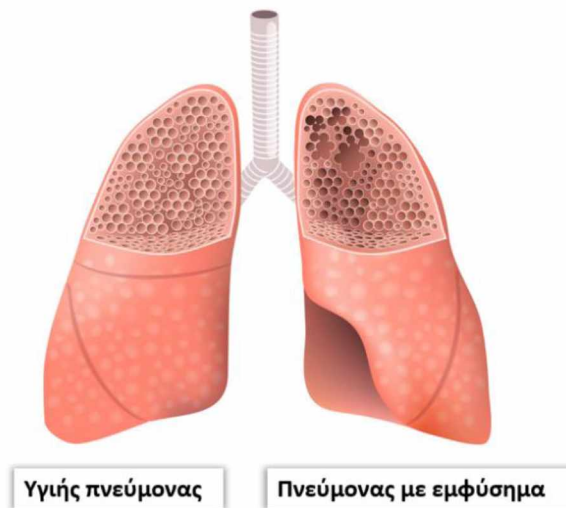
Το άσθμα είναι μια χρόνια ασθένεια των πνευμόνων (Εικόνα 6). Εμφανίζεται στον άνθρωπο, ανεξαρτήτως ηλικίας, και είναι από τις πιο κοινές νόσους του κατώτερου αναπνευστικού. Τις τελευταίες δεκαετίες παρουσιάζει σταθερή αύξηση σε όλο τον κόσμο. Τα συμπτώματα του άσθματος είναι η δύσπνοια, ο βήχας, ο συριγμός, η αίσθηση έντονου πόνου στο στήθος, η βλενώδης απόχρεμψη και η ρινική απόφραξη. Τα συμπτώματα αυτά μπορεί να είναι, είτε επεισοδιακά είτε επίμονα και συνήθως, εμφανίζονται την νύχτα αλλά και τις πρώτες πρωινές ώρες. Παρουσιάζονται κυρίως μετά από έκθεση σε αλλεργιογόνα ή εποχιακούς παράγοντες, μετά από εισπνοή μη ειδικών ερεθισμάτων, όπως είναι η άσκηση, ο καπνός, ο ατμός και ο κρύος αέρας, ενώ τέλος μπορούν να εμφανιστούν μετά από ιογενείς λοιμώξεις και φάρμακα, (Global initiative for Asthma,GINA)<sup>[24]</sup>.



Εικόνα 6. Αεραγωγός με και χωρίς την παρουσία άσθματος<sup>[25]</sup>

### 1.3.1.3. Πνευμονικό Εμφύσημα

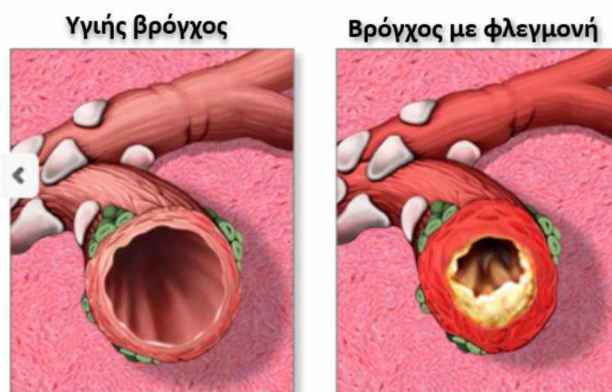
Το εμφύσημα ορίζεται παθολογικά ως μια μη φυσιολογική μόνιμη διεύρυνση των απομακρυσμένων βρογχιολίων, συνοδευόμενη από την καταστροφή των κυψελιδικών τοιχωμάτων χωρίς εμφανή ίνωση (Εικόνα 7). Αυτή η διαδικασία οδηγεί σε μειωμένη ικανότητα ανταλλαγής αερίων και αλλαγές στη δυναμική των αεραγωγών που επηρεάζουν την εκπνευστική ροή αέρα<sup>[26]</sup>. Κύρια αίτια της πάθησης είναι το κάπνισμα, η σκόνη και η έκθεση σε ναρκωτικές ουσίες. Η κατάλληλη θεραπεία για το εμφύσημα περιλαμβάνει τη διακοπή του καπνίσματος για την αποκατάσταση του πνεύμονα, τη βέλτιστη διατροφή και τον εμβολιασμό κατά της φλεγμονής και των πνευμονιοκοκκικών λοιμώξεων<sup>[27]</sup>.



Εικόνα 7. Υγιής πνεύμονας (αριστερά) και πνεύμονας με εμφύσημα (δεξιά)<sup>[28]</sup>

### 1.3.1.4. Βρογχίτιδα

Η Βρογχίτιδα είναι μια πνευμονοπάθεια που χαρακτηρίζεται από φλεγμονή των αεραγωγών (βρόγχων) του πνεύμονα (Εικόνα 8)<sup>[29]</sup>. Τα συμπτώματα περιλαμβάνουν παραγωγικό βήχα, συριγμό, δύσπνοια και δυσφορία στο στήθος. Ανάλογα με τη διάρκεια των συμπτωμάτων διακρίνεται σε οξεία και χρόνια βρογχίτιδα<sup>[30]</sup>. Οι περισσότεροι ασθενείς με χρόνια βρογχίτιδα πάσχουν και από Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια. Κύριοι παράγοντες κινδύνου της βρογχίτιδας είναι το κάπνισμα και η ρύπανση του αέρα<sup>[31]</sup>.



Εικόνα 8. Υγιής βρόγχος (αριστερά) και βρόγχος με φλεγμονή (δεξιά)<sup>[32]</sup>

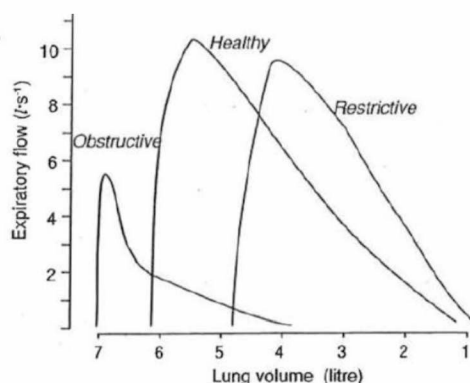
#### 1.3.1.5. Κυστική Ίνωση

Η κυστική ίνωση (ΚΙ) είναι μια κληρονομική διαταραχή που προκαλεί σοβαρή βλάβη στους πνεύμονες, το πεπτικό σύστημα και άλλα όργανα του σώματος. Η ασθένεια αυτή επηρεάζει τα κύτταρα που είναι υπεύθυνα για την παραγωγή βλέννας, ιδρώτα και πεπτικών υγρών. Αυτά τα εκκρινόμενα υγρά είναι συνήθως λεπτόρρευστα και ολισθηρά. Αλλά στα άτομα με ΚΙ, ένα ελαττωματικό γονίδιο προκαλεί κολλώδεις και παχύρρευστες εκκρίσεις. Αντί να ενεργούν ως λιπαντικά, οι εκκρίσεις αποφράζουν τους αγωγούς ειδικά στους πνεύμονες και το πάγκρεας. Τα συμπτώματα περιλαμβάνουν παροξυσμικό βήχα, πυώδη πτύελα, δύσπνοια και απώλεια βάρους. Ο θάνατος επέρχεται συχνά ως αποτέλεσμα πνευμονίας, υποξαιμίας και εξάντλησης μετά από μακρά περίοδο αναπνευστικής ανεπάρκειας<sup>[33]</sup>.

#### 1.4. Περιοριστικές πνευμονοπάθειες

Οι περιοριστικές πνευμονοπάθειες είναι μια ετερογενής ομάδα παθήσεων που εμφανίζουν χαρακτηριστικά μοτίβα στα διαγράμματα της σπιρομέτρησης και επιβεβαιώνονται από την ακραία μείωση της ολικής πνευμονικής χωρητικότητας (TLC) (Εικόνα 9). Η εμφάνιση των περιοριστικών παθήσεων μπορεί να οφείλεται είτε σε ασθένειες του πνευμονικού παρεγχύματος όπως το πνευμονικό οίδημα, η ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση και η σαρκοείδωση (ενδοπνευμονικά αίτια), είτε σε νευρομυϊκές διαταραχές, παχυσαρκία και άλλες εξω-παρεγχυματικές διαταραχές (εξω-πνευμονικά αίτια)<sup>[34]</sup>. Σε αριθμητικούς όρους, τα περιοριστικά σύνδρομα αντιπροσωπεύουν

περίπου το 20% των πνευμονικών συνδρόμων, ενώ τα αποφρακτικά σύνδρομα είναι η πλειοψηφία (80%)<sup>[35]</sup>.



Εικόνα 9. Διάγραμμα ροής-όγκου υγιούς(healthy), με αποφρακτικό σύνδρομο(obstructive) και περιοριστικό σύνδρομο (restrictive)<sup>[36]</sup>

#### 1.4.1. Ιδιοπαθής Πνευμονική Ίνωση

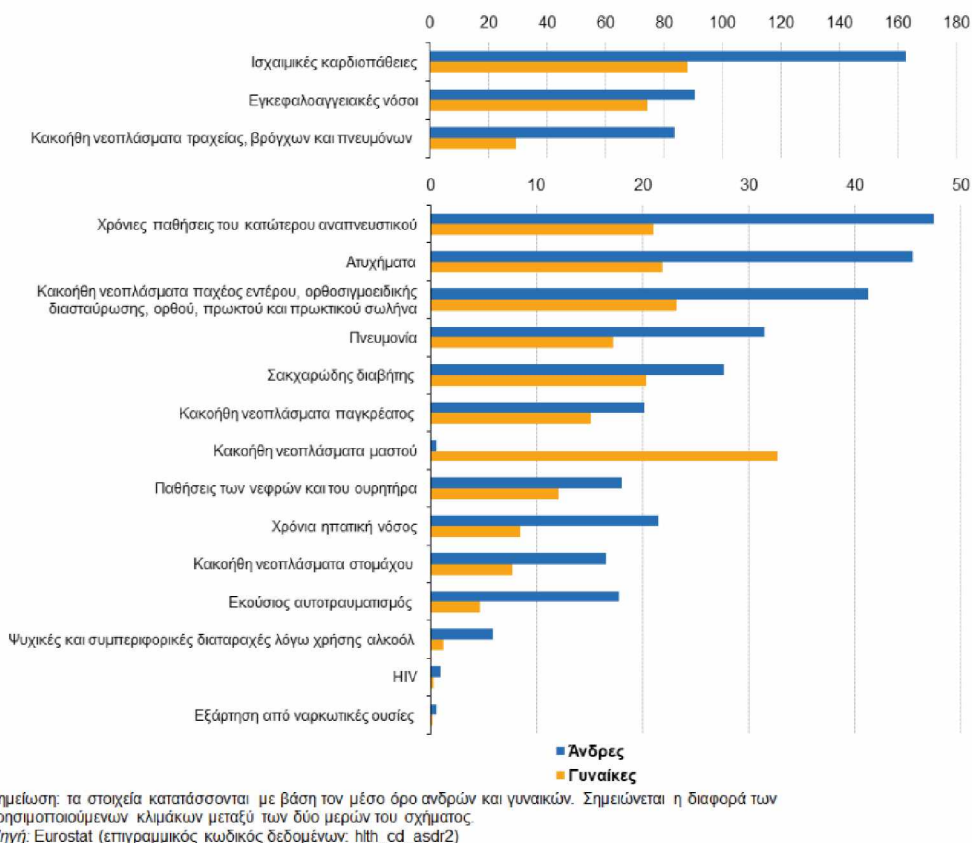
Η Ιδιοπαθής Πνευμονική Ίνωση (ΙΠΙ), είναι μια νόσος της οποίας τα αίτια είναι άγνωστα, εντούτοις φαίνεται να προσβάλλει συνήθως άτομα με ηλικία ανώτερη των 50 ετών, χρόνια καπνιστές. Στην ΙΠΙ παρατηρείται βαθμιαία αντικατάσταση των κυψελίδων από ινώδη ιστό με αποτέλεσμα τη δυσκολία ανταλλαγής αερίων στους πνεύμονες. Τα συμπτώματα της ΙΠΙ περιλαμβάνουν προοδευτική δύσπνοια κατά την άσκηση, συχνά συνοδευόμενη από μη παραγωγικό βήχα. Μερικοί ασθενείς μπορούν να παραμείνουν ασυμπτωματικοί για 2-3 χρόνια, ωστόσο οι περισσότεροι παρουσιάζουν αργή αλλά σταθερή επιδείνωση που τελικά οδηγεί σε χρόνια αναπνευστική ανεπάρκεια<sup>[37]</sup>.

#### 1.5. Καρκίνος του Πνεύμονα

Ο καρκίνος του πνεύμονα, εμφανίζει τη μεγαλύτερη αύξηση σε σχέση με τα υπόλοιπα είδη καρκίνων, τα τελευταία 15 χρόνια. Τα τελευταία στοιχεία του Eurostat (Νοέμβριος 2020) δείχνουν ότι ο καρκίνος του πνεύμονα αποτελεί τρίτη πιο συχνή αιτία θανάτου σε γυναίκες και άνδρες (Διάγραμμα 1)<sup>[38]</sup>.

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (Global Observation of Cancer, 2018) ο καρκίνος του πνεύμονα ο πιο συχνός τύπος καρκίνου παγκοσμίως (11,6%) αλλά και στην Ελλάδα (14,8%) (Διάγραμμα 2), επιπλέον αποτελεί την πρώτη αιτία θανάτου από όλα τα είδη καρκίνου (Διάγραμμα 3). Παρ' όλα αυτά στην Αμερική, καταγράφεται σημαντική μείωση της θνησιμότητας από τον καρκίνο του πνεύμονα τα τρία τελευταία χρόνια, σύμφωνα με έρευνα που δημοσιεύθηκε τον Ιανουάριο του 2020 στο Cancer Journal for Clinicians (Διάγραμμα 4)<sup>[39]</sup>. Σύμφωνα με τους ειδικούς οι

Βασικοί παράγοντες που είναι υπεύθυνοι για την πρωτική τάση της θνησιμότητας είναι η μείωση του καπνίσματος, η βελτίωση των διαγνωστικών μεθόδων, η έγκαιρη διάγνωση της νόσου αλλά και η βελτίωση των θεραπευτικών πρωτοκόλλων.

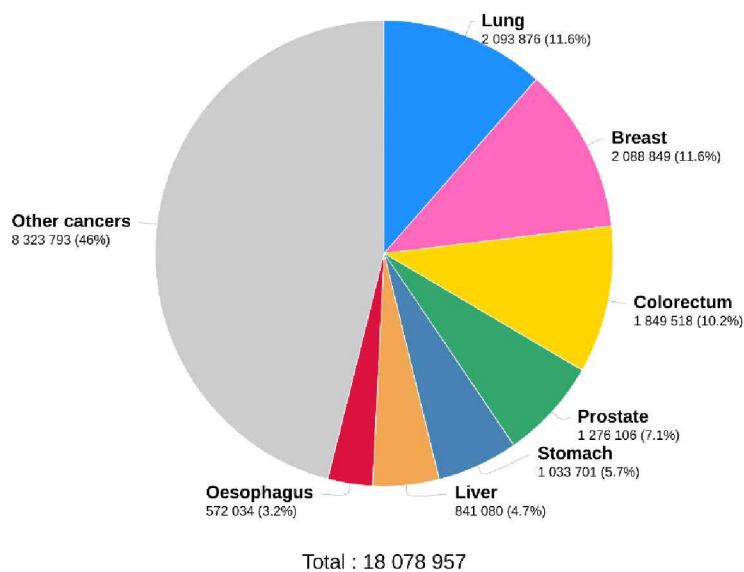


eurostat

Διάγραμμα 1. Αιτίες θανάτου, τυποποιημένο ποσοστό θνησιμότητας ανα 100.000 κατοίκους, ΕΕ-27, 2016. (Eurostat, 2020)

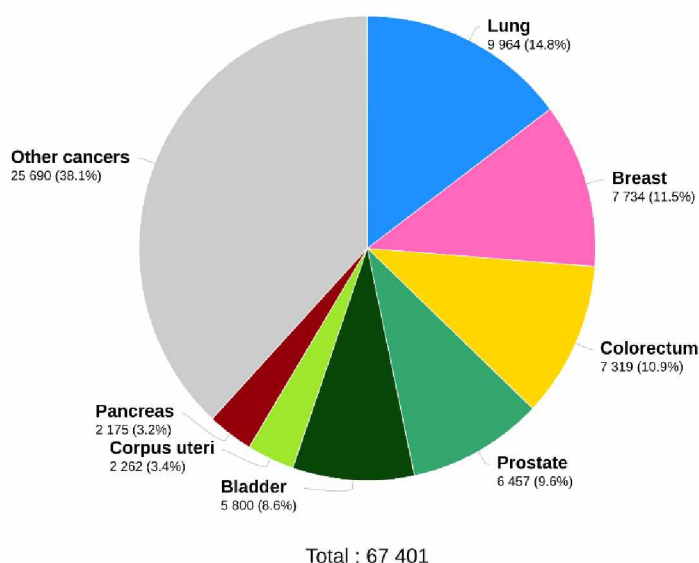


Estimated number of new cases in 2018, worldwide, both sexes, all ages



International Agency for Research on Cancer  
World Health Organization

Estimated number of new cases in 2018, Greece, both sexes, all ages

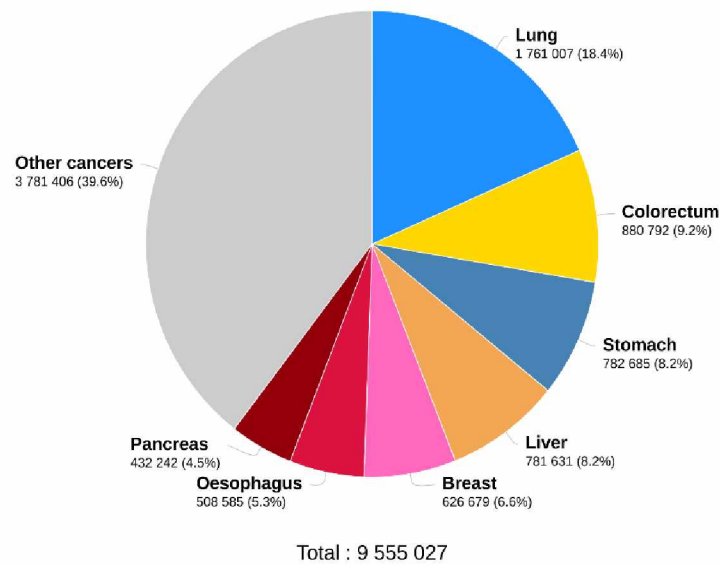


Data source: Globocan 2018  
Graph production: Global Cancer Observatory (<http://gco.iarc.fr>)

International Agency for Research on Cancer  
World Health Organization

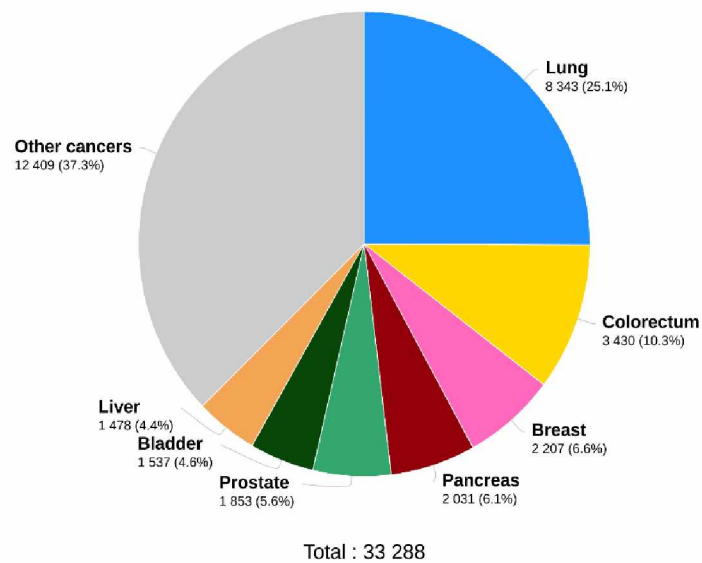
Διάγραμμα 2. Απεικόνιση συχνότητας εμφάνισης καρκίνου του πνεύμονα, ανεξαρτήτως φύλου και ηλικίας παγκοσμίως (πάνω) και στην Ελλάδα (κάτω). (στοιχεία 2018)

Estimated number of deaths in 2018, worldwide, both sexes, all ages



International Agency for Research on Cancer  
World Health Organization

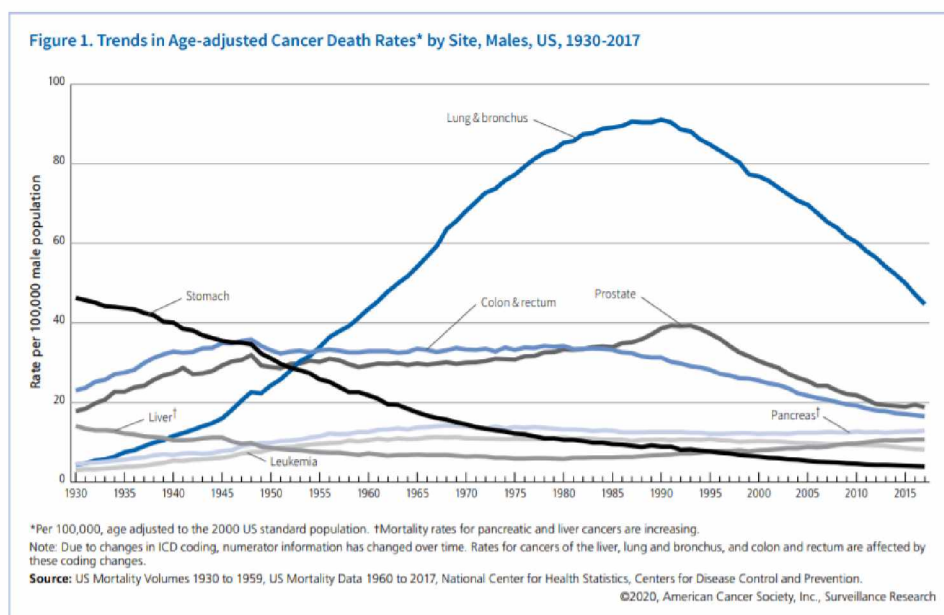
Estimated number of deaths in 2018, Greece, both sexes, all ages



Data source: Globocan 2018  
Graph production: Global Cancer Observatory (<http://gco.iarc.fr>)

International Agency for Research on Cancer  
World Health Organization

Διάγραμμα 3. Απεικόνιση συχνότητας θνησιμότητας από καρκίνο του πνεύμονα, ανεξαρτήτως φύλου και ηλικίας παγκοσμίως (πάνω) και στην Ελλάδα (κάτω), (στοιχεία 2018)



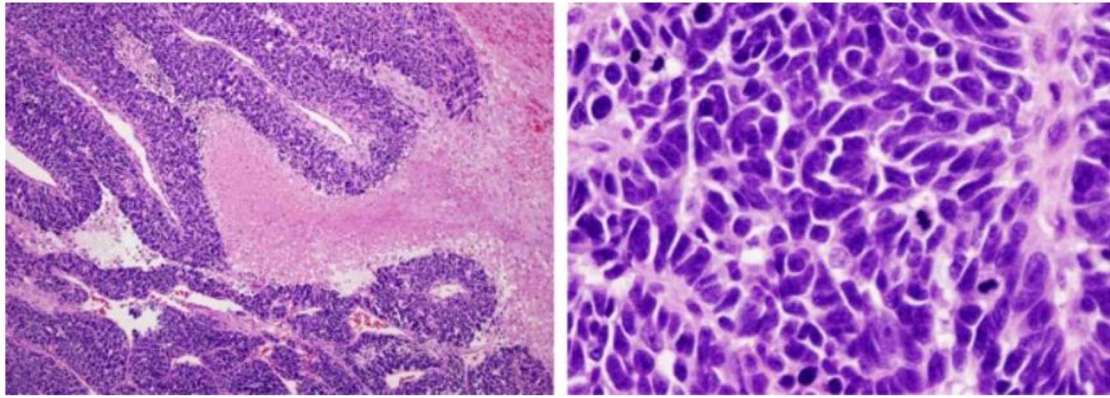
Διάγραμμα 4. Απεικόνιση της τάσης θνησιμότητας του καρκίνου του πνεύμονα στους άνδρες ανεξαρτήτου ηλικίας για το χρονικό διάστημα 1930-2017, Αμερική (American Cancer Society, 2020) [39]

Ο καρκίνος του πνεύμονα αναφέρεται στις κακοήθειες που εμφανίζονται στους αεραγωγούς ή στο πνευμονικό παρέγχυμα. Είναι αποτέλεσμα ανεξέλεγκτου κυτταρικού πολλαπλασιασμού στο χώρο του πνεύμονα και χωρίζεται σε δύο κύριες κατηγορίες: το μικροκυτταρικό, με συχνότητα εμφάνισης 15% (Small Cell Lung Cancer, SCLC) και το μη-μικροκυτταρικό (Non-Small-Cell Lung Cancer, NSCLC), με συχνότητα εμφάνισης 85%. Οι πιο κοινές μορφές του μη-μικροκυτταρικού καρκίνου είναι το αδenoκαρκίνωμα και το πλακώδες καρκίνωμα<sup>[40]</sup>.

### Μικροκυτταρικός Καρκίνος του Πνεύμονα (Small Cell Lung Cancer, SCLC)

Ο μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα (Small Cell Lung Cancer, SCLC) χαρακτηρίζεται από κύτταρα μικρού μεγέθους με λιγιστό κυτταρόπλασμα και μη διακριτούς πυρήνες (Εικόνα 10). Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας ταξινομεί το SCLC σε δυο υποκατηγορίες το μικροκυτταρικό καρκίνωμα και το συνδυασμένο με μη-μικροκυτταρικό τύπο καρκίνου (SCLC με NSCLC, πλακώδες ή αδenoκαρκίνωμα) [41].

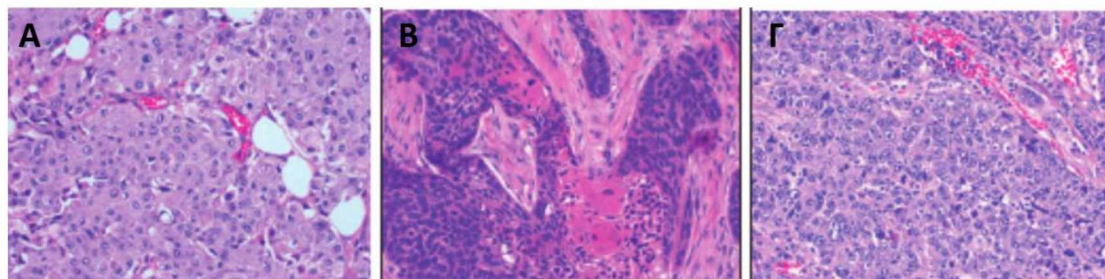
Ο SCLC προκαλείται συνήθως από το κάπνισμα, αναπτύσσεται με γρήγορους ρυθμούς και μεθίσταται νωρίς, γεγονός που το καθιστά την πιο επιθετική μορφή καρκίνου του πνεύμονα. Το κεντρικό νευρικό σύστημα, το συκώτι και τα οστά είναι οι πιο κοινές περιοχές μετάστασης<sup>[42]</sup>.



Εικόνα 10. Ιστολογική απεικόνιση μικροκυτταρικού καρκινώματος<sup>[43]</sup>

### **Μη-μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα (Non-small cell Lung Cancer, NSCLC)**

Ο NSCLC περιλαμβάνει τρεις κύριους υποτύπους: το αδενοκαρκίνωμα, το πλακώδες καρκίνωμα και το μεγαλοκυτταρικό καρκίνωμα (Εικόνα 11), οι οποίοι χωρίζονται σε περαιτέρω υπότυπους. Όπως προαναφέρθηκε ο NSCLC αποτελεί το 85% των περιπτώσεων καρκίνου του πνεύμονα. Από αυτό το ποσοστό το 38,5% αναφέρεται στο αδενοκαρκίνωμα, το 20% στο μεγαλοκυτταρικό καρκίνωμα και το υπόλοιπο 2,9% στο μεγαλοκυτταρικό καρκίνωμα<sup>[44]</sup>.



Εικόνα 11. Ιστολογική απεικόνιση ,A: Αδενοκαρκίνωμα, B: Πλακώδες καρκίνωμα, Γ:Μεγαλοκυτταρικό καρκίνωμα<sup>[45]</sup>

## Αίτια καρκίνου του πνεύμονα και συμπτώματα

Το κάπνισμα είναι η πιο κοινή αιτία καρκίνου του πνεύμονα, εκτιμάται ότι το 90% των περιπτώσεων καρκίνου του πνεύμονα οφείλονται σε αυτή την συνήθεια. Ο κίνδυνος αυξάνεται περαιτέρω με την έκθεση σε άλλους καρκινογόνους παράγοντες, όπως η σκόνη αμιάντου, έκθεση σε μέταλλα (χρώμιο, νικέλιο, αρσενικό, κ.α) και πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες. Επιπλέον οι πνευμονικές παθήσεις όπως η Ιδιοπαθής Πνευμονική Ίνωση και η Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια αυξάνουν τον κίνδυνο καρκίνου του πνεύμονα ανεξάρτητα από το κάπνισμα<sup>[46]</sup>. Μερικά από τα πιο συνήθη συμπτώματα του καρκίνου του πνεύμονα είναι:

- Επίμονος βήχας
- Πτύελα με αίμα (αιμόπτυση)
- Απώλεια βάρους
- Πόνος στο στήθος
- Βραχνή φωνή
- Δύσπνοια
- Επαναλαμβανόμενη πνευμονία ή βρογχίτιδα<sup>[47]</sup>

## Κεφάλαιο 2<sup>ο</sup>: ΜΕΘΟΔΟΙ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΩΝ ΠΑΘΗΣΕΩΝ

### 2. Συμβατικές μέθοδοι διάγνωσης του καρκίνου του πνεύμονα

Η διάγνωση του καρκίνου του πνεύμονα στην πλειονότητα των ασθενών πραγματοποιείται στο στάδιο όπου οι ασθενείς έχουν ήδη εμφανίσει συμπτώματα, το επίπεδο εξάπλωσης του καρκίνου είναι υψηλό και τις περισσότερες φορές μη αναστρέψιμο. Επομένως η έγκαιρη διάγνωση αποτελεί «σανίδα σωτηρίας» και συμβάλλει σημαντικά στην αντιμετώπιση του καρκίνου. Βασικές μέθοδοι διάγνωσης είναι η αξονική και μαγνητική τομογραφία, η ακτινογραφία θώρακος, η βιοψία, η κυτταρολογία πτυέλων και η βρογχοσκόπηση.

#### 2.1. Η έννοια της διαγνωστικής αξίας των μεθόδων

Πολλές μέθοδοι παρουσιάζουν περιορισμούς στη διαγνωστική τους ακρίβεια. Αυτό σημαίνει ότι υπάρχει η πιθανότητα μη εντοπισμού της ασθένειας ή λανθασμένης διάγνωσης που οδηγεί σε περαιτέρω εξετάσεις, πιθανών πιο επεμβατικής φύσης. Γι' αυτό το λόγο η ιδανική διαγνωστική μέθοδος για κάθε ασθένεια θα πρέπει να εντοπίζει έγκυρα τα άτομα που έχουν την ασθένεια αλλά και τους υγιείς αντίστοιχα(Εικόνα 12) <sup>[48]</sup>. Για την πλήρη αξιολόγηση κάθε διαγνωστικής μεθόδου λοιπόν εξετάζονται τα εξής αποτελέσματα βάσει των οποίων εν τέλη θα εξάγουμε συμπεράσματα για την ευαισθησία, την ακρίβεια, την ειδικευση και την θετική/αρνητική διαγνωστική της αξία:

**Αληθώς θετικές περιπτώσεις (True positive, TP):** Όταν ένα άτομο είναι ασθενής και αναγνωρίζεται σωστά ως ασθενής από το τεστ.

**Αληθώς αρνητικές περιπτώσεις (True Negative, TN):** Όταν ένα υγιές άτομο αναγνωρίζεται σωστά ως υγιές από το τεστ.

**Ψευδώς θετικές περιπτώσεις (False Positive, FP):** Όταν ένα υγιές άτομο αναγνωρίζεται λανθασμένα ως ασθενής από το τεστ.

**Ψευδώς αρνητικές περιπτώσεις (False Negative, FN):** Όταν ένα άτομο είναι ασθενής και αναγνωρίζεται λανθασμένα ως υγιές από το τεστ.

		True class		Measures
		Positive	Negative	
Predicted class	Positive	True positive <i>TP</i>	False positive <i>FP</i>	Positive predictive value (PPV) $\frac{TP}{TP+FP}$
	Negative	False negative <i>FN</i>	True negative <i>TN</i>	Negative predictive value (NPV) $\frac{TN}{FN+TN}$
Measures		Sensitivity $\frac{TP}{TP+FN}$	Specificity $\frac{TN}{FP+TN}$	Accuracy $\frac{TP+TN}{TP+FP+FN+TN}$

Εικόνα 12. Πίνακας ενδεχόμενων αποτελεσμάτων της δοκιμής (contingency table) και χρήση του για τον υπολογισμό της ευαισθησίας, ειδικότητας και θετικής/αρνητικής διαγνωστικής αξίας της μεθόδου<sup>[48]</sup>

**Ευαισθησία (Sensitivity) :** Η ευαισθησία της μεθόδου αναφέρεται στην ικανότητά της να εντοπίζει τα αληθώς θετικά αποτελέσματα. Όσο μεγαλύτερη είναι η ευαισθησία μιας μεθόδου τόσο περισσότερα θα είναι τα αληθώς θετικά αποτελέσματα. Αντιθέτως όσο μικρότερη είναι η ευαισθησία της μεθόδου τόσο περισσότερα θα είναι τα ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα.

**Ειδικότητα (Specificity):** Η ειδικότητα της μεθόδου αναφέρεται στην ικανότητά της να εντοπίζει τα υγιή άτομα, δηλαδή τα αληθώς αρνητικά αποτελέσματα. Όσο μεγαλύτερη είναι η ειδικότητα μιας μεθόδου τόσο περισσότερα θα είναι τα αληθώς αρνητικά αποτελέσματα. Αντιθέτως όσο μικρότερη είναι η ειδικότητα της μεθόδου τόσο περισσότερα θα είναι τα ψευδώς θετικά αποτελέσματα.

**Ακρίβεια (Accuracy):** Η ακρίβεια της μεθόδου αναφέρεται στην ικανότητά της να εντοπίζει τα αληθώς θετικά αποτελέσματα και τα αληθώς αρνητικά αποτελέσματα.

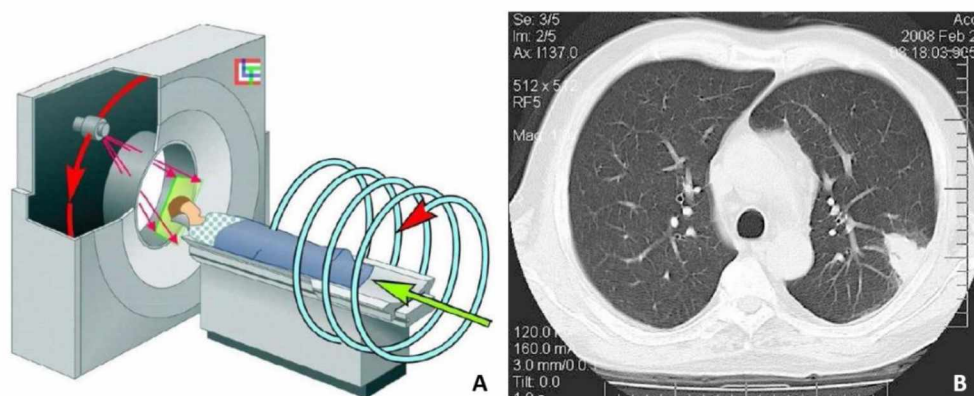
**Θετική προγνωστική αξία(Positive Predictive Value, PPV):** Αναφέρεται στην πιθανότητα τα θετικά αποτελέσματα να είναι αληθή.

**Αρνητική προγνωστική αξία (Negative Predictive Value, NPV):** Αναφέρεται στην πιθανότητα τα αρνητικά αποτελέσματα να είναι αληθή<sup>[49]</sup>.

## 2.2. Αξονική τομογραφία (Computed Tomography)

Η αξονική τομογραφία είναι μια τεχνική που χρησιμοποιείται ευρέως εδώ και πολλά χρόνια για τη διάγνωση διάφορων παθήσεων, μεταξύ αυτών και του καρκίνου του πνεύμονα. Η αρχή της αξονικής τομογραφίας βασίζεται στην ψηφιακή απεικόνιση εγκάρσιων τομών του σώματος με τη χρήση ακτίνων-X. Το σύστημα του αξονικού τομογράφου απαρτίζεται από μια πηγή ακτίνων-X και έναν ανιχνευτή τοποθετημένα στα δύο αντίθετα άκρα του ασθενούς. Το σύστημα της πηγής και του ανιχνευτή περιστρέφεται με υψηλές ταχύτητες γύρω από τον ασθενή δημιουργώντας την εικόνα της διατομής με μαθηματική μετατροπή της έντασης των ακτίνων X που φθάνουν στον ανιχνευτή στις διάφορες θέσεις γύρω από τον ασθενή (Εικόνα 14A). Τα μέρη του σώματος που απορροφούν περισσότερη ακτινοβολία (π.χ οστά ) εμφανίζονται με άσπρο χρώμα ή ανοιχτό γκρι ενώ οι περιοχές που απορροφούν λιγότερο εμφανίζονται πιο σκούρες (π.χ μαλακοί ιστοί)(Εικόνα 14B)<sup>[50]</sup>. Ένα από τα μειονεκτήματα της μεθόδου είναι η έκθεση του ασθενούς σε μεγάλης έντασης ακτινοβολία για το λόγο αυτό τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιείται η αξονική τομογραφία χαμηλής δόσης ακτινοβολίας (low-dose CT, LDCT)<sup>[51]</sup>.

**Διαγνωστική αξία μεθόδου:** Ακρίβεια : 71% , Ευαισθησία: 52%, Ειδικότητα: 86%<sup>[52]</sup>.



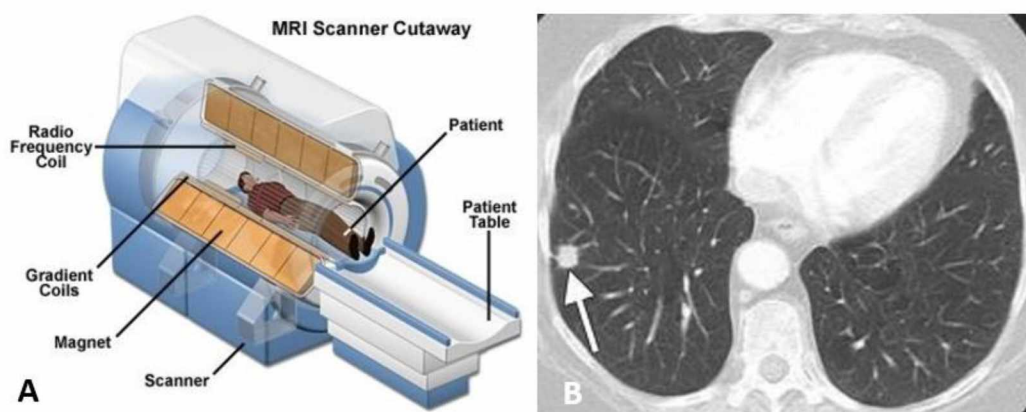
Εικόνα 14. Αξονικός τομογράφος (A)<sup>[53]</sup> , Αξονική τομογραφία θώρακος (B)<sup>[54]</sup>

## 2.3. Μαγνητική τομογραφία (Magnetic Resonance Imaging)

Η μαγνητική τομογραφία είναι μια διαγνωστική μέθοδος που ακολουθεί τη λογική της αξονικής τομογραφίας. Η διαφορά βρίσκεται στη χρήση ηλεκτρομαγνητικής

ακτινοβολίας αντί για ιοντίζουσα ακτινοβολία για την απεικόνιση εγκάρσιων τομών του σώματος. Η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία που προσπίπτει στο σώμα διεγείρει τα πρωτόνια που περιέχονται στο νερό που απαρτίζει τους ιστούς και τις σκελετικές δομές του σώματος με αποτέλεσμα την αλλαγή κατεύθυνσης του περιστροφικού τους άξονα, η αλλαγή αυτή ανιχνεύεται και μετατρέπεται σε ψηφιακή εικόνα (Εικόνα 15) <sup>[55]</sup>. Η μαγνητική τομογραφία είναι μια σχετικά κοστοβόρα μέθοδος με κόστος εξοπλισμού 150.000-1.000.000€ και το κόστος εξέτασης περίπου 280€.<sup>[56]</sup>

**Διαγνωστική αξία μεθόδου:** Ακρίβεια:  $\leq 90\%$ , Ευαισθησία: 78-100% (εξαρτάται από το μέγεθος του όγκου), Ειδικότητα: 88%<sup>[57]</sup>.



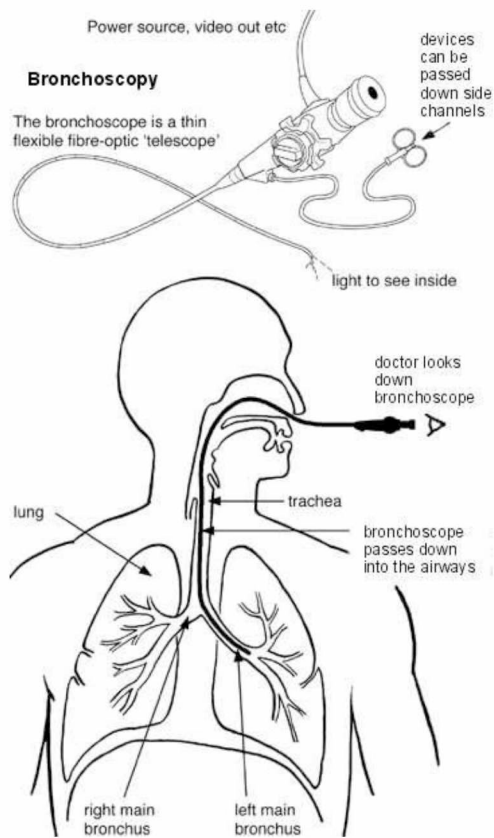
Εικόνα 15. Μαγνητικός τομογράφος (A) <sup>[58]</sup>, Μαγνητική τομογραφία θώρακος με καρκίνο του πνεύμονα (B)<sup>[59]</sup>

#### 2.4. Βρογχοσκόπηση

Η Βρογχοσκόπηση είναι μια διαδικασία κατά την οποία συνήθως ένας εύκαμπτος τηλεσκοπικός σωλήνας (βρογχοσκόπιο) εισάγεται στο αναπνευστικό σύστημα από τη ρινική κοιλότητα ως τους αεραγωγούς ή τους πνεύμονες με σκοπό την οπτική διερεύνηση (π.χ ασυνήθιστου ευρήματος σε ακτινογραφία), τη λήψη μικρού δείγματος ιστού για περεταίρω εξέταση (βιοψία) ή την αφαίρεση σώματος που φράζει τους αεραγωγούς (Εικόνα 16).<sup>[60]</sup> Η λήψη του δείγματος προς βιοψία μπορεί να γίνει με διάφορους τρόπους όπως η βρογχική πλύση, η αναρρόφηση με ειδική βελόνα, με λαβίδα βιοψίας κ.α. Η βρογχοσκόπηση είναι μια τεχνική ανώδυνη καθώς ο ασθενής υποβάλλεται σε τοπική αναισθησία, ωστόσο εγκυμονεί πολλούς κινδύνους όπως ο τραυματισμός των αεραγωγών γι' αυτό το λόγο πραγματοποιείται μόνο από έμπειρους πνευμονολόγους και μόνο όταν η εξέταση αυτή κρίνεται απολύτως απαραίτητη.<sup>[61]</sup> Η διαγνωστική αξία της μεθόδου εξαρτάται από το είδος του βρογχοσκοπίου (οπτικό, υπερήχων, φθορισμού, εύκαμπτο, άκαμπτο κ.λ.π) και τον τρόπο λήψης του βιοπτικού υλικού.

**Διαγνωστική αξία μεθόδου:** Ακρίβεια: 82%, Ευαισθησία: 60-88%, Ειδικότητα: 90%<sup>[62]</sup>.



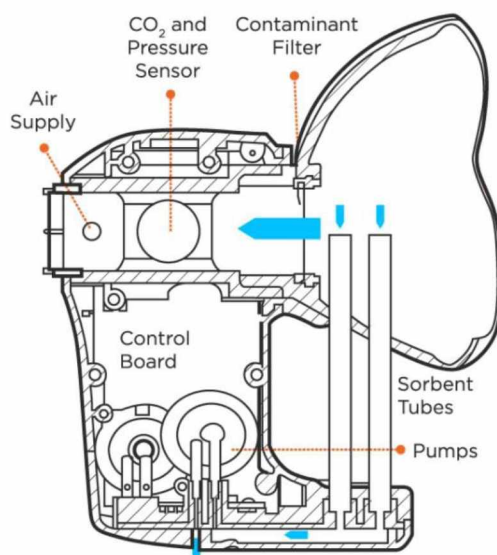


Εικόνα 16. Σχηματική απεικόνιση βρογχοσκόπησης<sup>[60]</sup>

## 2.5. Καινοτόμες μέθοδοι διάγνωσης αναπνευστικών παθήσεων

Στην πλειοψηφία τους οι συμβατικές διαγνωστικές μέθοδοι είναι επεμβατικές (π.χ βιοψία υγρών και ιστών) και δαπανηρές για το σύστημα υγείας και τον ασθενή. Επιπλέον πραγματοποιούνται συνήθως όταν ο καρκίνος είναι σε προχωρημένο στάδιο σε συμπτωματικά άτομα με αποτέλεσμα το μειωμένο εύρος θεραπευτικών μεθόδων και εν τέλη αυξημένη θνησιμότητα. Υπάρχει λοιπόν ανάγκη για ανάπτυξη νέων διαγνωστικών εργαλείων με τα οποία ο καρκίνος του πνεύμονα αλλά και άλλες παθήσεις του αναπνευστικού συστήματος θα ανιχνεύονται νωρίς, με μη επεμβατικό τρόπο και χαμηλό κόστος.

Τα τελευταία χρόνια μελετώνται νέες μέθοδοι που μπορούν εν δυνάμει να εξυπηρετήσουν αυτό το σκοπό, οι οποίες επικεντρώνονται στην ανάλυση του εκπνεόμενου αέρα με τη χρήση βιοαισθητήρων και τεχνικών ενόργανης ανάλυσης (π.χ. αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας) <sup>[63]</sup>. Οι νέες μέθοδοι διάγνωσης βασίζονται στον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό των συστατικών του εκπνεόμενου αέρα. Σκοπός είναι η πρόωμη διάγνωση ασθενειών του αναπνευστικού συστήματος αλλά και παθολογικών καταστάσεων που αφορούν ολόκληρο τον ανθρώπινο οργανισμό καθώς και εξατομίκευση της αντίστοιχης θεραπείας. Η ανάπτυξη αυτών των μεθόδων βρίσκει εφαρμογή όχι μόνο στον καρκίνο του πνεύμονα και άλλες ασθένειες του αναπνευστικού συστήματος, του ήπατος αλλά και σε θέματα που αφορούν τον μεταβολισμό του ανθρώπινου οργανισμού και την περιβαλλοντική έκθεση. Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα αυτών των μεθόδων αποτελεί η μηδενική επεμβατική τους φύση που οφείλεται στην ανάπτυξη αναίμακτων τεχνικών δειγματοληψίας όπως η χρήση της συσκευής ReCIVA(Εικόνα 16).<sup>[64]</sup>



Εικόνα 16. Αναπαράσταση συσκευής ReCIVA δειγματοληψίας εκπνεόμενου αέρα και των βασικών τμημάτων της.<sup>[64]</sup>

## Κεφάλαιο 3<sup>ο</sup>: ΟΙ ΠΤΗΤΙΚΕΣ ΟΡΓΑΝΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΩΣ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

### 3. Ανίχνευση πτητικών οργανικών ενώσεων (ΠΟΕ) στον εκπνεόμενο αέρα

Η ανάλυση του εκπνεόμενου αέρα ως διαγνωστική μέθοδος αναπτύχθηκε την τελευταία δεκαετία του 20<sup>ου</sup> αιώνα όμως έχει ρίζες στην αρχαιότητα, ανατρέχει στον Ιπποκράτη που σημείωσε ότι η χαρακτηριστική μυρωδιά της αναπνοής και άλλων εκκρίσεων (ούρων, ιδρώτα) των ασθενών μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την διάγνωση συγκεκριμένων νοσημάτων. Μάλιστα οι γιατροί, όλα τα χρόνια της ιατρικής, μύριζαν την αναπνοή των ασθενών, τα ούρα, τα κόπρανα και άλλα σωματικά υγρά για να βοηθηθούν στη διάγνωση. Για παράδειγμα ασθενείς με ηπατική νόσο εμφανίζουν μια χαρακτηριστική μυρωδιά στην αναπνοή τους όμοια με αυτή του σάπιου ψαριού, ενώ η μυρωδιά της αναπνοής που παρομοιάζει με εκείνη των ούρων υποδηλώνει νεφρική ανεπάρκεια. Η σύγχρονη εποχή των δοκιμών αναπνοής ξεκίνησε το 1971, όταν βραβευμένος με Νόμπελ Linus Pauling απέδειξε ότι η ανθρώπινη αναπνοή είναι πολύπλοκη και περιέχει πάνω από 200 διαφορετικές πτητικές οργανικές ενώσεις (VOCs)<sup>[65]</sup>. Μερικά από αυτά τα VOC's της αναπνοής έχουν πρόσφατα ερευνηθεί ως δείκτες ασθένειας. Πάνω από 3000 ΠΟΕ, τόσο ενδογενείς όσο και εξωγενείς, έχουν πλέον αναγνωριστεί σε δείγματα εκπνεόμενου αέρα στον άνθρωπο και αρκετές έχουν συσχετιστεί με ασθένειες όπως η Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ), η Κυστική Ίνωση, το άσθμα και ο καρκίνος του πνεύμονα<sup>[66, 67]</sup>.

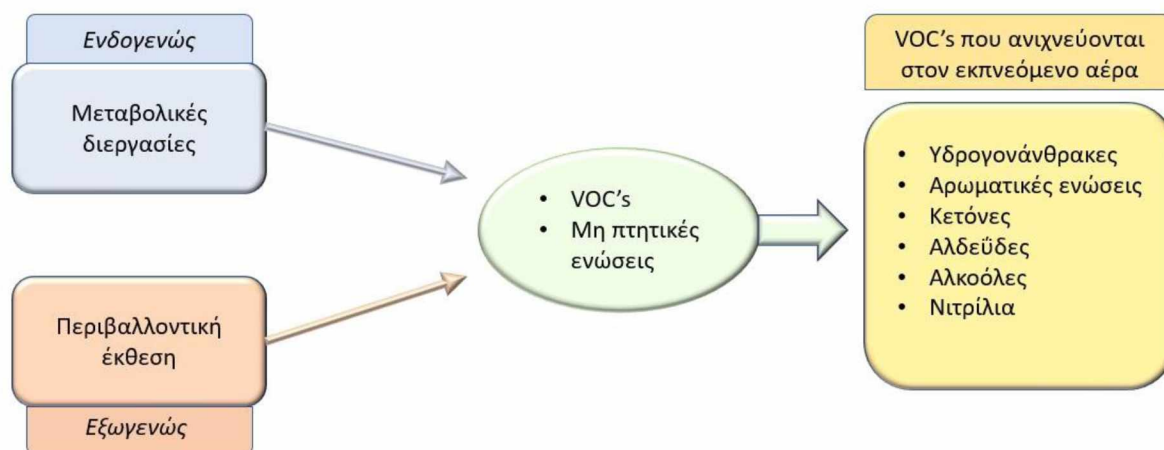
<i>Ισοπρένιο</i>
<i>Ακετόνη</i>
<i>2-Πεντανόνη</i>
<i>Αιθολοβενζόλιο</i>
<i>Πεντάνιο</i>
<i>Αιθάνιο</i>
<i>Αιθανόλη</i>
<i>Εννεανάλη</i>
<i>Βενζόλιο</i>
<i>Στορόλιο</i>
<i>Εξανάλη</i>
<i>Ισοπροπανόλη</i>
<i>Δεκάνιο</i>
<i>Εξάνιο</i>

Πίνακας 3. 14 από τις πτητικές οργανικές ενώσεις που έχει βρεθεί ότι διαφέρουν μεταξύ καρκινοπαθών και υγιών ατόμων<sup>[68]</sup>

### 3.1. Η αξία των ΠΟΕ στη έγκαιρη διάγνωση πνευμονοπαθειών

Οι πτητικές οργανικές ενώσεις (Volatile Organic Compounds, VOC's), είναι ενώσεις με υψηλή πίεση ατμού σε συνθήκες θερμοκρασίας δωματίου. Η υψηλή πίεση ατμού οφείλεται στο χαμηλό σημείο βρασμού που χαρακτηρίζει τις ενώσεις αυτές. Το αποτέλεσμα είναι οι ενώσεις αυτές να εξατμίζονται (ή εξαχνώνονται στην περίπτωση στερεού) και να περιέρχονται στον περιβάλλοντα αέρα. Στο περιβάλλον μπορεί να υπάρχουν είτε από φυσικές πηγές (φυτά, ζώα, μικρόβια, μύκητες) είτε από ανθρωπογενείς πηγές (καυσαέρια, διαλυτικά, κ.α).

Πτητικές οργανικές ενώσεις εντοπίζονται στον ανθρώπινο οργανισμό είτε ως αποτέλεσμα έκθεσης σε αυτές από το περιβάλλον (εξωγενής προέλευση), είτε ως προϊόντα του ανθρώπινου μεταβολισμού καθώς και του μεταβολισμού του μικροβιώματος του (ενδογενής προέλευση)(Εικόνα 17).



Εικόνα 17. Σχηματική απεικόνιση προέλευσης των ΠΟΕ (VOC's) στον εκπνεόμενο αέρα.

Μελέτες έχουν δείξει ότι ασθένειες που επηρεάζουν τους μεταβολικούς μηχανισμούς του οργανισμού όπως ο καρκίνος, ο διαβήτης κ.α προκαλούν αλλαγές στις συγκεντρώσεις των ΠΟΕ στον εκπνεόμενο αέρα<sup>[69]</sup>. Επομένως ο προσδιορισμός των ΠΟΕ στην ανθρώπινη εκπνοή είναι σημαντικός προκειμένου να αξιολογήσουμε τη μεταβολική κατάσταση του οργανισμού και να εντοπίσουμε πιθανές παθολογικές καταστάσεις. Οι ΠΟΕ που μελετώνται συνήθως για διαγνωστικούς σκοπούς περιλαμβάνουν οξυγονούχες ενώσεις (αλκοόλες, κετόνες), υδρογονάνθρακες (π.χ ισοπρένιο), θειούχες (π.χ διμεθυλοσουλφίδιο) και αζωτούχες ενώσεις (π.χ διμεθυλαμίνη)<sup>[68]</sup>. Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 4) αναφέρονται μερικά μεταβολικά μονοπάτια από τα οποία μπορεί να προέρχονται διάφορες κατηγορίες ΠΟΕ, οι οποίες μάλιστα φαίνεται να σχετίζονται με τον καρκίνο του πνεύμονα.

Χημική ομάδα	Παρατηρούμενα επίπεδα συγκέντρωσης σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα	Πιθανό μεταβολικό μονοπάτι προέλευσης	Παραδείγματα ΠΟΕ
Υδρογονάνθρακες : Αλκάνια (γραμμικά-διακλαδισμένα)	Αυξημένη	Οξειδωτικό στρες-Λιπιδική υπεροξείδωση πολυακόρεστων λιπαρών οξέων	Δεκάνιο, 2-μεθυλοπεντάνιο
	Μειωμένη	Πιθανή αποδόμηση αλκανίων από την ενεργοποίηση των CYP450 ενζύμων κατά την καρκινογένεση	Επτάνιο
Αλκένια	Αυξημένη	Σχηματισμός ισοπρενίου κατά το μεβαλονικό μονοπάτι της σύνθεσης της χοληστερόλης	Ισοπρένιο
Αλκοόλες	Αυξημένη	Τροφή, αλκοολούχα ποτά και υδροξυλίωση των αλκανίων σε αλκοόλες από τα ένζυμα CYP450	1-προπανόλη, 2-αίθυλο-1-εξανόλη
Αλδεΐδες	Αυξημένη / Μειωμένη	Μεταβολισμός αλκοολών σε αλδεΐδες (αλκοολική αφυδρογονάση, ADH)  Παραπροϊόντα λιπιδικής υπεροξείδωσης από τα ένζυμα CYP450  Καπνός τσιγάρου (ενεργοποίηση CYP450)  Οξείδωση αλδεϋδών (αλδεϋδική αφυδρογονάση, ALDH) σε καρβοξυλικά οξέα	Φορμαλδεϋδη, προπανάλη, εξανάλη, επτανάλη κ.α.

Πίνακας 4. ΠΟΕ που μεταβάλλονται σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα και πιθανά μεταβολικά μονοπάτια στα οποία εμπλέκονται<sup>[70]</sup>

### 3.2. Μέθοδοι διάγνωσης πνευμονοπαθειών μέσω ανάλυσης εκπνεόμενου αέρα

Η ανάλυση του εκπνεόμενου αέρα αποτελεί ένα εν δυνάμει διαγνωστικό εργαλείο για πολλές ασθένειες συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του πνεύμονα. Υπάρχουν πολλά πλεονεκτήματα συγκριτικά με τις συμβατικές εξετάσεις, συμπεριλαμβανομένου ότι είναι ασφαλής, ανώδυνη και επιτρέπει την επαναλαμβανόμενη δειγματοληψία και ανάλυση. Ωστόσο το πιο σημαντικό

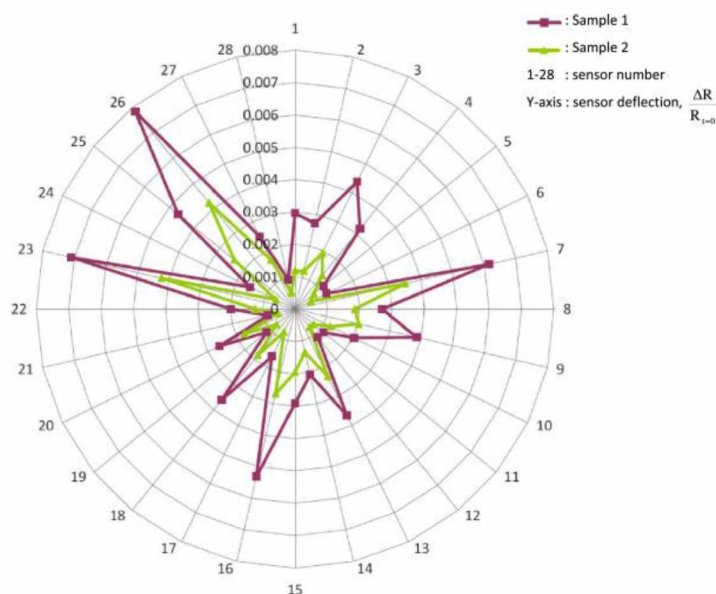
πλεονέκτημα είναι η πιθανή ικανότητα αξιολόγησης ασθενειών με την ανίχνευση μορίων που δεν είναι εύκολα ανιχνεύσιμα στο αίμα ή κάποιο άλλο μέσο.

Υπάρχουν δύο κατηγορίες ανάλυσης του εκπνεόμενου αέρα οι οποίες είναι:

- **On-line (Real-time)** : Ο ασθενής εκπνέει απευθείας στην συσκευή και άμεσα γίνεται η ανάλυση της εκπνοής σε ΠΟΕ (π.χ Ηλεκτρονικοί Αισθητήρες)
- **Off-line** : Η ανάλυση πραγματοποιείται μετά από το στάδιο δειγματοληψίας του εκπνεόμενου αέρα σε ειδικούς σάκους ή σωλήνες απορροφητικού υλικού και στη συνέχεια μεταφέρονται για ανάλυση με αέρια χρωματογραφία (GC-MS)

### Ηλεκτρονικοί Αισθητήρες (e-nose)

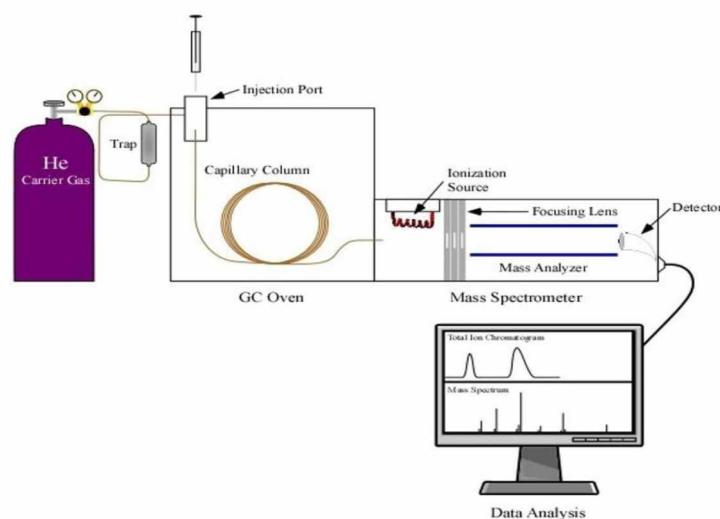
Η εφαρμογή της ηλεκτρονικής μύτης η οποία συχνά αναφέρεται και ως τεχνητή όσφρηση έχει τεράστια δυναμική τα τελευταία χρόνια. Πρόκειται για ένα σύγχρονο αναλυτικό όργανο το οποίο μιμείται το ανθρώπινο οσφρητικό σύστημα και αποτελείται από μια σειρά αισθητήρων, μια μονάδα συλλογής σήματος και ένα λογισμικό στατιστικής ανάλυσης δεδομένων<sup>[71]</sup>. Οι ηλεκτρονικές μύτες δεν ανιχνεύουν μεμονωμένες πτητικές ενώσεις, αλλά το μοτίβο των διαφορετικών σημάτων από όλους τους αισθητήρες σχηματίζει ένα «δακτυλικό-αποτύπωμα» πτητικών ενώσεων του δείγματος όπου στην περίπτωση του εκπνεόμενου αέρα αναφέρεται ως «αποτύπωμα αναπνοής» (breath-print) (Εικόνα 18)<sup>[72]</sup>.



Εικόνα 18. Αραχνοδιάγραμμα που απεικονίζει το «αποτύπωμα αναπνοής» δύο δειγμάτων (sample 1, sample 2) με ηλεκτρονική μύτη 28 αισθητήρων (1-28), Y-axis: Μεταβολή της αντίστασης κάθε αισθητήρα ( $\Delta R/R_{t=0}$ )<sup>[73]</sup>

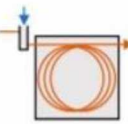

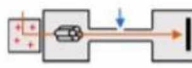



## Αέρια Χρωματογραφία-Φασματομετρία Μάζας (GC-MS)

Ο συνδυασμός αέριας χρωματογραφίας και φασματομετρίας μαζών αποτελεί τη κυρίαρχη μέθοδο ανάλυσης του εκπνεόμενου αέρα και χαρακτηρίζεται από μεγάλη ευαισθησία και ακρίβεια. Η μέθοδος αυτή παρέχει στους ερευνητές και τους κλινικούς ιατρούς ένα τεράστιο εύρος πληροφοριών σχετικά με τη σύσταση του δείγματος, η οποία δίνει ενδείξεις για τις βιοχημικές διεργασίες που λαμβάνουν χώρα στον ανθρώπινο οργανισμό. Με την εισαγωγή του δείγματος στον αέριο χρωματογράφο πραγματοποιείται διαχωρισμός του δείγματος στα επιμέρους συστατικά του. Έπειτα κάθε ένωση ιονίζεται από το φασματογράφο μάζας με αποτέλεσμα τη δημιουργία θραυσμάτων μάζας που καταγράφονται σε μορφή φάσματος. Τα φάσματα που προκύπτουν λειτουργούν ως δακτυλικά αποτυπώματα μάζας για κάθε ένωση και μπορούν να συγκριθούν με φάσματα από βιβλιοθήκες, όπως από το Εθνικό Ινστιτούτο Προτύπων και Τεχνολογίας (NIST) και να ταυτοποιηθούν με ακρίβεια (Εικόνα 19) [74].



Εικόνα 19. Σχηματική απεικόνιση των βασικών μονάδων ενός συστήματος αέριου χρωματογράφου συνδεδεμένο με φασματογράφο μάζας [75]

Βασικό μειονέκτημα της μεθόδου είναι το γεγονός, ότι απαιτείται κατεργασία του δείγματος (απομόνωση και προσυγκέντρωση) και δεν πραγματοποιείται σε πραγματικό χρόνο όπως γίνεται στην περίπτωση των ηλεκτρονικών αισθητήρων, της φασματομετρίας μάζας με αντίδραση μεταφοράς πρωτονίων (PTR-MS, Proton Transfer Reaction Mass Spectrometry) και της Φασματομετρίας μάζας με σωλήνα ροής επιλεγμένων ιόντων (SIFT-MS, Selected Ion Flow Tube Mass Spectrometry). Μερικά πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα των μεθόδων ανάλυσης εκπνεόμενου αέρα φαίνονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 5) [76]. Όλες οι τεχνικές ενόργανης ανάλυσης χαρακτηρίζονται από πολύ καλά όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης ωστόσο η GC-MS εμφανίζει υψηλότερη ευαισθησία και ειδικότητα από τις PTR-MS και SIFT-MS και παρά το γεγονός ότι μειονεκτεί σε άλλους τομείς όπως ο χρόνος ανάλυσης και η προκατεργασία του δείγματος, παραμένει η πιο διαδεδομένη και αξιόπιστη μέθοδος ανάλυσης του εκπνεόμενου αέρα [72].

Analysis Method	Instrument	Sensitivity	Strengths	Limitations
Gas Chromatography 	GC-MS GC-TOF-MS GCxGC-TOF-MS GC-MS/MS GC-SAW GC-FID/TCD	ppb <sup>a</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Large reference library</li> <li>Established methods for VOC analysis</li> <li>High sensitivity</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pre-concentration required</li> <li>Relatively high cost</li> <li>Usually large instruments, and requires regular maintenance by a specialist</li> <li>Relatively slow analysis (per sample)</li> </ul>
Proton Transfer Reaction 	PTR-MS PTR-TOF-MS	ppb to ppt <sup>b</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>No pre-concentration</li> <li>High sensitivity</li> <li>High specificity</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Relies on reaction with reagent ion</li> <li>Relatively high cost</li> <li>Usually large instruments, and requires regular maintenance by a specialist</li> </ul>
Selected Ion Flow Tube 	SIFT-MS SIFT-MS/MS	ppb to ppt	<ul style="list-style-type: none"> <li>No pre-concentration</li> <li>High sensitivity</li> <li>High specificity</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Relatively high cost</li> <li>Relies on reaction with selected reagent ions</li> </ul>
Ion Mobility-based Spectrometry 	MCC-IMS MCC-DMS	ppm <sup>c</sup> to ppb	<ul style="list-style-type: none"> <li>High versatility</li> <li>On-line clinical analysis possible</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Chemical characterisation required</li> <li>Maintenance by specialist required</li> </ul>
Electronic Nose Sensors 	Cyranose NA-Nose Quartz Crystal	ppm to ppb	<ul style="list-style-type: none"> <li>Highly portable</li> <li>On-line clinical analysis possible</li> <li>Relatively low cost</li> <li>Highly adaptable to a clinical environment</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Binary classification</li> <li>Limited chemical selectivity</li> <li>Needs prior training</li> <li>Selective sensors are still under development</li> </ul>
Secondary Electrospray Ionisation 	SESI-MS SESI-MS/MS	ppb	<ul style="list-style-type: none"> <li>No pre-concentration</li> <li>No soft ionisation reaction required</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Relatively high cost</li> <li>Characterisation required</li> <li>Requires regular maintenance by a specialist</li> </ul>

<sup>a</sup>Parts per billion <sup>b</sup>Parts per trillion. <sup>c</sup>Parts per million.

Πίνακας 5. Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα μεθόδων ανάλυσης εκπνεόμενου αέρα<sup>[76]</sup>

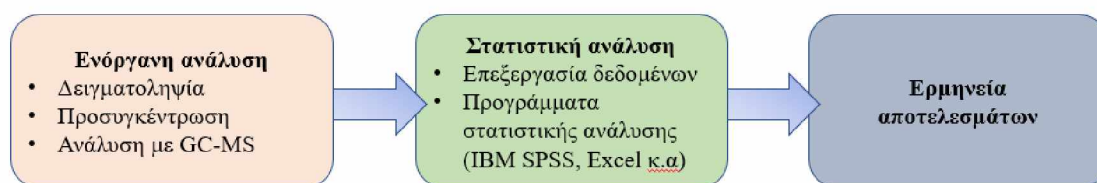


## Κεφάλαιο 4<sup>ο</sup>: ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΕΚΠΝΕΟΜΕΝΟΥ ΑΕΡΑ

### 4. Μεθοδολογία ενόργανης ανάλυσης των ΠΟΕ του εκπνεόμενου αέρα

Στο σύνολο της η μέθοδος ανάλυσης του εκπνεόμενου αέρα περιλαμβάνει τα εξής βασικά στάδια (Εικόνα 20):

1. Ενόργανη ανάλυση των ΠΟΕ
2. Στατιστική ανάλυση των δεδομένων
3. Ερμηνεία αποτελεσμάτων



Εικόνα 20 . Βασικά στάδια ανάλυσης του εκπνεόμενου αέρα.

#### 4.1. Δειγματοληψία εκπνεόμενου αέρα σε σάκους Tedlar

Οι σάκοι χρησιμοποιούνται ευρέως ως μέσα δειγματοληψίας και αποθήκευσης του εκπνεόμενου αέρα λόγω της ευκολίας στη χρήση τους αλλά και του οικονομικού τους πλεονεκτήματος. Μεταξύ άλλων πλέον χρησιμοποιούμενους είναι οι σάκοι Tedlar (Εικόνα 21). Στους σάκους Tedlar όπως και στους περισσότερους σάκους μπορεί να παρατηρηθεί απώλεια αερίων ή επιμόλυνση από τον περιβάλλοντα αέρα, ωστόσο συγκριτικά με άλλα είδη σάκων (Nalophan, Teflon) είναι οι πιο κατάλληλοι για την αποθήκευση δειγμάτων για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα<sup>[77]</sup>.



Εικόνα 21. Σάκος δειγματοληψίας Tedlar<sup>[78]</sup>

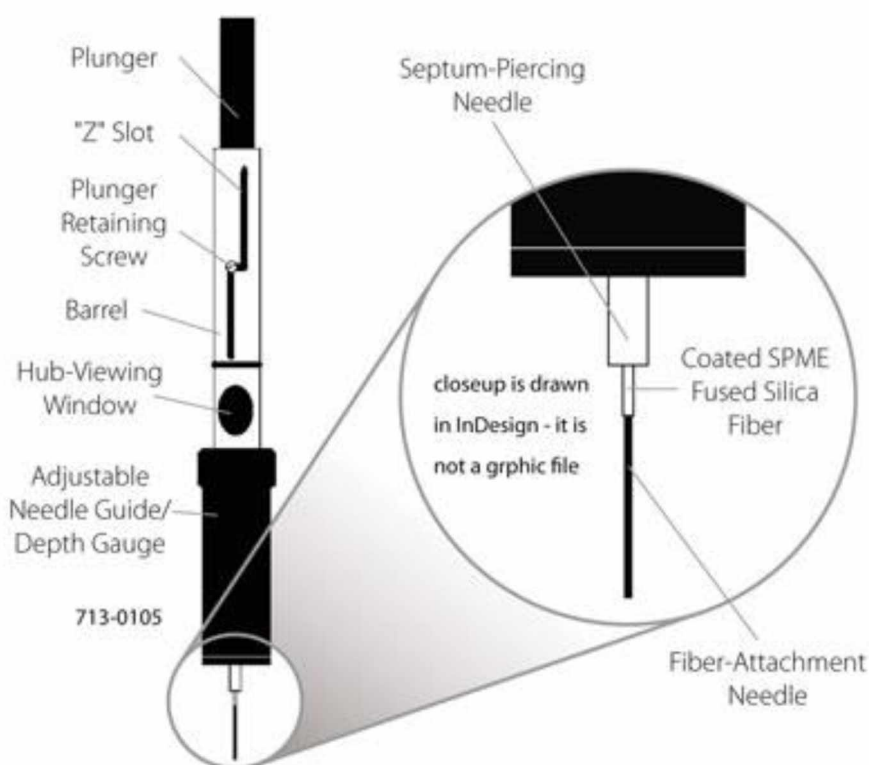
Ο εκπνεόμενος αέρας εισέρχεται στο σάκο από το ειδικό στόμιο που κλείνει αεροστεγώς και αποθηκεύεται μέχρι την ανάλυση η οποία πραγματοποιείται σε

σύντομο χρονικό διάστημα από τη στιγμή της δειγματοληψίας. Μετά το τέλος της ανάλυσης ο σάκος καθαρίζεται σχολαστικά με αέριο άζωτο ώστε να είναι δυνατή η επαναχρησιμοποίησή του.

#### 4.2. Απομόνωση και προσυγκέντρωση των ΠΟΕ με μικροεκχύλιση στερεής φάσης (Solid Phase Micro-Extraction)

Η μικροεκχύλιση στερεής φάσης (SPME) αναπτύχθηκε το 1990 από τους Pawliszyn και Arthur. Πρόκειται για μια τεχνική απομόνωσης πτητικών, ημιπτητικών και μη πτητικών ενώσεων από υγρά ή αέρια δείγματα<sup>[79]</sup>.

Η συσκευή για SPME έχει τη μορφή σύριγγας. Στο εσωτερικό της βελόνας της σύριγγας υπάρχει μια ίνα η οποία εισέρχεται και εξέρχεται από τον αγωγό με τη βοήθεια ενός ελατηρίου. Το υλικό από το οποίο είναι κατασκευασμένη η ίνα είναι τηγμένο διοξείδιο του πυριτίου (fused silica, SiO<sub>2</sub>) και είναι επικαλυμμένη με πολυμερές υλικό που αποτελεί τη στατική φάση, πάνω στην οποία προσροφώνται οι ενώσεις προς απομόνωση (Εικόνα 22)<sup>[80]</sup>. Υπάρχουν διάφορα είδη ινών στο εμπόριο, που διαφέρουν ως προς το πάχος και το υλικό επικάλυψης της ίνας (στατική φάση). Το υλικό επικάλυψης μπορεί μεταξύ άλλων να αποτελείται από πολυδιμεθυλοσιλοξάνια (PDMS), διβινυλοβενζόλιο (DVB) ή και συνδυασμό αυτών<sup>[81]</sup>.



Εικόνα 22. Διάταξη συσκευής-ίνας SPME<sup>[82]</sup>

Η διαδικασία πραγματοποιείται σε δύο στάδια, το στάδιο της προσρόφησης των πτητικών συστατικών του δείγματος και το στάδιο εκρόφησης αυτών. Για το πρώτο στάδιο η βελόνα της σύριγγας εισάγεται μέσω ελαστικού διαφράγματος στο σάκο

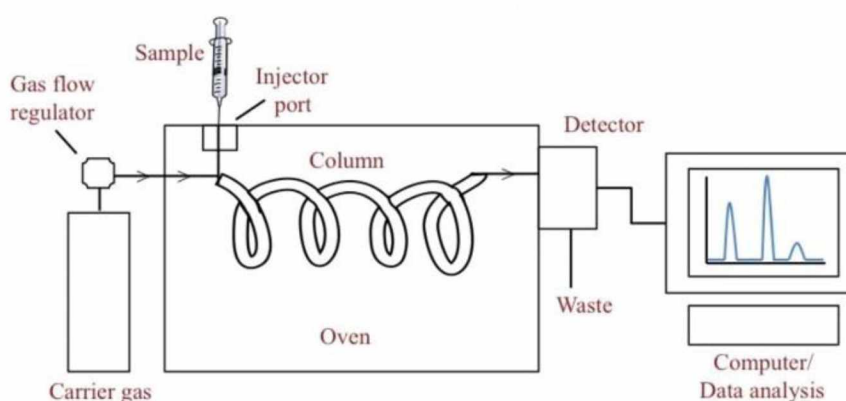
Tedlar που περιέχει το δείγμα μας σε αέρια μορφή. Η ίνα εξέρχεται από τη βελόνα με τη βοήθεια του εμβόλου και εκτίθεται στο εσωτερικό του σάκου όπου προσροφά τα πτητικά συστατικά του δείγματος. Πριν την εξαγωγή της ίνας από το σάκο, η ίνα επανέρχεται στη βελόνα της σύριγγας όπου προστατεύεται. Στο δεύτερο στάδιο η ίνα εισάγεται στη διάταξη έγχυσης δείγματος του αέριου χρωματογράφου, όπου οι προσροφημένες σε αυτή πτητικές ενώσεις εκροφώνται με θερμική εκρόφηση και μεταφέρονται στην τριχοειδή στήλη με τη βοήθεια του φέροντος αερίου για διαχωρισμό και ταυτοποίηση. Τέλος η ίνα SPME εξάγεται από τον εισαγωγέα του δείγματος.

### 4.3. Αέρια Χρωματογραφία-Φασματομετρία Μάζας με αναλυτή μάζας παγίδας ιόντων (GC-IT-MS)

#### *Αέρια Χρωματογραφία(GC)*

Η αέρια χρωματογραφία (Gas Chromatography, GC) είναι μια τεχνική διαχωρισμού των πτητικών συστατικών ενός δείγματος. Ο διαχωρισμός πραγματοποιείται μεταξύ δύο φάσεων, της κινητής φάσης (αδρανές αέριο) και της στατικής φάσης (υγρή ή στερεή). Αναγκαία προϋπόθεση για την εφαρμογή της μεθόδου είναι, τα συστατικά του δείγματος προς διαχωρισμό να είναι πτητικά ή να μπορούν να μετατραπούν σε πτητικά παράγωγα ύστερα από κατάλληλη κατεργασία. Κάθε συστατικό παρουσιάζει διαφορετική σχετική φυσικοχημική συγγένεια με τη στατική φάση της στήλης καθώς υπάρχουν διαφορές στις ιδιότητες των συστατικών όπως η πολικότητα, το σημείο ζέσεως, το μέγεθος του μορίου κ.α. Έτσι καθώς η κινητή φάση διέρχεται μέσα από την στατική, τα συστατικά κατανέμονται και μετατοπίζονται επάνω σε αυτή με διαφορετικό τρόπο με αποτέλεσμα να διαχωρίζονται μεταξύ τους και εξέρχονται από την στήλη σε διαφορετικές χρονικές στιγμές<sup>[83]</sup>.

Η οργανολογία ενός αέριου χρωματογράφου αποτελείται από: τη φιάλη φέροντος αερίου (κινητή φάση), το σύστημα εισαγωγής δείγματος, ένα θερμοστατούμενο φούρνο στον οποίο περιέχεται η χρωματογραφική στήλη, τον ανιχνευτή και ενισχυτή σήματος και τον καταγραφέα ή ηλεκτρονικό υπολογιστή (Εικόνα 23).



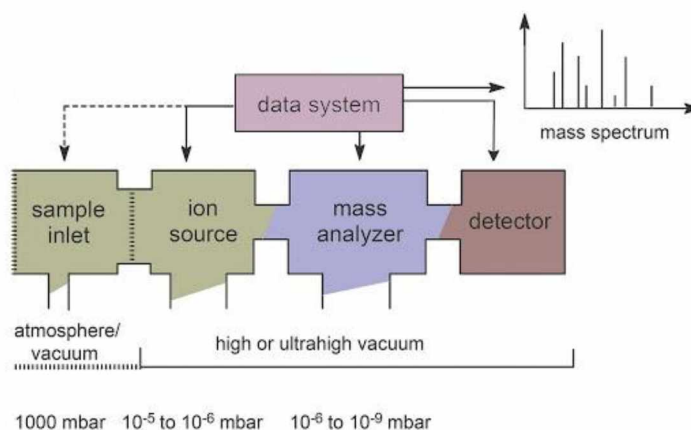
Εικόνα 23. Σχηματική απεικόνιση οργάνου GC<sup>[84]</sup>

Το φέρον αέριο αποτελεί την κινητή φάση και πρέπει να είναι χημικώς αδρανές έναντι του υλικού κατασκευής του αέριου χρωματογράφου, του πληρωτικού υλικού της στήλης και των προς διαχωρισμό ουσιών. Χρησιμοποιούνται κυρίως ήλιο He, άζωτο N<sub>2</sub> και αργό Ar. Η στήλη βρίσκεται μέσα στον θερμοστατούμενο κλίβανο, όπου η θερμοκρασία της μπορεί να μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια της ανάλυσης με κατάλληλο πρόγραμμα.

Τα διαχωριζόμενα συστατικά, εξέρχονται από την στήλη και στη συνέχεια διέρχονται από τον ανιχνευτή. Ο ανιχνευτής συνδέεται με ηλεκτρονικό υπολογιστή, όπου τα σήματα που λαμβάνονται μετατρέπονται σε μορφή χρωματογραφήματος. Ο χρόνος που μεσολαβεί από τη στιγμή εισαγωγής του δείγματος μέχρι τη στιγμή που η κορυφή της ουσίας φτάνει στον ανιχνευτή ονομάζεται *χρόνος κατακράτησης* και συμβολίζεται με  $t_R$ . Για να ερμηνευτεί ένα χρωματογράφημα συγκρίνεται ο χρόνος κατακράτησης της άγνωστης ουσίας με το χρόνο κατακράτησης της αντίστοιχης πρότυπης ουσίας. Ωστόσο για την πλήρη ταυτοποίηση μιας ουσίας συνήθως χρησιμοποιείται ως ανιχνευτής, το φασματομέτρο μαζών.

### Φασματομετρία Μαζών (MS)

Η φασματομετρία μάζας (MS) είναι μια αναλυτική τεχνική ανίχνευσης, ταυτοποίησης και ποσοτικού προσδιορισμού ενώσεων και βασίζεται στον ιονισμό των ενώσεων και διαχωρισμό των ιόντων τους βάσει του λόγου μάζας προς φορτίο ( $m/z$ ). Τα όργανα MS αποτελούνται από μια πηγή ιόντων με την οποία πραγματοποιείται ο ιονισμός των μορίων, έναν αναλυτή μάζας, ο οποίος διαχωρίζει τα ιόντα ανάλογα με τις μάζες τους εφαρμόζοντας ηλεκτρομαγνητικά πεδία, έναν ανιχνευτή και έναν υπολογιστή, ο οποίος ρυθμίζει τον αναλυτή μάζας και μετατρέπει τα δεδομένα που προέρχονται από τον ανιχνευτή σε μορφή φάσματος (Εικόνα 24).



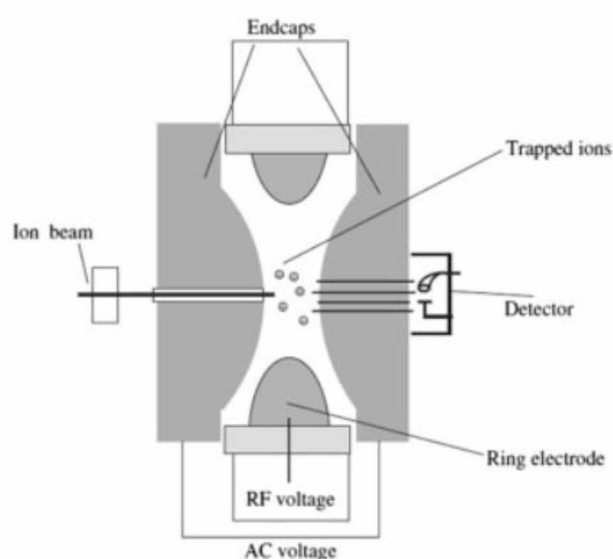
Εικόνα 24 . Απεικόνιση οργανολογίας ενός φασματομέτρου μάζας<sup>[85]</sup>

Στο θάλαμο ιονισμού του φασματομέτρου μαζών (πηγή ιόντων), τα μόρια των συστατικών του δείγματος μετατρέπονται σε ιόντα. Αυτός ο ιονισμός πραγματοποιείται συχνά βομβαρδίζοντας τα αέρια μόρια της ένωσης με δέσμη ηλεκτρονίων υψηλής κινητικής ενέργειας. Ο συγκεκριμένος τρόπος ιονισμού ονομάζεται, ιονισμός κρούσης με ηλεκτρόνια (EI). Τα ηλεκτρόνια προσπίπτουν σε μερικά από τα μόρια της ένωσης, γεγονός που την αναγκάζει να διασπαστούν και να παράγονται θετικά μοριακά ιόντα με μικρότερη ή ίση μάζα (μοριακό ιόν) τα οποία συγκλίνουν λόγω του ηλεκτρικού πεδίου σχηματίζοντας μια λεπτή δέσμη. Καθώς η δέσμη διέρχεται μέσω του ηλεκτρικού ή μαγνητικού πεδίου κάθε ιόν αποκλίνει από την αρχική κατεύθυνση ανάλογα με τον λόγο της μάζας του προς το φορτίο ( $m/z$ ). Ο ανιχνευτής μετρά το ηλεκτρικό ρεύμα που παράγουν τα ιόντα με διαφορετικό λόγο  $m/z$ , έτσι προκύπτει το διάγραμμα συναρτήσεως του ηλεκτρικού ρεύματος και του λόγου  $m/z$ , δηλαδή το φάσμα<sup>[86]</sup>.

Εκτός από τον ιονισμό κρούσης με ηλεκτρόνια (EI) χρησιμοποιούνται και άλλοι τρόποι ιονισμού όπως ο χημικός ιονισμός (CI) και ο ιονισμός με ηλεκτρονεκασμό (ESI). Η επιλογή της πηγής ιόντων εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως η φύση των ενώσεων (οργανικές, ανόργανες) ιδιότητες του δείγματος και το εύρος του μοριακού τους βάρους.

Ο τρόπος με τον οποίο διαχωρίζονται τα ιόντα εξαρτάται από τον αναλυτή μάζας. Μεταξύ άλλων υπάρχουν αναλυτές όπως το τετράπολο (Quadrupole), ο αναλυτής χρόνου πτήσης (Time-Of-Flight, TOF) και ο αναλυτής παγίδας ιόντων (Ion Trap) ο οποίος χρησιμοποιείται συχνά λόγω χαμηλότερου κόστους και παρέχει την δυνατότητα θραυσματοποίησης των ιόντων εκ νέου (Εικόνα 25).

Εικόνα 25. Σχηματική απεικόνιση αναλυτή παγίδας ιόντων<sup>[87]</sup>



#### 4.4. Στοχευμένη και μη στοχευμένη ανάλυση των ΠΟΕ

Η ανάλυση του εκπνεόμενου αέρα μπορεί να είναι είτε **στοχευμένη** είτε **μη στοχευμένη**. Στη περίπτωση της στοχευμένης ανάλυσης η μελέτη περιορίζεται σε συγκεκριμένες ενώσεις με γνωστά χαρακτηριστικά (φάσμα μάζας, χρόνος κατακράτησης κλπ.) που μπορεί να έχουν χαρακτηριστεί ως βιοδείκτες ασθενειών σε προγενέστερες μελέτες. Το βασικό μειονέκτημα της στοχευμένης ανάλυσης είναι η απώλεια δεδομένων από άγνωστες ενώσεις του δείγματος που μπορεί εν δυνάμει να παρουσιάζουν ισχυρό διαγνωστικό χαρακτήρα. Στον αντίποδα η μη στοχευμένη ανάλυση περιλαμβάνει τον εντοπισμό και την ταυτοποίηση γνωστών αλλά και άγνωστων ενώσεων του δείγματος και επιτρέπει κατά αυτόν τον τρόπο τη συλλογή δεδομένων σε μεγαλύτερη κλίμακα για κάθε δείγμα και τη δημιουργία του μεταβολικού προφίλ του ατόμου. Μέσω της μη στοχευμένης ανάλυσης γίνεται σύγκριση των μεταβολικών προφίλ μεταξύ των πληθυσμών, με τη βοήθεια στατιστικών μεθόδων<sup>[88]</sup>. Απώτερος σκοπός είναι η εύρεση μεταβολιτών που παρουσιάζουν ενδιαφέρον ως διαγνωστικοί δείκτες ασθενειών. Για τους σκοπούς της στατιστικής ανάλυσης χρησιμοποιούνται προγράμματα όπως το IBM SPSS και το Excel.

## Μέρος Δεύτερο.

### Κεφάλαιο 1<sup>ο</sup>: ΕΝΟΡΓΑΝΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΚΠΝΕΟΜΕΝΟΥ ΑΕΡΑ

#### 1. Πειραματικό μέρος

##### *Υλικά και αντιδραστήρια*

Για την παρασκευή των πρότυπων διαλυμάτων χρησιμοποιήθηκαν τα εξής:

- ❖ Φιαλίδια χωρητικότητας 2ml Perkin Elmer
- ❖ Φιαλίδια χωρητικότητας 4ml Supelco
- ❖ Φιαλίδια χωρητικότητας 15ml Supelco
- ❖ Πιπέτα χωρητικότητας 100-1000μl BIOHIT
- ❖ Μικροσύριγγα 100μl Thermo Scientific
- ❖ Μικροσύριγγα 500μl Thermo Scientific
- ❖ Πρότυπα διαλύματα ουσιών (εξάνιο, 1-προπανόλη, 2-βουτανόνη, κυκλοεξάνιο, βενζόλιο, θειοφαίνιο, 1-βουτανόλη, τολουόλιο, οκτάνιο, βουτυρικός αιθυλεστέρας, εξανάλη, αιθυλοβενζόλιο, στυρόλιο, κυκλοεξανόνη, οκτανάλη, εννεανάλη, ακετόνη, ισοπροπανόλη)
- ❖ Διαλύτης μεθανόλη for HPLC  $\geq 99,9\%$  Sigma Aldrich

Για την απομόνωση των αναλυτών από τα δείγματα αέρα, χρησιμοποιήθηκε η τεχνική SPME με τα εξής υλικά:

- ❖ Ίνα Supelco SPME 75  $\mu\text{m}$  CAR/PDMS
- ❖ Σάκοι δειγματοληψίας Tedlar χωρητικότητας 1L

#### Ενόργανη Ανάλυση (GC-MS)

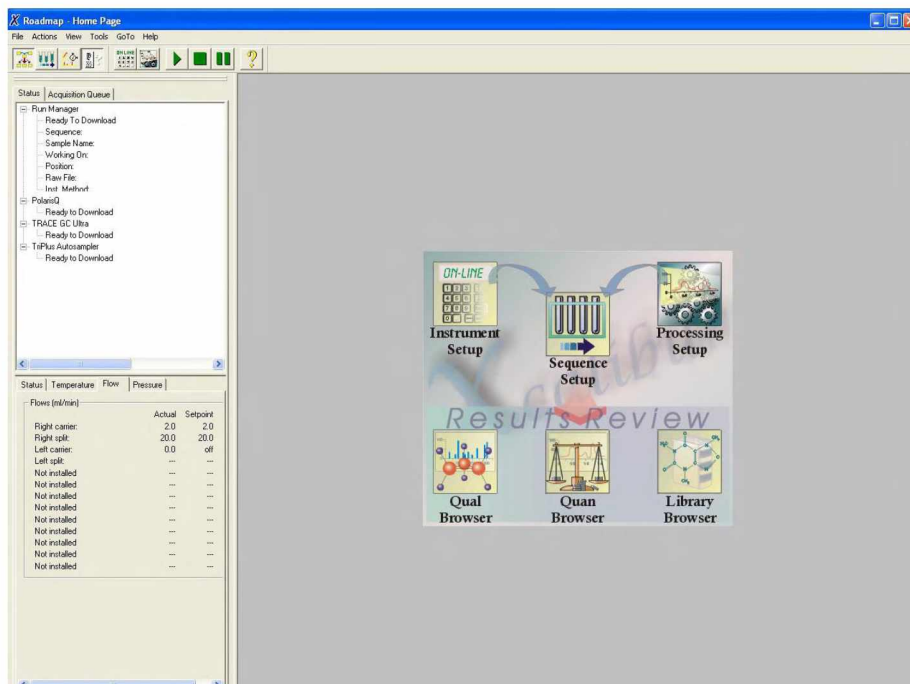
Για την ενόργανη ανάλυση των ΠΟΕ χρησιμοποιήθηκε ο αέριος χρωματογράφος συνδισμένος με φασματογράφο μάζας (GC-MS Finnigan Trace GC Ultra – Polaris Ion Trap)(Εικόνα 1.1). Η ίνα μικροεκχύλισης στερεής φάσης (SPME) εισάγεται σε σάκο Tedlar με το δείγμα για 25 λεπτά, έπειτα εισάγεται στο όργανο για 5 λεπτά σε κατάλληλη θερμοκρασία όπου στη συνέχεια αφαιρείται προς εισαγωγή της σε νέο σάκο, ο χρόνος ανάλυσης κάθε δείγματος είναι συνολικά 18 λεπτά. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται για όλα τα δείγματα σε προκαθορισμένες συνθήκες που αναφέρονται παρακάτω (Εικόνα 1.6).



Εικόνα1.1 Σύστημα αέριου χρωματογράφου-φασματογράφου μάζας όμοιο με αυτό που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία<sup>[89]</sup>

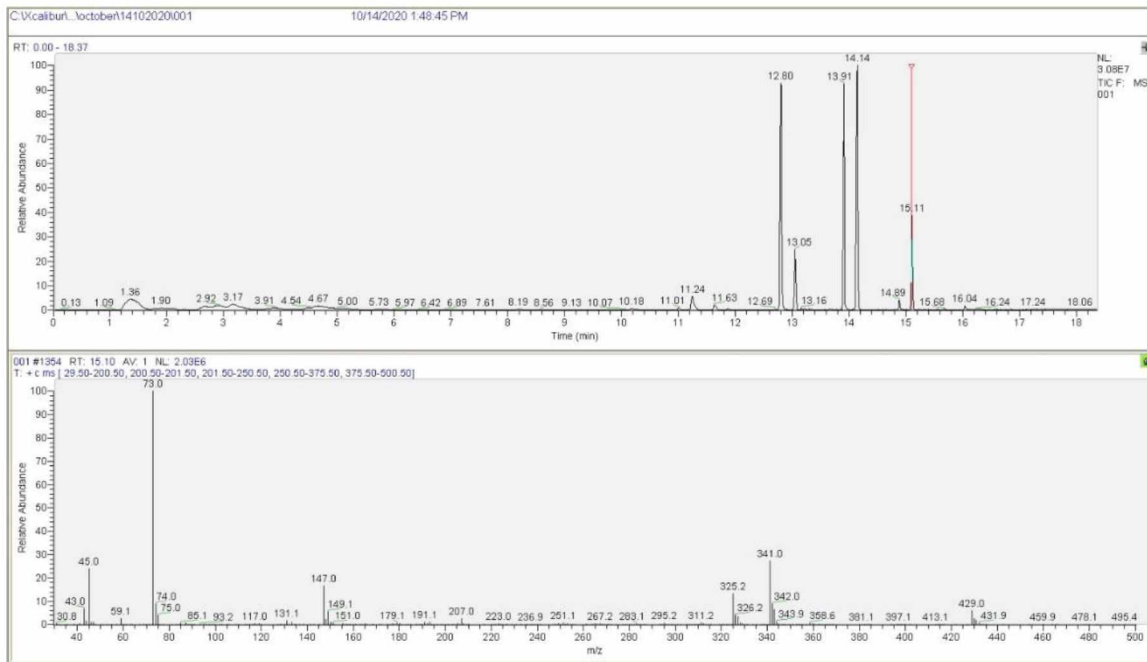
### Λογισμικό Ανάλυσης

Το λογισμικό που χρησιμοποιείται για την ανάλυση των ΠΟΕ είναι το Xcalibur™ της Thermo Electron Corporation(Εικόνα 1.2). Το λογισμικό αυτό έχει τη δυνατότητα δημιουργίας ακολουθίας των δειγμάτων (Sequence Setup) έτσι ώστε τα δείγματα να αναλύονται μαζικά, ενώ παράλληλα δίνεται η δυνατότητα αυτόματης κατασκευής καμπύλης βαθμονόμησης (Batch Reprocess). Από το λογισμικό ρυθμίζονται οι παράμετροι των οργάνων (Instrument Setup), οι μέθοδοι ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης των ΠΟΕ (Processing Setup). Για την ανίχνευση άγνωστων και στοχευμένων ΠΟΕ χρησιμοποιείται η ενότητα Qual Browser όπου απεικονίζονται γραφικά τα φάσματα της αέριας χρωματογραφίας και της φασματομετρίας μαζών (Εικόνα1.3).



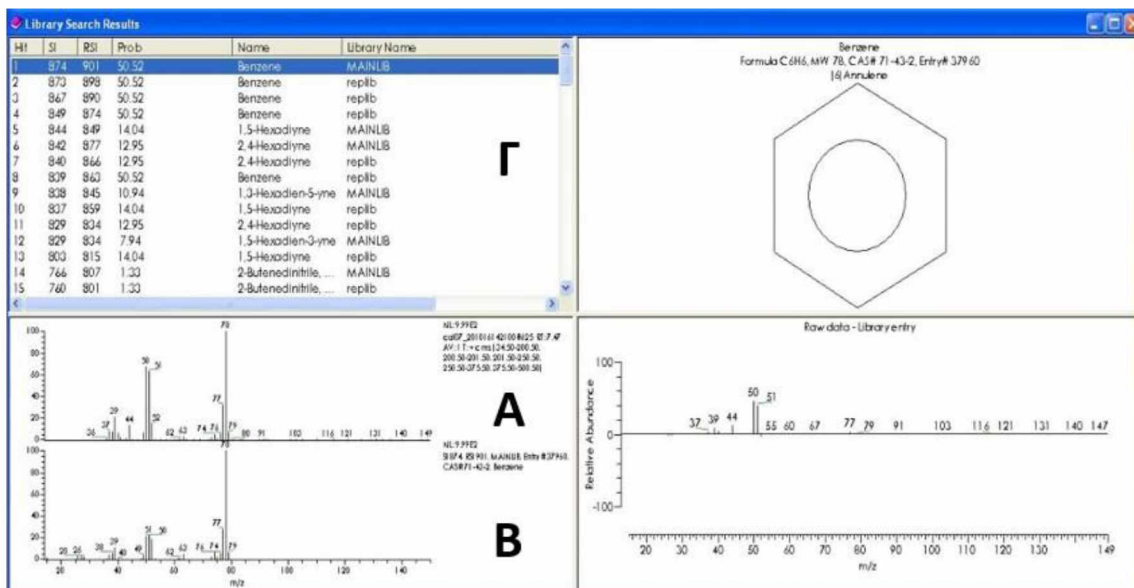
Εικόνα1.2. Αρχική σελίδα του προγράμματος Xcalibur.





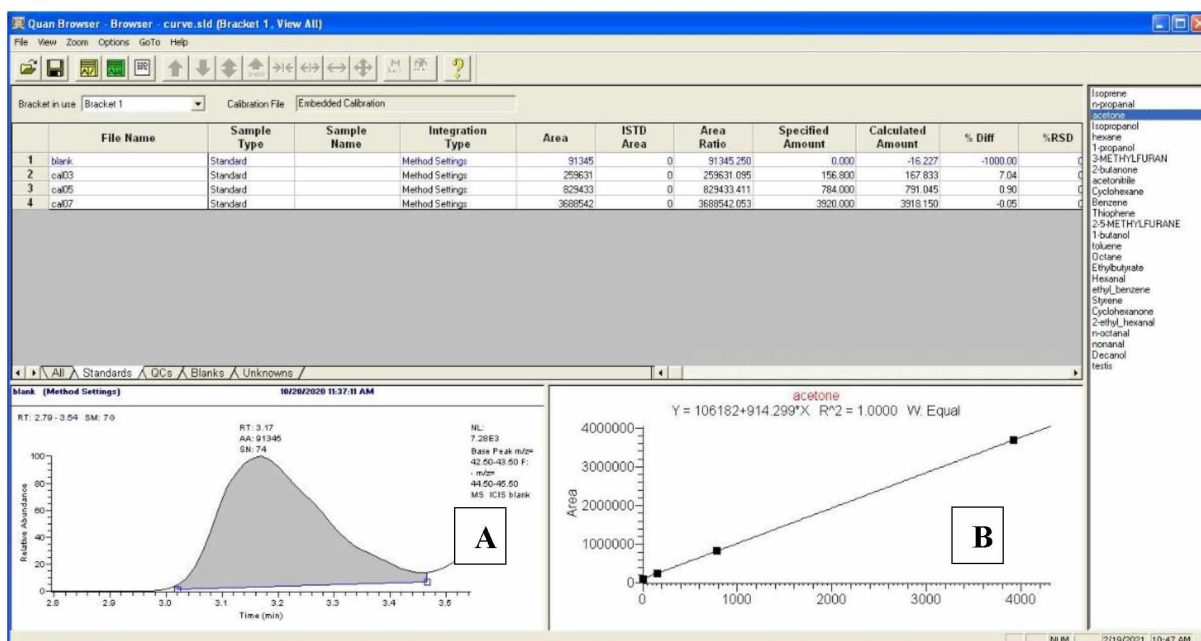
Εικόνα 1.3. Χρωματογράφημα και φάσμα μάζας επιλεγμένης κορυφής όπως εμφανίζονται στο Qual Browser.

Η ανάλυση των φασμάτων και η ταυτοποίηση των ενώσεων πραγματοποιείται αφού προηγουμένως έχουν ρυθμιστεί οι κατάλληλες παράμετροι (χρόνος έκλουσης, χαρακτηριστικά ιόντα)(Πίνακας 6), ενώ παράλληλα τα φάσματα συγκρίνονται για περαιτέρω επιβεβαίωση με φάσματα στη βάση δεδομένων (Library Browser)(Εικόνα 1.4).



Εικόνα 1.4. Σύγκριση φάσματος αγνώστου δείγματος (A) με φάσμα βιβλιοθήκης (B), λίστα πιθανών ενώσεων (Γ).

Τέλος για την ποσοτικοποίηση των ενώσεων χρησιμοποιείται το Quan Browser όπου φαίνεται η εξίσωση της πρότυπης καμπύλης και το εμβαδόν της κάθε ρυφής.(Εικόνα1.5).



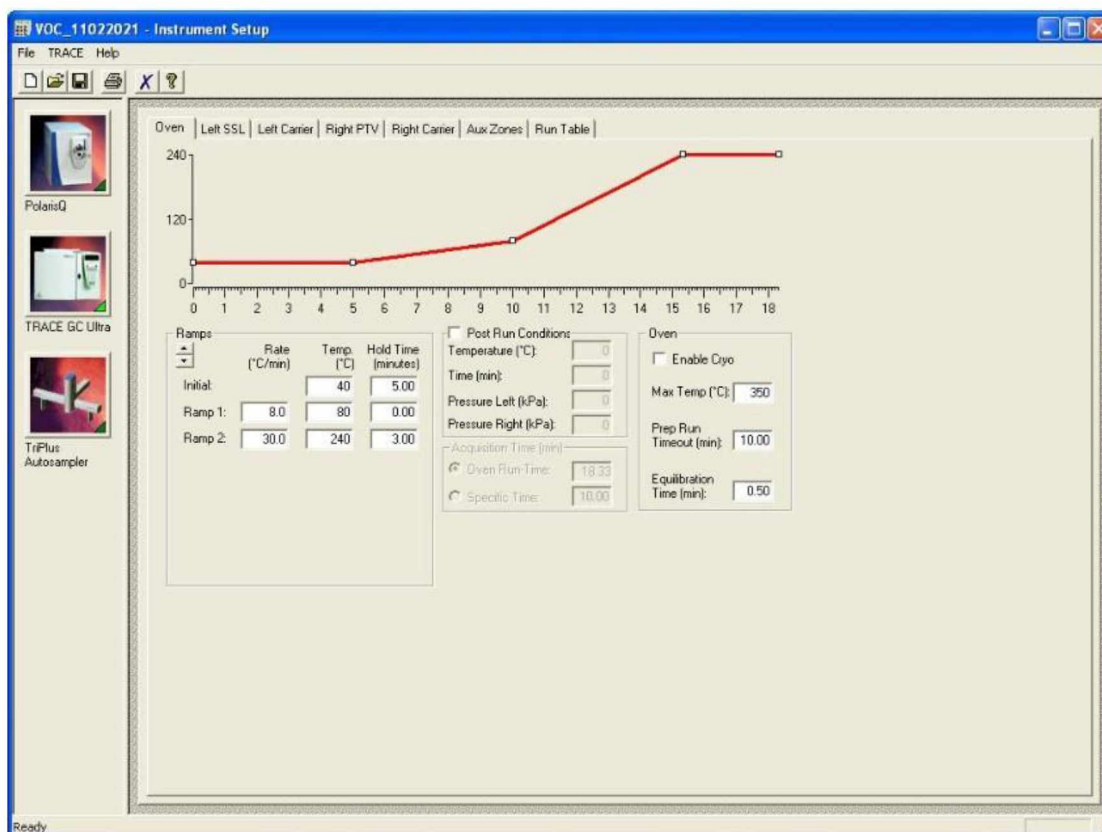
Εικόνα 1.5. Χρωματογραφική κορυφή ακετόνης (A), εξίσωση καμπύλης βαθμονόμησης (B).

### Συνθήκες Ανάλυσης

#### α) Συνθήκες Αέριου Χρωματογράφου

Για την αέρια χρωματογραφία χρησιμοποιήθηκε ως φέρον αέριο (κινητή φάση) το ήλιο (He) με ρυθμό ροής 2 ml/min. Η θερμοκρασία του εισαγωγέα ρυθμίζεται στους 300°C Για τον αέριο χρωματογράφο ρυθμίστηκε το θερμοκρασιακό πρόγραμμα του φούρνου ως εξής (Εικόνα 1.6):

- Αρχική θερμοκρασία 40 °C (σταθερή για 5 λεπτά)
- Αύξηση θερμοκρασίας στους 80 °C με ρυθμό αύξησης 8 °C/λεπτό
- Αύξηση θερμοκρασίας στους 240 °C με ρυθμό αύξησης 30 °C/λεπτό (σταθερή για 3 λεπτά)



Εικόνα 1.6. Γραφική αναπαράσταση του θερμοκρασιακού προγράμματος του φούρνου όπως εμφανίζεται στο λογισμικό.

### 1.1. Πρωτόκολλο κατασκευής καμπύλης βαθμονόμησης

Η κατασκευή πρότυπης καμπύλης είναι αναγκαία προϋπόθεση για την ποσοτικοποίηση των ενώσεων στα πραγματικά δείγματα. Το πρώτο βήμα για την κατασκευή της καμπύλης βαθμονόμησης είναι η παρασκευή των πρότυπων διαλυμάτων stock solution 1 και stock solution 2. Το stock solution 1 περιέχει εξάνιο, 1-προπανόλη, βουτανόνη, κυκλοεξάνιο, βενζόλιο, θειοφαίνιο, 1, βουτανόλη, τολουόλιο, οκτάνιο, βουτυρικό αιθυλεστέρα, αιθυλοβενζόλιο, εξανάλη, ισοπροπανόλη και προπανάλη σε αραιώση 1:1000 με μεθανόλη σε φιαλίδιο Supelco (15ml) με τελικό όγκο 10ml. Το stock solution 2 περιέχει ισοπροπανόλη και προπανάλη σε αραιώση 1:200 με μεθανόλη και ακετόνη σε αραιώση 1:100 με μεθανόλη σε φιαλίδιο Supelco (15ml) με τελικό όγκο 10ml. Για την παρασκευή του διαλύματος εργασίας (working solution), σε φιαλίδιο Supelco χωρητικότητας 4ml εισάγονται 1,4ml μεθανόλη, 0,1ml από το stock solution 1 και 1,5ml από το stock solution 2 και (τελικός όγκος 3ml). Τέλος παρασκευάζονται 4 πρότυπα διαλύματα βαθμονόμησης (calibration standards). Σε φιαλίδιο Pelkin Elmer 2ml εισάγεται ποσότητα από το working solution με διαλύτη μεθανόλη και τελικό όγκο 1ml (ανάδευση με Vortex). Έτσι προκύπτουν τα πρότυπα, Calibration level 0 (Blank) συγκέντρωσης 0  $\mu\text{l/ml}$ , το Calibration level 3 (CAL3,) συγκέντρωσης 4  $\mu\text{l/ml}$ , το Calibration level 5 (CAL5) συγκέντρωσης 20  $\mu\text{l/ml}$  και το Calibration level 7 (CAL7) με συγκέντρωση 100  $\mu\text{l/ml}$ . Κάθε πρότυπο διάλυμα

εγχέεται (10μl) με μικροσύριγγα Thermo Scientific, σε καθαρό σάκο Tedlar χωρητικότητας 1L στον οποίο έχουμε εισάγει αέριο άζωτο. Έπειτα πραγματοποιείται μικροεκχύλιση στερεής φάσης (SPME) και ανάλυση στο όργανο GC-MS.

Ένωση	Χρονος έκλουσης (min)	Επιλεγμένα ιόντα (m/z)
Ακετόνη	3,06	43
Ισοπροπανόλη	3,25	45
Εξάνιο	4,51	57
1-προπανόλη	4,98	59
2-βουτανόνη	5,69	57,72
Κυκλοεξάνιο	6,74	56
Βενζόλιο	7,33	78,51
Θειοφαίνιο	7,68	58,84
1-βουτανόλη	8,54	55,57
Τολουόλιο	10,60	91
Οκτάνιο	10,81	43,85
Βουτυρικός αιθυλεστέρας	11,26	73,88
Εξανάλη	11,45	41,67
Αιθυλοβενζόλιο	12,10	91
Στυρόλιο	12,51	104
Κυκλοεξανόνη	12,81	55,98
Οκτανάλη	13,52	67,129
Εννεανάλη	14,22	67,81

Πίνακας 6. Οι πτητικές οργανικές ενώσεις που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης, οι χρόνοι κατακράτησής τους και τα επιλεγμένα ιόντα m/z

## 1.2. Πρωτόκολλο συλλογής και ανάλυσης πραγματικών δειγμάτων εκπνεόμενου αέρα

Τα δείγματα εκπνεόμενου αέρα καθώς και τα αποτελέσματα των σπιρομετρήσεων προέρχονται από την Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας. Οι εθελοντές κλήθηκαν να δώσουν δείγμα αέρα σε σάκο Tedlar καθώς και να υποβληθούν στη δοκιμή της σπιρομέτρησης την οποία πραγματοποιήθηκε από εξειδικευμένο προσωπικό της κλινικής. Επιπλέον συλλέχθηκαν και δείγματα του περιβάλλοντος αέρα για την εκάστοτε ημέρα δειγματοληψίας. Η ανάλυση των δειγμάτων πραγματοποιείται την ίδια μέρα με τη δειγματοληψία και ακολουθούν τα εξής βήματα:

- Έκθεση της ίνας στο σάκο με το εκάστοτε δείγμα για 25 λεπτά
- Εισαγωγή της ίνας στο όργανο GC-MS για 5 λεπτά
- Ανάλυση δείγματος συνολικής διάρκειας 18 λεπτών

Βάσει της καμπύλης βαθμονόμησης γίνεται η ποσοτικοποίηση των ενώσεων ενδιαφέροντος (βιοδείκτες) στις πληθυσμιακές ομάδες με το λογισμικό Xcalibur™. Όλα τα συλλεχθέντα δεδομένα και τα αποτελέσματα των αναλύσεων καταγράφηκαν σε βάσεις δεδομένων με τη χρήση του Microsoft Excel και επεξεργάστηκαν μέσω του προγράμματος S.P.S.S. Τελικός στόχος είναι η συσχέτιση των συγκεντρώσεων των VOCs στον εκπνεόμενο αέρα των εθελοντών με τις παραμέτρους της πνευμονικής λειτουργίας.

### **1.3 Μέθοδος στατιστικής επεξεργασίας αποτελεσμάτων**

Για την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων δημιουργήθηκε βάση δεδομένων όπου καταχωρήθηκαν τα αποτελέσματα των ερωτηματολογίων, των σπιρομετρήσεων, και των εργαστηριακών αναλύσεων για τον ποσοτικό προσδιορισμό των VOCs στην εκπνοή αλλά και στον περιβάλλον αέρα κατά την διάρκεια της δειγματοληψία. Εκτός από τις συγκεντρώσεις των VOCs υπολογίστηκαν οι κυψελιδικές κλίσεις και ο λόγος συγκέντρωσης εκπνοής/εισπνοής για κάθε ένωση και για κάθε συμμετέχοντα. Για την περιγραφική στατιστική ανάλυση παρουσιάζονται οι διάμεσες τιμές των συγκεντρώσεων μαζί με τις ελάχιστες και τις μέγιστες τιμές καθώς και το 25<sup>ο</sup> και το 75<sup>ο</sup> εκατοστημόριο. Για την ανίχνευση συσχετίσεων μεταξύ των μελετώμενων μεταβλητών υπολογίστηκαν οι συντελεστές συσχέτισης Spearman για κάθε ζεύγος μεταβλητών. Ως στατιστικώς σημαντικές θεωρήθηκαν οι συσχετίσεις με  $p < 0,05$ . Η γραφική απεικόνιση των σχέσεων πραγματοποιήθηκε με την χρήση διαγραμμάτων διασποράς. Η επεξεργασία των δεδομένων έγινε με τη χρήση των λογισμικών Microsoft excel και IBM SPSS v.26

## Κεφάλαιο 2<sup>ο</sup>: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ/ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### 2.1. Χαρακτηριστικά του υπό μελέτη πληθυσμού

Παράλληλα με τη λήψη των δειγμάτων εκπνεόμενου αέρα από τους εθελοντές συλλέχθηκαν πληροφορίες όπως το φύλο, η ηλικία, το βάρος, το ύψος κ.α (Πίνακας 2.1), καθώς και το ιατρικό ιστορικό των εθελοντών. Μελετήθηκαν δείγματα από 18 εθελοντές εκ των οποίων 8 ήταν γυναίκες και 10 ήταν άντρες, το εύρος της ηλικίας των ατόμων είναι από 32 έως 84 έτη με μέση τιμή δείκτη μάζας 28,7. Το 28% των εθελοντών δεν έχει καπνίσει ποτέ, το 33% είναι ενεργοί καπνιστές ενώ το 39% είναι πρώην καπνιστές. Από τους 18 εθελοντές δύο (2) άτομα έχουν διαγνωστεί με Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ) εκ των οποίων ένας (1) πάσχει από Χρόνια Βρογχίτιδα/Εμφύσημα. Δύο (2) εθελοντές είναι διαγνωσμένοι με Άσθμα, δύο (2) με Ιδιοπαθή Πνευμονική Ίνωση, ένας (1) με Σαρκοείδωση ενώ πέντε (5) πάσχουν από άλλη μη καθορισμένη πνευμονοπάθεια. Τέλος ένας (1) εκ των δύο εθελοντών με Ιδιοπαθή Πνευμονική Ίνωση παρουσιάζει καρκίνο του πνεύμονα.

Πίνακας 2.1. Δημογραφικά χαρακτηριστικά των εθελοντών					
	Minimum	25%	Median	75%	Maximum
Ηλικία (έτη)	32	48	58	67	84
Βάρος (kg)	55	66	85	90	140
Ύψος (m)	1,49	1,58	1,64	1,75	1,85
Δείκτης μάζας σώματος (BMI)	20,8	24,8	28,7	31,0	45,2

### 2.2. Συγκεντρώσεις ΠΟΕ στην εκπνοή των συμμετεχόντων

Στον Πίνακα 2.2 παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των ΠΟΕ που επιλέχθηκαν για ανάλυση (ακετόνη, ισοπροπανόλη, βενζόλιο, τολουόλιο, βουτυρικός αιθυλεστέρας, αιθυλοβενζόλιο και στυρόλιο) εκφρασμένες σε ng/L καθώς και η μέση τιμή των αντίστοιχων κυψελιδικών κλίσεων (dC) που υπολογίστηκαν αφαιρώντας τις συγκεντρώσεις στον περιβάλλοντα αέρα από τις συγκεντρώσεις του εκπνεόμενου αέρα. Συγκεκριμένα υπολογίστηκε και παρουσιάζεται η ελάχιστη (minimum) και μέγιστη (maximum) τιμή των συγκεντρώσεων, το 25% και 75% των τιμών καθώς και η διάμεσος τιμή (median) των συγκεντρώσεων κάθε ένωσης για το σύνολο του πληθυσμού.

Πίνακας 2.2. Συγκεντρώσεις των ΠΟΕ (ng/l) στον εκπνεόμενο αέρα και οι διάμεσες τιμές της κυψελιδικής κλίσης(dC).						
Ουσία	Minimum	25%	Median	75%	Maximum	Median(dC)
Ακετόνη	4725,564	6201,743	11788,063	15826,216	51399,399	11758,966
Ισοπροπανόλη	63,461	156,491	312,757	561,002	4670,967	-176,755
Βενζόλιο	0,502	1,092	2,206	4,389	33,796	-0,155
Τολουόλιο	3,730	5,640	9,567	16,379	55,451	0,627
Βουτυρικός Αιθυλεστέρας	0,326	3,470	6,350	45,214	136,511	1,274
Αιθυλοβενζόλιο	0,313	0,642	0,943	1,158	3,769	-0,668
Στυρόλιο	0,375	1,119	1,304	1,741	4,113	0,084

Όπως φαίνεται από τον πίνακα η ένωση με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση στον εκπνεόμενο αέρα είναι η ακετόνη η προέλευση της οποίας θεωρείται ενδογενής καθώς η τιμή της κυψελιδικής κλίσης (dC) δεν διαφέρει πολύ από τις συγκεντρώσεις στον εκπνεόμενο αέρα. Αντίθετα οι συγκεντρώσεις των υπόλοιπων ενώσεων φαίνεται να επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό από τον περιβάλλοντα αέρα. Συγκεκριμένα για την ισοπροπανόλη, το βενζόλιο και το αιθυλοβενζόλιο παρατηρείται κατά μέσο όρο, αρνητική κυψελιδική κλίση. Αυτό πρακτικά σημαίνει ότι οι συγκεντρώσεις των ενώσεων αυτών στον αέρα του περιβάλλοντος ήταν υψηλότερες από εκείνες της εκπνοής των εθελοντών. Η ισοπροπανόλη είναι μια ένωση που βρίσκεται σε αφθονία στον περιβάλλοντα αέρα των νοσοκομείων αφού είναι συστατικό πολλών αντισηπτικών προϊόντων γεγονός που δικαιολογεί τις αρνητικές τιμές της κυψελιδικής κλίσης. Επιπλέον το βενζόλιο και το αιθυλοβενζόλιο περιέχονται στον καπνό του τσιγάρου σε μεγάλα ποσοστά και η αρνητική τιμή της μέσης κυψελιδικής κλίσης για αυτές τις ενώσεις μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι το 33% των εθελοντών είναι ενεργοί καπνιστές.

### 2.3. Αποτελέσματα Σπυρομετρήσεων

Οι δοκιμές των σπυρομετρήσεων πραγματοποιήθηκαν στους εθελοντές έπειτα από τη λήψη κάθε δείγματος αέρα και κατά τη διάρκεια της ίδιας ημέρας. Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 2.3) παρουσιάζονται τα συνολικά αποτελέσματα των σπυρομετρήσεων που αφορούν το σύνολο των εθελοντών. Συγκεκριμένα παρουσιάζεται η ελάχιστη (minimum) και μέγιστη (maximum) τιμή των παραμέτρων, το 25% και 75% των τιμών καθώς και η διάμεσος τιμή (median).

Πίνακας 2.3 Αποτελέσματα σπυρομετρήσεων.					
Μετρήσεις	Minimum	25%	Median	75%	Maximum
FEV1 (L)	0,41	1,67	2,01	3,70	4,26
FVC (L)	0,82	2,17	2,69	4,52	5,20
FEV1/FVC	0,5	0,74	0,81	0,85	0,96
FEF25%-75% (L/s)	0,69	1,11	1,24	1,52	6,71
TV(L)	0,44	0,74	0,85	1,04	1,90
IRV (L)	0,40	0,42	0,70	1,01	3,12
ERV(L)	0,10	0,60	1,03	1,38	2,65
RV(L)	0,90	1,31	1,54	1,88	2,80
IC(L)	0,14	1,43	1,71	2,79	4,39
FRC(L)	1,01	1,77	2,35	3,22	4,36
VC(L)	0,79	1,95	2,51	4,54	5,00
TLC(L)	2,07	3,25	4,30	5,83	7,76
RV/TLC	0,23	0,30	0,36	0,43	0,52
DLCO (ml/min/mmHg) ml/min/mm Hg	2,14	3,58	4,64	9,30	11,36
DLCO/VA (ml/min/mmHg/L)	0,61	1,18	1,36	1,55	1,90

Όπως φαίνεται στον πίνακα οι τιμές της FEV1 και FVC των 18 εθελοντών παρουσιάζουν εύρος τιμών από 0,41 έως 4,25 και 0,82 έως 5,20 L αντίστοιχα. Συγκεκριμένα ο μέσος όρος του πληθυσμού παρουσιάζει φυσιολογικές τιμές FEV1 και FVC (>80%) με εξαίρεση ένα μικρό ποσοστό (< 25%) που παρουσιάζει χαμηλότερες τιμές και αφορά τα άτομα με αναπνευστικά προβλήματα.

Η τιμή της μέγιστης μεσοεκπνευστικής ροής (FEF25%-75%), της εισπνευστικής υπολειπόμενης χωρητικότητας (IRV) και της διαχυτικής αναπνευστικής ικανότητας DLCO - DLCO/VA είναι κατά μέσο όρο κάτω από τα φυσιολογικά όρια. Ωστόσο μεμονωμένα αυτές οι παράμετροι δεν μπορούν να μας οδηγήσουν σε κάποιο συμπέρασμα για το σύνολο του πληθυσμού των εθελοντών καθώς χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση, λαμβάνοντας υπόψη και άλλες παραμέτρους. Πέρα από τις προαναφερόμενες παραμέτρους δεν φαίνεται να αποκλίνει κάποια άλλη παράμετρος από τα φυσιολογικά όρια.

#### 2.4. Αποτελέσματα ανάλυσης για τον προσδιορισμό συσχετίσεων μεταξύ επιπέδων ΠΟΕ και παραμέτρων σπυρομέτρησης.

Από τη στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων προέκυψαν συσχετίσεις των αποτελεσμάτων της ενόργανης ανάλυσης του εκπνεόμενου αέρα με τις παραμέτρους των σπυρομετρήσεων (FEV1, FVC, ERV, RV, FRC και TLC) των ασθενών. Παρακάτω παρουσιάζονται οι συσχετίσεις με τις αντίστοιχες τιμές των συντελεστών συσχέτισης (R) και στατιστικής σημαντικότητας (P-Value).



Συσχετίσεις των αποτελεσμάτων ανάλυσης ΠΟΕ στον εκπνεόμενο αέρα με τον βιαίως εκπνεόμενο όγκο σε 1s (Forced Expiratory Volume in 1s, FEV1)

Πίνακας 2.4: Συσχετίσεις συγκεντρώσεων ΠΟΕ με τη μέτρηση FEV1		
ΠΟΕ	Μέτρηση FEV1	
	Συντελεστής συσχέτισης (R) Spearman	P-Value
Ακετόνη	-0,637	0,004
Ισοπροπανόλη	0,197	0,433
Βενζόλιο	-0,059	0,817
Τολουόλιο	0,005	0,984
Βουτυρικός Αιθυλεστέρας	0,117	0,645
Αιθυλοβενζόλιο	0,108	0,669
Στυρόλιο	-0,340	0,168

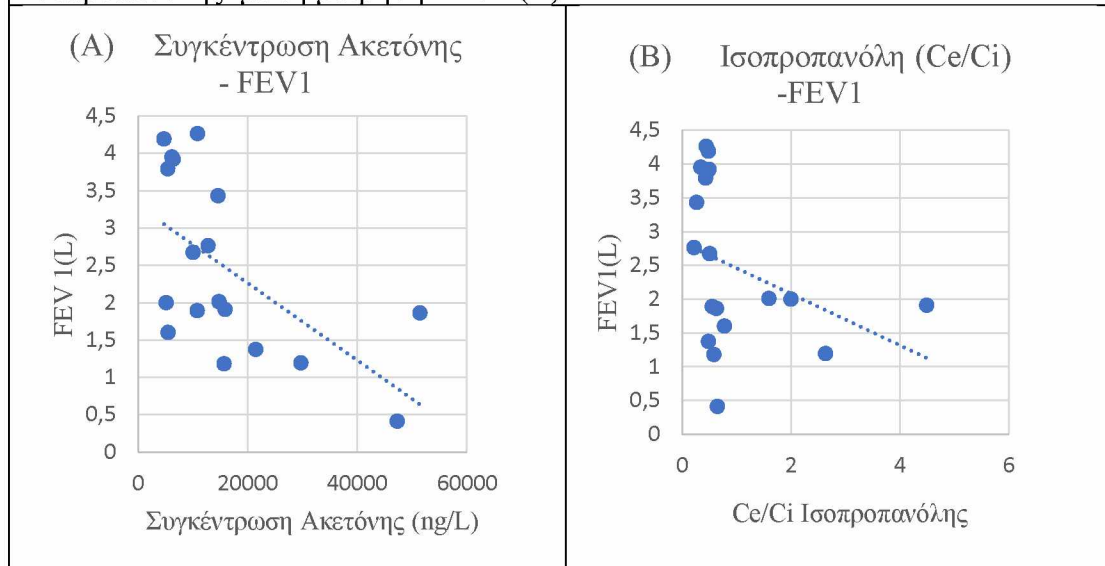
Στον Πίνακα 2.4 φαίνεται ότι συσχετίστηκε αρνητικά με τη μέτρηση FEV1 η συγκέντρωση της ακετόνης με σχετικά υψηλή στατιστική σημαντικότητα (P-Value= 0,004). Αυτό πρακτικά σημαίνει ότι όσο αυξάνεται η τιμή της FEV1 τόσο μειώνεται η συγκέντρωση της ακετόνης στον εκπνεόμενο αέρα. Η παράμετρος FEV1 είναι μια από τις πιο σημαντικές παραμέτρους της σπυρομέτρησης και ισχυρός δείκτης της φυσιολογικής αναπνευστικής λειτουργίας. Μείωση της FEV1 υποδεικνύει συνήθως μειωμένη αναπνευστική ικανότητα και την ύπαρξη αποφρακτικής πνευμονοπάθειας, επομένως η αυξημένη συγκέντρωση ακετόνης στον εκπνεόμενο αέρα θα μπορούσε να είναι πιθανός δείκτης μη φυσιολογικής αναπνευστικής λειτουργίας. Εκτός από την ακετόνη οι υπόλοιπες ενώσεις δεν φαίνεται να συσχετίζονται με τη μέτρηση FEV1. Το ίδιο βλέπουμε να συμβαίνει όσο αφορά τις κυψελιδικές κλίσεις των ΠΟΕ όταν αυτές συσχετίζονται με τη μέτρηση FEV1. (Παράρτημα, Πίνακας 1)

Στον Πίνακα 2.5 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των συσχετίσεων του λόγου συγκέντρωσης στην εκπνοή ( $C_e$ ) προς συγκέντρωση εισπνοής ( $C_i$ ) των ΠΟΕ με τη μέτρηση FEV1.

Πίνακας 2.5: Συσχετίσεις του λόγου ( $C_e/C_i$ ) των ΠΟΕ με τη μέτρηση FEV1		
ΠΟΕ	Μέτρηση FEV1	
	Συντελεστής συσχέτισης (R) Spearman	P-Value
Ακετόνη	-0,521	0,027
Ισοπροπανόλη	-0,635	0,005
Βενζόλιο	0,325	0,188
Τολουόλιο	0,226	0,367
Βουτυρικός Αιθυλεστέρας	-0,209	0,404
Αιθυλοβενζόλιο	0,340	0,168
Στυρόλιο	0,430	0,075

Όπως φαίνεται στον παραπάνω πίνακα, ο λόγος της συγκέντρωσης της ισοπροπανόλης στον εκπνεόμενο αέρα προς τη συγκέντρωση στον περιβάλλοντα αέρα ( $C_e/C_i$ ) παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση ( $R < 0$ ) με τη μέτρηση FEV1 με στατιστική σημαντικότητα ( $P\text{-Value} = 0,005$ ), δηλαδή όταν η συγκέντρωση της ισοπροπανόλης στον εκπνεόμενο αέρα αυξάνεται σε σχέση με την συγκέντρωσή της στον περιβάλλοντα αέρα τότε η τιμή της FEV1 μειώνεται. Όταν η τιμή της FEV1 μειώνεται τότε η αύξηση του λόγου ( $C_e/C_i$ ) της ισοπροπανόλης μπορεί να οφείλεται σε αδυναμία του αναπνευστικού συστήματος να αποβάλλει εξολοκλήρου την ποσότητα ισοπροπανόλης που έχει εισπνευσθεί από το περιβάλλον.

Πίνακας 2.6: Διαγραμματική απεικόνιση της σχέσης συγκέντρωσης ακετόνης στον εκπνεόμενο αέρα με τη μέτρηση FVC (A) και της σχέσης Ce/Ci της Ισοπροπανόλης με τη μέτρηση FEV1 (B)



Οι παραπάνω συσχετίσεις φαίνονται και από την αρνητική κλίση της γραμμής τάσης στα διαγράμματα διασποράς της συγκέντρωσης της ακετόνης στα δείγματα του εκπνεόμενου αέρα (άξονας x) σε σχέση με τη μέτρηση FEV1 (άξονας y) (Πίνακας 2.6A) και του λόγου της συγκέντρωσης της ισοπροπανόλης στον εκπνεόμενο αέρα προς τη συγκέντρωση στον περιβάλλοντα αέρα (Ce/Ci) σε σχέση με τη μέτρηση FEV1 αντίστοιχα (Πίνακας 2.6B).

Συσχετίσεις των αποτελεσμάτων ανάλυσης ΠΟΕ στον εκπνεόμενο αέρα με τη βιαίως εκπνεόμενη ζωτική χωρητικότητα (Forced Vital Capacity, FVC)

Πίνακας 2.7: Συσχετίσεις συγκεντρώσεων ΠΟΕ με τη μέτρηση FVC		
ΠΟΕ	Μέτρηση FVC	
	Συντελεστής συσχέτισης (R) Spearman	P-Value
Ακετόνη	-0,571	0,013
Ισοπροπανόλη	0,119	0,639
Βενζόλιο	-0,024	0,926
Τολουόλιο	0,057	0,823
Βουτυρικός Αιθυλεστέρας	0,131	0,604
Αιθυλοβενζόλιο	0,141	0,576
Στυρόλιο	-0,329	0,182

Στον Πίνακα 2.7 παρατηρούμε ότι καμία από τις συγκεντρώσεις των ΠΟΕ δεν παρουσιάζει σημαντική συσχέτιση με τη βιαίως εκπνεόμενη ζωτική χωρητικότητα (FVC). Ωστόσο παρατηρείται ότι η ακετόνη παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση ( $R < 0$ ) με την παράμετρο FVC, με μεγαλύτερη στατιστική σημαντικότητα από τις άλλες ενώσεις ( $P\text{-Value} = 0,013$ ).

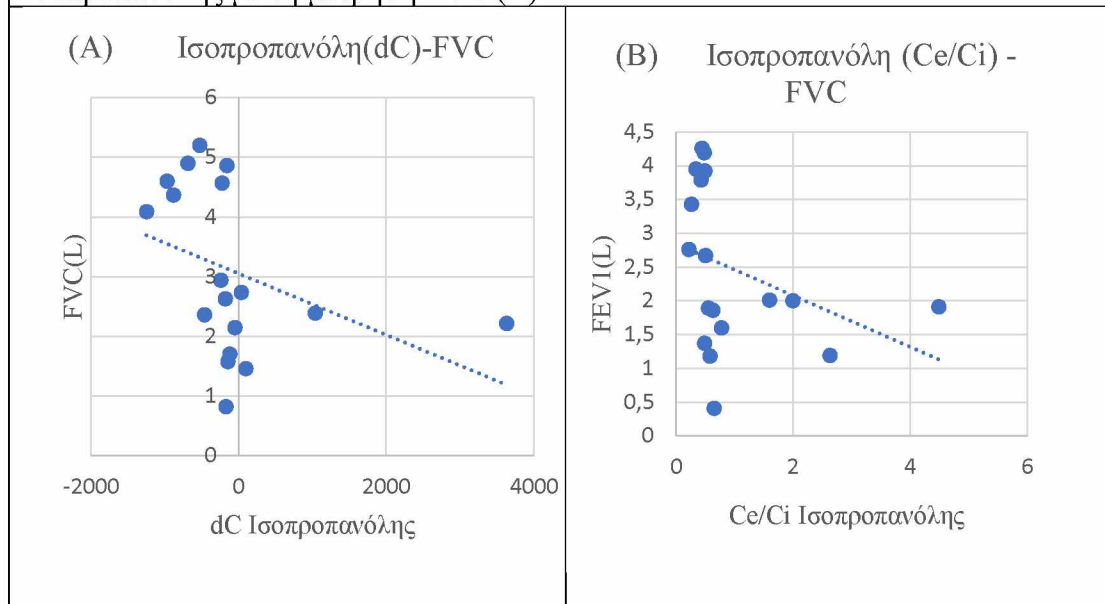
Πίνακας 2.8: Συσχετίσεις κυμελιδικής κλίσης (dC) των ΠΟΕ με τη μέτρηση FVC		
ΠΟΕ	Μέτρηση FVC	
	Συντελεστής συσχέτισης (R) Spearman	P-Value
Ακετόνη	-0,571	0,013
Ισοπροπανόλη	-0,626	0,005
Βενζόλιο	0,331	0,179
Τολουόλιο	0,335	0,174
Βουτυρικός Αιθυλεστέρας	-0,181	0,473
Αιθυλοβενζόλιο	0,164	0,515
Στυρόλιο	0,282	0,257

Στον Πίνακα 2.8 φαίνεται πως η κυψελιδική κλίση της ισοπροπανόλης (dC) συσχετίζεται σημαντικά με τη μέτρηση της βιαίως εκπνεόμενης ζωτικής χωρητικότητας (FVC). Συγκεκριμένα η κυψελιδική κλίση εμφανίζει αρνητική συσχέτιση ( $R < 0$ ) με στατιστική σημαντικότητα ( $P\text{-value} = 0,005$ ), δηλαδή όσο αυξάνεται η τιμή dC της ισοπροπανόλης τόσο μειώνεται η βιαίως εκπνεόμενη ζωτική χωρητικότητα (FVC). Όπως και στην περίπτωση του του βιαίως εκπνεόμενου όγκου σε 1s (FEV1), μειωμένη τιμή της FVC μπορεί να αντανακλά δυσλειτουργία του αναπνευστικού συστήματος και την ύπαρξη αποφρακτικής πνευμονοπάθειας, επομένως η αυξημένη τιμή της κυψελιδικής κλίσης της ισοπροπανόλης θα μπορούσε να είναι πιθανός δείκτης μη φυσιολογικής αναπνευστικής λειτουργίας. Οι υπόλοιπες ενώσεις δεν να συσχετίζονται ισχυρά με τη μέτρηση FVC.

Πίνακας 2.9: Συσχετίσεις του λόγου ( $C_e/C_i$ ) των ΠΟΕ με τη μέτρηση FVC		
ΠΟΕ	Μέτρηση FVC	
	Συντελεστής συσχέτισης (R) Spearman	P-Value
Ακετόνη	-0,432	0,073
Ισοπροπανόλη	-0,678	0,002
Βενζόλιο	0,393	0,106
Τολουόλιο	0,240	0,336
Βουτυρικός Αιθυλεστέρας	-0,209	0,404
Αιθυλοβενζόλιο	0,319	0,197
Στυρόλιο	0,348	0,157

Όπως φαίνεται στον παραπάνω πίνακα, ο λόγος της συγκέντρωσης της ισοπροπανόλης στον εκπνεόμενο αέρα προς τη συγκέντρωση στον περιβάλλοντα αέρα ( $C_e/C_i$ ) παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση ( $R < 0$ ) με τη μέτρηση FVC με υψηλή στατιστική σημαντικότητα ( $P\text{-Value} = 0,002$ ), δηλαδή όταν η τιμή της FVC μειώνεται η συγκέντρωση της ισοπροπανόλης στον εκπνεόμενο αέρα αυξάνεται σε σχέση με την συγκέντρωσή της στον περιβάλλοντα αέρα. Η προέλευση της ισοπροπανόλης στον εκπνεόμενο αέρα θεωρείται εξωγενής και όπως αναφέρθηκε παραπάνω, βρέθηκε να περιέχεται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στον περιβάλλοντα αέρα απότι στον εκπνεόμενο αέρα. Όταν η τιμή της FVC μειώνεται τότε η αύξηση του λόγου ( $C_e/C_i$ ) της ισοπροπανόλης μπορεί να οφείλεται σε αδυναμία του αναπνευστικού συστήματος να αποβάλλει εξολοκλήρου την ποσότητα ισοπροπανόλης που έχει εισπνευθεί από το περιβάλλον. Οι υπόλοιπες ενώσεις δεν φαίνεται να συσχετίζονται ισχυρά με τη μέτρηση FVC.

Πίνακας 2.10: Διαγραμματική απεικόνιση της σχέσης της κυψελιδικής κλίσης (dC) της ισοπροπανόλης με τη μέτρηση FVC (A) και της σχέσης του λόγου Ce/Ci της Ισοπροπανόλης με τη μέτρηση FVC (B)



Οι παραπάνω συσχετίσεις φαίνονται και από την αρνητική κλίση της γραμμής τάσης στα διαγράμματα διασποράς της της κυψελιδικής κλίσης της ισοπροπανόλης (άξονας x) σε σχέση με τη μέτρηση FVC (άξονας y) (Πίνακας 2.10A) και του λόγου της συγκέντρωσης της ισοπροπανόλης στον εκπνεόμενο αέρα προς τη συγκέντρωση στον περιβάλλοντα αέρα (Ce/Ci) σε σχέση με τη μέτρηση FEV1 αντίστοιχα(Πίνακας 2.10B).

Συσχετίσεις των αποτελεσμάτων ανάλυσης ΠΟΕ στον εκπνεόμενο αέρα με τον Εκπνευστικό εφεδρικό όγκο (Expiratory Reserverd Volume, ERV)

Στα αποτελέσματα της συσχέτισης των συγκεντρώσεων των ΠΟΕ (Παράρτημα ,Πίνακας 2) με τη μέτρηση ERV, παρατηρούμε ότι καμία από τις συγκεντρώσεις των ΠΟΕ δεν παρουσιάζει σημαντική συσχέτιση με τον Εκπνευστικό εφεδρικό όγκο (ERV).

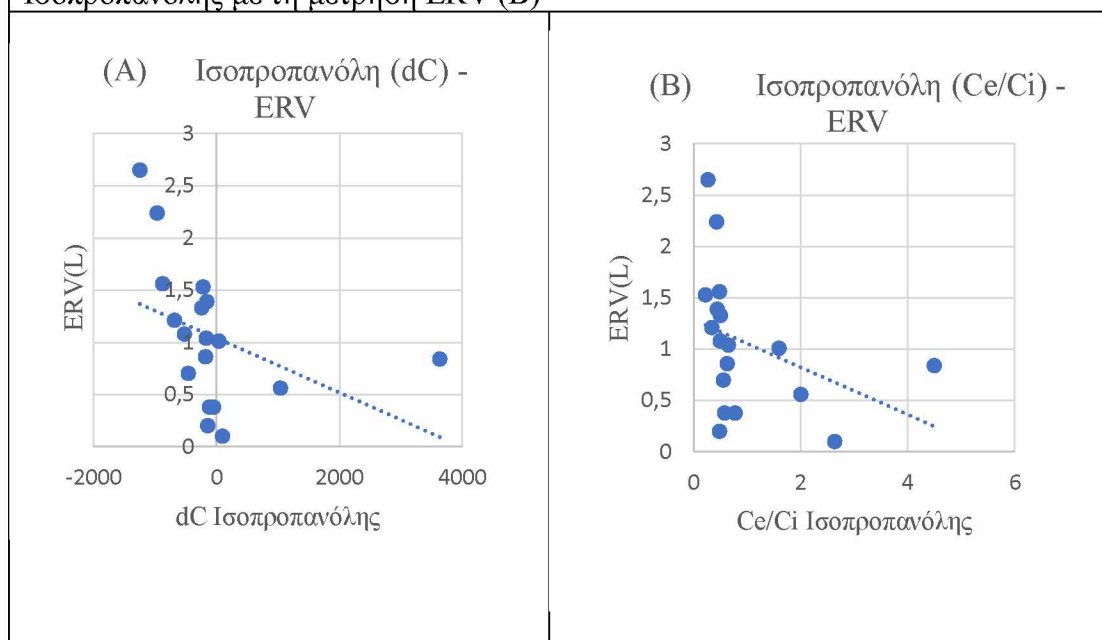
Πίνακας 2.11: Συσχετίσεις κυψελιδικής κλίσης (dC) των ΠΟΕ με τη μέτρηση ERV		
ΠΟΕ	Μέτρηση ERV	
	Συντελεστής συσχέτισης (R) Spearman	P-Value
Ακετόνη	-0,377	0,122
Ισοπροπανόλη	-0,760	<0,0001
Βενζόλιο	0,531	0,023
Τολουόλιο	0,573	0,013
Βουτυρικός Αιθυλεστέρας	0,139	0,581
Αιθυλοβενζόλιο	0,368	0,133
Στυρόλιο	0,204	0,416

Στον Πίνακα 2.11 παρατηρούμε πως η κυψελιδική κλίση της ισοπροπανόλης (dC) συσχετίζεται ισχυρά με τη μέτρηση του Εκπνευστικού εφεδρικού όγκου (ERV). Συγκεκριμένα η κυψελιδική κλίση εμφανίζει αρνητική συσχέτιση ( $R < 0$ ) με στατιστική σημαντικότητα  $P\text{-value} < 0,0001$  δηλαδή όσο μειώνονται οι τιμές των μετρήσεων (ERV) παρατηρείται η ανάλογη αύξηση στις τιμές της κυψελιδικής κλίσης (dC) της ισοπροπανόλης.

Πίνακας 2.12: Συσχετίσεις του λόγου ( $C_e/C_i$ ) των ΠΟΕ με τη μέτρηση ERV		
ΠΟΕ	Μέτρηση ERV	
	Συντελεστής συσχέτισης (R) Spearman	P-Value
Ακετόνη	-0,337	0,171
Ισοπροπανόλη	-0,729	0,001
Βενζόλιο	0,600	0,008
Τολουόλιο	0,528	0,024
Βουτυρικός Αιθυλεστέρας	0,000	1,000
Αιθυλοβενζόλιο	0,511	0,030
Στυρόλιο	0,345	0,161

Στον Πίνακα 2.12 παρατηρούμε ότι, ο λόγος της συγκέντρωσης της ισοπροπανόλης στον εκπνεόμενο αέρα προς τη συγκέντρωση στον περιβάλλοντα αέρα ( $C_e/C_i$ ) παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση ( $R < 0$ ) με τη μέτρηση ERV με στατιστική σημαντικότητα ( $P\text{-Value} = 0,001$ ). Για να θεωρηθεί απόλυτη αυτή η συσχέτιση και να εξαχθούν ακριβή συμπεράσματα απαιτείται μεγαλύτερος αριθμός εθελοντών καθώς και να ληφθούν υπόψη και άλλες παράμετροι που μπορεί να επηρεάζουν τη τιμή ERV (π.χ δείκτης μάζας σώματος, ηλικία, ύψος κ.α) στον υπό μελέτη πληθυσμό. Οι υπόλοιπες ενώσεις δε φαίνεται να συσχετίζονται σημαντικά με τις τιμές ERV.

Πίνακας 2.13 Διαγραμματική απεικόνιση της σχέσης της κυψελιδικής κλίσης ( $dC$ ) της ισοπροπανόλης με τη μέτρηση ERV(A) και της σχέσης του λόγου  $C_e/C_i$  της Ισοπροπανόλης με τη μέτρηση ERV (B)



Οι παραπάνω συσχετίσεις φαίνονται και από την αρνητική κλίση της γραμμής τάσης στα διαγράμματα διασποράς της της κυψελιδικής κλίσης της ισοπροπανόλης (άξονας x) σε σχέση με τη μέτρηση ERV (άξονας y) (Πίνακας 2.13A) και του λόγου της συγκέντρωσης της ισοπροπανόλης στον εκπνεόμενο αέρα προς τη συγκέντρωση στον περιβάλλοντα αέρα ( $C_e/C_i$ ) σε σχέση με τη μέτρηση ERV αντίστοιχα(Πίνακας 2.13B).

Συσχετίσεις των αποτελεσμάτων ανάλυσης ΠΟΕ στον εκπνεόμενο αέρα με τον Υπολειπόμενο Όγκο (Residual Volume, RV)

Στα αποτελέσματα της συσχέτισης των συγκεντρώσεων των ΠΟΕ (Παράρτημα ,Πίνακας 3) με τη μέτρηση RV, παρατηρούμε ότι καμία από τις συγκεντρώσεις των ΠΟΕ δεν παρουσιάζει σημαντική συσχέτιση με τον Υπολειπόμενο όγκο (RV).

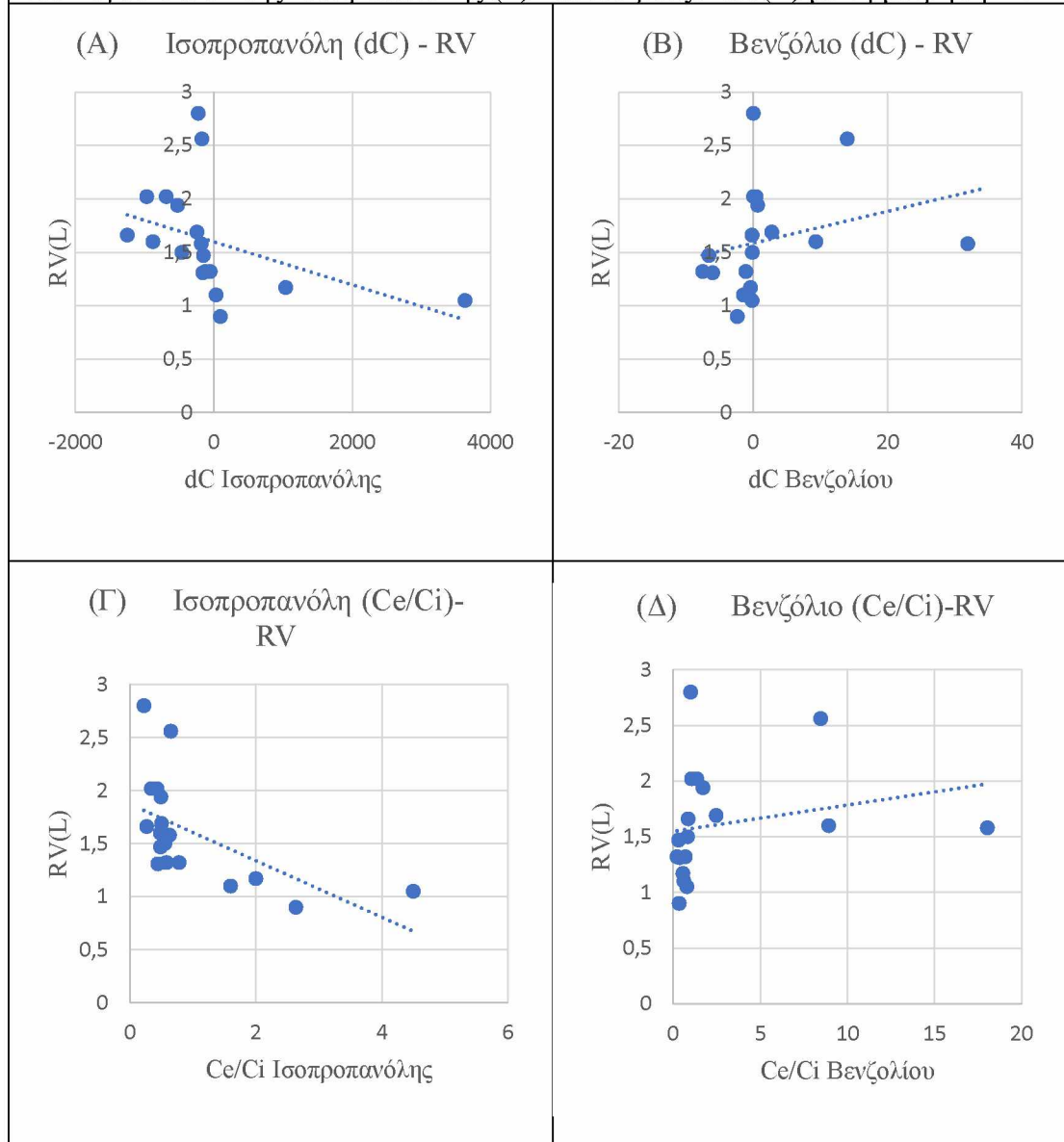


Πίνακας 2.14: Συσχετίσεις κυψελιδικής κλίσης (dC) των ΠΟΕ με τη μέτρηση RV		
ΠΟΕ	Μέτρηση RV	
	Συντελεστής συσχέτισης (R) Spearman	P-Value
Ακετόνη	-0,202	0,420
Ισοπροπανόλη	-0,777	<0,0001
Βενζόλιο	0,691	0,001
Τολουόλιο	0,387	0,112
Βουτυρικός Αιθυλεστέρας	0,127	0,615
Αιθυλοβενζόλιο	0,171	0,496
Στυρόλιο	0,007	0,977

Στον Πίνακα 2.14 φαίνεται ότι υπάρχει αρνητική συσχέτιση ( $R < 0$ ) της κυψελιδικής κλίσης της ισοπροπανόλης (dC) με τον υπολειπόμενο όγκο (RV) με P-Value <0,0001. Αντίθετα φαίνεται πως η κυψελιδική κλίση του βενζολίου εμφανίζει σημαντική θετική συσχέτιση ( $R > 0$ ) με τον υπολειπόμενο όγκο (RV) με P-Value=0,001. Το βενζόλιο είναι άμεσα συνδεδεμένο με την καπνιστική δραστηριότητα των εθελοντών αφού περιέχεται στον καπνό του τσιγάρου, ταυτόχρονα όσο αυξάνεται η τιμή του υπολειπόμενου όγκου (RV) αυξάνεται και η πιθανότητα ο ασθενής να πάσχει από αποφρακτική πνευμονοπάθεια. Στα πλαίσια αυτών των υποθέσεων θα μπορούσε να δικαιολογηθεί η θετική συσχέτιση της (dC) του βενζολίου με τον RV. Σε κάθε περίπτωση απαιτείται έρευνα με μεγαλύτερο αριθμό εθελοντών για να θεωρηθούν οι συσχετίσεις απόλυτες.

Πίνακας 2.15: Συσχετίσεις του λόγου ( $C_e/C_i$ ) των ΠΟΕ με τη μέτρηση RV		
ΠΟΕ	Μέτρηση RV	
	Συντελεστής συσχέτισης (R) Spearman	P-Value
Ακετόνη	-0,123	0,624
Ισοπροπανόλη	-0,708	0,001
Βενζόλιο	0,696	0,001
Τολουόλιο	0,334	0,174
Βουτυρικός Αιθυλεστέρας	-0,032	0,899
Αιθυλοβενζόλιο	0,401	0,098
Στυρόλιο	0,101	0,689

Πίνακας 2.16. Διαγραμματική απεικόνιση της σχέσης της κυψελιδικής κλίσης (dC) της ισοπροπανόλης (Α) και του βενζολίου (Β) με τη μέτρηση RV και της σχέσης του λόγου Ce/Ci της Ισοπροπανόλης (Γ) και του βενζολίου(Δ) με τη μέτρηση RV



Οι παραπάνω συσχετίσεις για την ισοπροπανόλη φαίνονται και από την αρνητική κλίση της γραμμής τάσης στα παρακάτω διαγράμματα διασποράς της κυψελιδικής κλίσης της ισοπροπανόλης (άξονας x) σε σχέση με τη μέτρηση RV (άξονας y) (Πίνακας 2.16Α) και του λόγου της συγκέντρωσης της ισοπροπανόλης στον εκπνεόμενο αέρα προς τη συγκέντρωση στον περιβάλλοντα αέρα (Ce/Ci) σε σχέση με τη μέτρηση RV αντίστοιχα (Πίνακας 2.16Γ). Επίσης για το βενζόλιο παρατηρούνται οι θετικές συσχετίσεις (θετική κλίση γραμμής τάσης), στα διαγράμματα διασποράς της κυψελιδικής κλίσης (άξονας x) σε σχέση με τη μέτρηση RV (άξονας y) (Πίνακας 2.16Β) και του λόγου της συγκέντρωσης βενζολίου στον εκπνεόμενο αέρα προς τη συγκέντρωση στον περιβάλλοντα αέρα (Ce/Ci) σε σχέση με τη μέτρηση RV αντίστοιχα(Πίνακας 2.16Δ).

Συσχετίσεις των αποτελεσμάτων ανάλυσης ΠΟΕ στον εκπνεόμενο αέρα με την

Στα αποτελέσματα της συσχέτισης των συγκεντρώσεων των ΠΟΕ (Παράρτημα ,Πίνακας 4) με τη μέτρηση FRC, παρατηρούμε ότι καμία από τις συγκεντρώσεις των ΠΟΕ δεν παρουσιάζει σημαντική συσχέτιση με τη Λειτουργική Υπολειπόμενη Χωρητικότητα (Functional Residual Capacity, FRC)

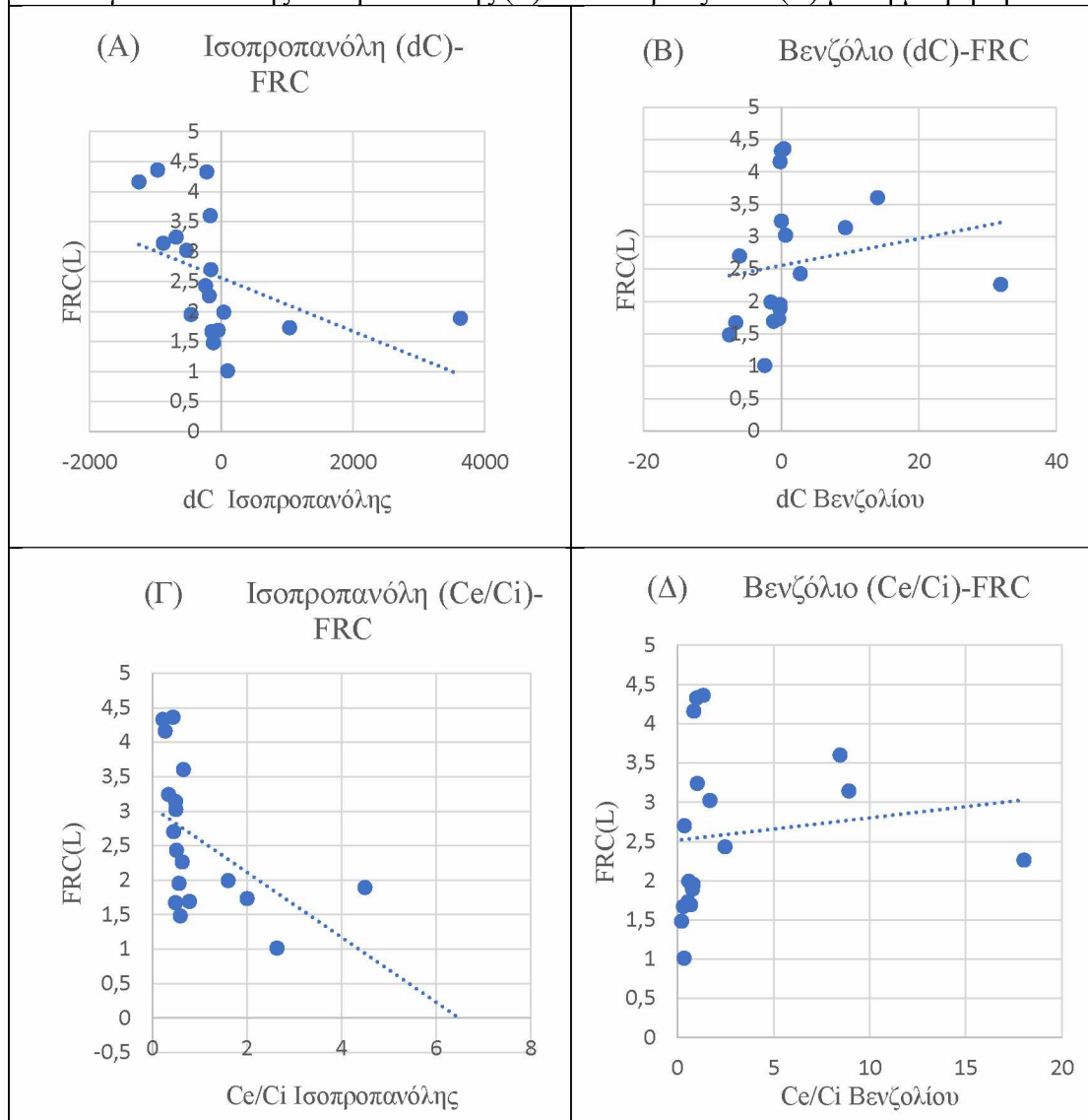
ΠΟΕ	Μέτρηση FRC	
	Συντελεστής συσχέτισης (R) Spearman	P-Value
Ακετόνη	-0,277	0,264
Ισοπροπανόλη	-0,765	<0,0003
Βενζόλιο	0,647	0,0037
Τολουόλιο	0,595	0,009
Βουτυρικός Αιθυλεστέρας	0,155	0,536
Αιθυλοβενζόλιο	0,409	0,0913
Στυρόλιο	0,170	0,499

Στον Πίνακα 2.17 φαίνεται ότι η κυψελιδική κλίση της ισοπροπανόλης (dC) συσχετίζεται αρνητικά ( $R < 0$ ) με τη λειτουργική υπολειπόμενη χωρητικότητα (FRC) με  $P\text{-value} < 0,0003$ . Επιπλέον φαίνεται πως η κυψελιδική κλίση του βενζολίου παρουσιάζει σημαντική θετική συσχέτιση ( $R > 0$ ) με τη λειτουργική υπολειπόμενη χωρητικότητα (FRC) με  $P\text{-Value} = 0,0037$ .

ΠΟΕ	Μέτρηση FRC	
	Συντελεστής συσχέτισης (R) Spearman	P-Value
Ακετόνη	-0,267	0,283
Ισοπροπανόλη	-0,713	<0,0007
Βενζόλιο	0,686	<0,002
Τολουόλιο	0,523	0,025
Βουτυρικός Αιθυλεστέρας	0,027	0,912
Αιθυλοβενζόλιο	0,540	0,020
Στυρόλιο	0,304	0,219

Όπως φαίνεται στον παραπάνω πίνακα (Πίνακας 2.18) ο λόγος της συγκέντρωσης της ισοπροπανόλης στον εκπνεόμενο αέρα προς τη συγκέντρωση στον περιβάλλοντα αέρα ( $C_e/C_i$ ) παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση ( $R < 0$ ) με τη μέτρηση FRC με υψηλή στατιστική σημαντικότητα ( $P\text{-Value} < 0,0007$ ), δηλαδή όταν η τιμή της FRC μειώνεται η συγκέντρωση της ισοπροπανόλης στον εκπνεόμενο αέρα αυξάνεται σε σχέση με την συγκέντρωση της στον περιβάλλοντα αέρα. Επιπλέον παρατηρείται επίσης σημαντική, θετική συσχέτιση του λόγου ( $C_e/C_i$ ) για το βενζόλιο, με τη μέτρηση FRC με  $P\text{-Value} < 0,002$ .

Πίνακας 2.19. Διαγραμματική απεικόνιση της σχέσης της κυψελδικής κλίσης (dC) της ισοπροπανόλης (A) και του βενζολίου (B) με τη μέτρηση FRC και της σχέσης του λόγου  $C_e/C_i$  της Ισοπροπανόλης (Γ) και του βενζολίου(Δ) με τη μέτρηση FRC



Οι παραπάνω συσχετίσεις για την ισοπροπανόλη φαίνονται και από την αρνητική κλίση της γραμμής τάσης στα παρακάτω διαγράμματα διασποράς της κυψελδικής κλίσης της ισοπροπανόλης (άξονας x) σε σχέση με τη μέτρηση FRC (άξονας y) (Πίνακας 2.19A) και του λόγου της συγκέντρωσης της ισοπροπανόλης στον εκπνεόμενο αέρα προς τη συγκέντρωση στον περιβάλλοντα αέρα ( $C_e/C_i$ ) σε σχέση με

τη μέτρηση FRC αντίστοιχα (Πίνακας 2.19Γ). Επίσης για το βενζόλιο παρατηρούνται οι θετικές συσχετίσεις (θετική κλίση γραμμής τάσης), στα διαγράμματα διασποράς της κυψελιδικής κλίσης (άξονας x) σε σχέση με τη μέτρηση FRC (άξονας y) (Πίνακας 2.19B) και του λόγου της συγκέντρωσης βενζολίου στον εκπνεόμενο αέρα προς τη συγκέντρωση στον περιβάλλοντα αέρα (Ce/Ci) σε σχέση με τη μέτρηση FRC αντίστοιχα (Πίνακας 2.19Δ).

Συσχετίσεις των αποτελεσμάτων ανάλυσης ΠΟΕ στον εκπνεόμενο αέρα με την Ολική Πνευμονική Χωρητικότητα (Total Lung Capacity, TLC)

Στα αποτελέσματα της συσχέτισης των συγκεντρώσεων των ΠΟΕ (Παράρτημα ,Πίνακας 5) με τη μέτρηση TLC, παρατηρούμε ότι καμία από τις συγκεντρώσεις των ΠΟΕ δεν παρουσιάζει συσχέτιση με την Ολική Πνευμονική Χωρητικότητα (TLC).

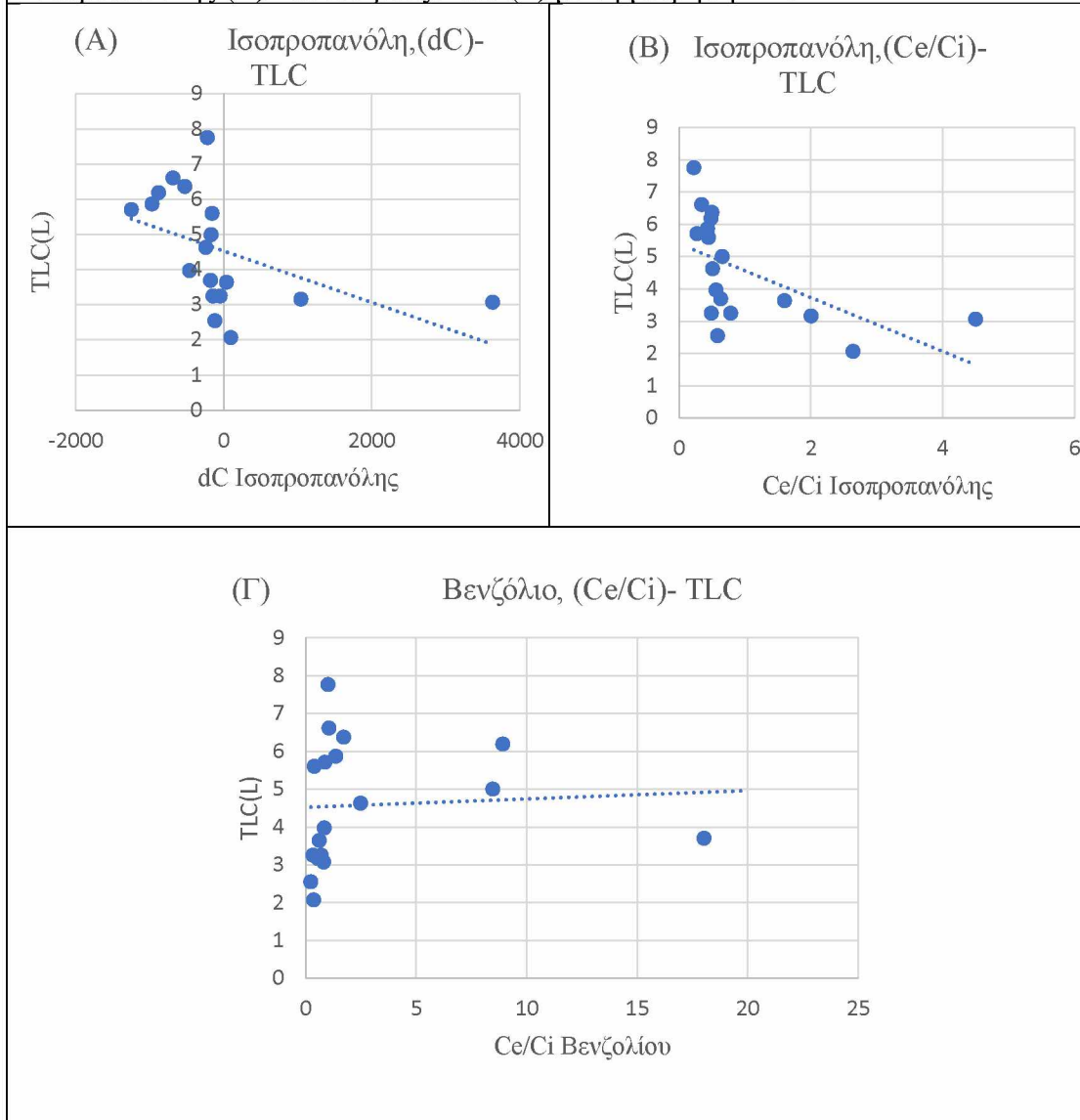
Πίνακας 2.20: Συσχετίσεις κυψελιδικής κλίσης (dC) των ΠΟΕ με τη μέτρηση TLC		
ΠΟΕ	Μέτρηση TLC	
	Συντελεστής συσχέτισης (R) Spearman	P-Value
Ακετόνη	-0,417	0,0850
Ισοπροπανόλη	-0,819	<0,0001
Βενζόλιο	0,588	0,010
Τολουόλιο	0,460	0,0544
Βουτυρικός Αιθυλεστέρας	0,039	0,877
Αιθυλοβενζόλιο	0,259	0,299
Στυρόλιο	0,170	0,499

Στον Πίνακα 2.20 φαίνεται ότι από τις ενώσεις μόνο η κυψελιδική κλίση της ισοπροπανόλης (dC) συσχετίζεται και μάλιστα ,αρνητικά (R<0) με την Ολική Πνευμονική Χωρητικότητα (TLC) με P-value<0,0001.

Πίνακας 2.21: Συσχετίσεις του λόγου ( $C_e/C_i$ ) των ΠΟΕ με τη μέτρηση TLC		
ΠΟΕ	Μέτρηση TLC	
	Συντελεστής συσχέτισης (R) Spearman	P-Value
Ακετόνη	-0,303	0,220
Ισοπροπανόλη	-0,824	<0,0001
Βενζόλιο	0,636	0,004
Τολουόλιο	0,383	0,116
Βουτυρικός Αιθυλεστέρας	-0,050	0,841
Αιθυλοβενζόλιο	0,464	0,052
Στυρόλιο	0,271	0,275

Όπως φαίνεται στον παραπάνω πίνακα (Πίνακας 2.21) ο λόγος της συγκέντρωσης της ισοπροπανόλης στον εκπνεόμενο αέρα προς τη συγκέντρωση στον περιβάλλοντα αέρα ( $C_e/C_i$ ) παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση ( $R < 0$ ) με τη μέτρηση TLC ,με υψηλή στατιστική σημαντικότητα ( $P\text{-Value} < 0,0001$ ). Αυτό σημαίνει ότι, όταν η τιμή της TLC μειώνεται η συγκέντρωση της ισοπροπανόλης στον εκπνεόμενο αέρα αυξάνεται σε σχέση με την συγκέντρωσή της στον περιβάλλοντα αέρα. Επιπλέον παρατηρείται επίσης σημαντική, θετική συσχέτιση του λόγου ( $C_e/C_i$ ) για το βενζόλιο, με τη μέτρηση TLC με  $P\text{-Value} = 0,004$ .

Πίνακας 2.22: Διαγραμματική απεικόνιση της σχέσης της κυψελιδικής κλίσης (dC) της ισοπροπανόλης (A) με τη μέτρηση TLC ,της σχέσης του λόγου Ce/Ci της Ισοπροπανόλης (B) και του βενζολίου (Γ) με τη μέτρηση TLC



Οι παραπάνω συσχετίσεις για την ισοπροπανόλη φαίνονται και από την αρνητική κλίση της γραμμής τάσης στα παρακάτω διαγράμματα διασποράς της κυψελιδικής κλίσης της ισοπροπανόλης (άξονας x) σε σχέση με τη μέτρηση TLC (άξονας y) (Πίνακας 2.20A) και του λόγου της συγκέντρωσης της ισοπροπανόλης στον εκπνεόμενο αέρα προς τη συγκέντρωση στον περιβάλλοντα αέρα (Ce/Ci) σε σχέση με τη μέτρηση TLC αντίστοιχα (Πίνακας 2.20B). Επίσης για το βενζόλιο παρατηρούνται οι θετικές συσχετίσεις (θετική κλίση γραμμής τάσης), στα διαγράμματα διασποράς του λόγου της συγκέντρωσης βενζολίου στον εκπνεόμενο αέρα προς τη συγκέντρωση στον περιβάλλοντα αέρα (Ce/Ci) σε σχέση με τη μέτρηση TLC αντίστοιχα (Πίνακας 2.20Γ).

### 3. Συμπεράσματα

- Πραγματοποιήθηκε ανάλυση του εκπνεόμενου αέρα σε 18 δείγματα με τη μέθοδο GC-MS και ποσοτικοποιήθηκαν 7 επιλεγμένες πτητικές ενώσεις (ακετόνη, ισοπροπανόλη, βενζόλιο, τολουόλιο, βουτυρικός αιθυλεστέρας, αιθυλοβενζόλιο, στυρόλιο)
- Πραγματοποιήθηκε έλεγχος της αναπνευστικής λειτουργίας σε 18 εθελοντές με τη μέθοδο της σπιρομέτρησης και συσχετίστηκαν οι παράμετροι των σπιρομετρήσεων με τις συγκεντρώσεις των ΠΟΕ.
- Ανιχνεύθηκε πλήθος συσχετίσεων μεταξύ των ΠΟΕ και 6 παραμέτρων της σπιρομέτρησης (FEV1, FVC, ERV, RV, FRC, TLC).
- Η συγκέντρωση της ακετόνης βρέθηκε να συσχετίζεται με τη μέτρηση του Βιαιώς Εκπνεόμενου Όγκου σε 1s, FEV1.
- Από τις μονοαρωματικές ενώσεις μόνο το βενζόλιο έδειξε σημαντική συσχέτιση με τις παραμέτρους της σπιρομέτρησης.
- Οι πτητικές ενώσεις (ΠΟΕ) που φάνηκε να συσχετίζονται περισσότερο με τις παραμέτρους της σπιρομέτρησης ήταν η ισοπροπανόλη και το βενζόλιο. Συγκεκριμένα παρατηρήθηκε ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της κυψελιδικής κλίσης της ισοπροπανόλης και των παραμέτρων: FVC, ERV, RV, FRC και TLC. Επιπλέον βρέθηκε να συσχετίζεται ο λόγος συγκέντρωσης εκπνοής/εισπνοής της ισοπροπανόλης με τις παραμέτρους FEV1, FVC, RV, FRC και TLC. Αντίστοιχα για την κυψελιδική κλίση του βενζολίου, βρέθηκε συσχέτιση με τις παραμέτρους: RV και FRC και για το λόγο συγκέντρωσης εκπνοής/εισπνοής του βενζολίου με τις παραμέτρους RV, FRC και TLC.
- Ενώσεις που βρίσκονται σε χαμηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης στον εκπνεόμενο αέρα δεν έδειξαν σημαντικές συσχετίσεις με τις παραμέτρους της σπιρομέτρησης. Οι ενώσεις αυτές είναι το τολουόλιο, ο βουτυρικός αιθυλεστέρας, το αιθυλοβενζόλιο και το στυρόλιο.
- Η λειτουργία του αναπνευστικού συστήματος φαίνεται να αποτελεί σημαντικό παράγοντα στην αφθονία των ΠΟΕ στην εκπνοή. Τα παραπάνω ευρήματα αξίζει να λαμβάνονται υπόψη σε έρευνες που μελετούν ασθένειες του αναπνευστικού συστήματος.
- Για να αυξηθεί η στατιστική σημαντικότητα των ευρημάτων και να εξάγουμε ακριβέστερα συμπεράσματα θα πρέπει η παραπάνω έρευνα να επεκταθεί σε μεγαλύτερο δείγμα πληθυσμού.



#### 4. Βιβλιογραφία

1. World Health Organization. International Agency for Research on Cancer. *GLOBOCAN 2018: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2018*.
2. Boots, A.W., et al., *The versatile use of exhaled volatile organic compounds in human health and disease*. J Breath Res, 2012. **6**(2): p. 027108.
3. Koureas, M., et al., *Target Analysis of Volatile Organic Compounds in Exhaled Breath for Lung Cancer Discrimination from Other Pulmonary Diseases and Healthy Persons*. Metabolites, 2020. **10**(8).
4. J. Gordon Betts, K.A.Y., et al., *Anatomy and Physiology*. Apr 25, 2013, OpenStax: Houston, Texas.
5. Breeze, R., *Structure, function, and metabolism in the lung*. Vet Clin North Am Food Anim Pract, 1985. **1**(2): p. 219-35.
6. <http://www.karagiannisathanasios.gr/attachments/Image/lung-111.gif?template=generic>.
7. Wanger, J., et al., *Standardisation of the measurement of lung volumes*. European Respiratory Journal, 2005. **26**(3): p. 511.
8. Γ. Καλτσάκας, Α. Παλαμίδας, Σ.Α. Γενηματά, Ν. Κουλούρης. *Εργαστήριο Παθοφυσιολογίας: Λειτουργικός Έλεγχος του Αναπνευστικού Συστήματος. Συχνές Ερωτήσεις στην Πνευμονολογία. Εκδόσεις της Ελληνικής Πνευμονολογικής Εταιρείας. Αθήνα 2010, σελ 57-87*.
9. <https://www.memorangapp.com/flashcards/162084/The+Respiratory+System+%3A+Spirometry/>.
10. Lin, K., et al., *Screening for chronic obstructive pulmonary disease using spirometry: summary of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force*. Ann Intern Med, 2008. **148**(7): p. 535-43.
11. Miller, M.R., et al., *Standardisation of spirometry*. European Respiratory Journal, 2005. **26**(2): p. 319.
12. <https://www.news-medical.net/Spiropalm-Handheld-Spirometer-from-COSMED>.
13. van Schalkwyk, E.M., et al., *Guideline for office spirometry in adults, 2004*. S Afr Med J, 2004. **94**(7 Pt 2): p. 576-87.
14. Koegelenberg, C., F. Swart, and E. Irusen, *Guideline for office spirometry in adults, 2012*. South African medical journal = Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde, 2013. **103**: p. 52-62.
15. Johnson, J.D. and W.M. Theurer, *A stepwise approach to the interpretation of pulmonary function tests*. Am Fam Physician, 2014. **89**(5): p. 359-66.
16. <https://www.niehs.nih.gov/health/topics/conditions/lung-disease/index.cfm#footnote1>.
17. Ryu, J.H. and P.D. Scanlon, *Obstructive Lung Diseases: COPD, Asthma, and Many Imitators*. Mayo Clinic Proceedings, 2001. **76**(11): p. 1144-1153.
18. Raheerison, C. and P.O. Girodet, *Epidemiology of COPD*. European Respiratory Review, 2009. **18**(114): p. 213.
19. Hikichi, M., et al., *Pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) induced by cigarette smoke*. Journal of thoracic disease, 2019. **11**(Suppl 17): p. S2129-S2140.
20. Nakawah, M., C. Hawkins, and F. Barbandi, *Asthma, Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD), and the Overlap Syndrome*. Journal of the American Board of Family Medicine : JABFM, 2013. **26**: p. 470-7.
21. Barnes, P.J., S.D. Shapiro, and R.A. Pauwels, *Chronic obstructive pulmonary disease: molecular and cellular mechanisms*. Eur Respir J, 2003. **22**(4): p. 672-88.
22. <https://www.doctoranytime.gr/images/V4/assets/cp/xap/xap-graph.jpg>.
23. Pauwels, R.A., et al., *Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease*. NHLBI/WHO Global Initiative for Chronic

- Obstructive Lung Disease (GOLD) Workshop summary*. Am J Respir Crit Care Med, 2001. **163**(5): p. 1256-76.
24. *Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention, 2020*. Available from: [www.ginasthma.org](http://www.ginasthma.org).
  25. <https://asthmalungdisease.blogspot.com/2018/02/asthma-lung-vs-normal-lung.html>.
  26. Kemp, S.V., M.I. Polkey, and P.L. Shah, *The epidemiology, etiology, clinical features, and natural history of emphysema*. Thorac Surg Clin, 2009. **19**(2): p. 149-58.
  27. Shah, P.L., et al., *Lung volume reduction for emphysema*. Lancet Respir Med, 2017. **5**(2): p. 147-156.
  28. <https://lifesubjects.gr/pneymones-kai-anapnoe/emphysema>.
  29. Wenzel, R.P. and A.A. Fowler, 3rd, *Clinical practice. Acute bronchitis*. N Engl J Med, 2006. **355**(20): p. 2125-30.
  30. Decramer, M., W. Janssens, and M. Miravittles, *Chronic obstructive pulmonary disease*. Lancet, 2012. **379**(9823): p. 1341-51.
  31. Albert, R.H., *Diagnosis and treatment of acute bronchitis*. Am Fam Physician, 2010. **82**(11): p. 1345-50.
  32. <https://ufhealth.org/acute-bronchitis>.
  33. Naehrig, S., C.-M. Chao, and L. Naehrlich, *Cystic Fibrosis*. Deutsches Arzteblatt international, 2017. **114**(33-34): p. 564-574.
  34. Robinson, H.C., *Respiratory Conditions Update: Restrictive Lung Disease*. FP Essent, 2016. **448**: p. 29-34.
  35. Mangera, Z., G. Panesar, and H. Makker, *Practical approach to management of respiratory complications in neurological disorders*. Int J Gen Med, 2012. **5**: p. 255-63.
  36. Quanjer, P.H., et al., *Lung volumes and forced ventilatory flows*. Eur Respir J, 1993. **6 Suppl 16**: p. 5-40.
  37. Xaubet, A., et al., *Guidelines for the diagnosis and treatment of idiopathic pulmonary fibrosis*. Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR) Research Group on Diffuse Pulmonary Diseases. Arch Bronconeumol, 2013. **49**(8): p. 343-53.
  38. <https://ec.europa.eu/eurostat/>.
  39. Siegel, R.L., K.D. Miller, and A. Jemal, *Cancer statistics, 2020*. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2020. **70**(1): p. 7-30.
  40. Gridelli, C., et al., *Non-small-cell lung cancer*. Nat Rev Dis Primers, 2015. **1**: p. 15009.
  41. Travis, W.D., et al., *The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances Since the 2004 Classification*. J Thorac Oncol, 2015. **10**(9): p. 1243-1260.
  42. Nakazawa, K., et al., *Specific organ metastases and survival in small cell lung cancer*. Oncol Lett, 2012. **4**(4): p. 617-620.
  43. Travis, W.D., *Update on small cell carcinoma and its differentiation from squamous cell carcinoma and other non-small cell carcinomas*. Modern Pathology, 2012. **25**(1): p. S18-S30.
  44. Dela Cruz, C.S., L.T. Tanoue, and R.A. Matthay, *Lung cancer: epidemiology, etiology, and prevention*. Clin Chest Med, 2011. **32**(4): p. 605-44.
  45. Mollberg, N., et al., *Mind-Mapping for Lung Cancer: Towards a Personalized Therapeutics Approach*. Advances in therapy, 2011. **28**: p. 173-94.
  46. Burns, D.M., *Primary prevention, smoking, and smoking cessation: implications for future trends in lung cancer prevention*. Cancer, 2000. **89**(11 Suppl): p. 2506-9.
  47. <https://www.cancer.org/cancer/lung-cancer/detection-diagnosis-staging/signs-symptoms.html>.
  48. Vihinen, M., *How to evaluate performance of prediction methods? Measures and their interpretation in variation effect analysis*. BMC Genomics, 2012. **13**(4): p. S2.
  49. Trevethan, R., *Sensitivity, Specificity, and Predictive Values: Foundations, Plabilities, and Pitfalls in Research and Practice*. Frontiers in Public Health, 2017. **5**(307).
  50. Ginat, D.T. and R. Gupta, *Advances in Computed Tomography Imaging Technology*. Annual Review of Biomedical Engineering, 2014. **16**(1): p. 431-453.

51. Oudkerk, M., et al., *Lung cancer LDCT screening and mortality reduction — evidence, pitfalls and future perspectives*. Nature Reviews Clinical Oncology, 2020.
52. Sihoe, A.D.L. and A.P.C. Yim, *Lung cancer staging*. *Journal of Surgical Research*, 2004. *117*(1): p. 92-106.
53. Johnson, J.A., et al., *Opportunities for Fluorochlorozirconate and Other Glass-Ceramic Detectors in Medical Imaging Devices*. *Journal of biomedical technology and research*, 2015. *2*(1): p. 10.19104/jbtr.2015.102.
54. Homrich, G., et al., *Prevalence of Benign Diseases Mimicking Lung Cancer: Experience from a University Hospital of Southern Brazil*. *Tuberculosis and respiratory diseases*, 2015. *78*: p. 72-77.
55. <https://www.nibib.nih.gov/science-education/science-topics/magnetic-resonance-imaging-mri#pid-961>.
56. <https://healthmanagement.org/c/imaging/issuearticle/radiology-in-greece>.
57. Biederer, J., et al., *Screening for lung cancer: Does MRI have a role?* *Eur J Radiol*, 2017. *86*: p. 353-360.
58. <https://www.neurocenter.gr/magnitiki-tomografia.html>.
59. Aggarwal, P., et al., *Role of Segmentation in Medical Imaging: A Comparative Study*. *International Journal of Computer Applications*, 2011. *29*: p. 54-61.
60. <https://patient.info/chest-lungs/chest-infection/bronchoscopy>.
61. Herth, F.J.F., *Bronchoscopic techniques in diagnosis and staging of lung cancer*. *Breathe*, 2011. *7*(4): p. 324-337.
62. Herth, F.J.F., *Bronchoscopic techniques in diagnosis and staging of lung cancer*. *Breathe*, 2011. *7*(4): p. 324.
63. Prabhakar, B., P. Shende, and S. Augustine, *Current trends and emerging diagnostic techniques for lung cancer*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2018. *106*: p. 1586-1599.
64. <https://www.owlstonemedical.com/science-technology/breath-biopsy/>.
65. Pauling, L., et al., *Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1971. *68*(10): p. 2374-2376.
66. de Vries, R., et al., *Clinical and inflammatory phenotyping by breathomics in chronic airway diseases irrespective of the diagnostic label*. *European Respiratory Journal*, 2018. *51*(1): p. 1701817.
67. Phillips, M., et al., *Volatile organic compounds in breath as markers of lung cancer: a cross-sectional study*. *The Lancet*, 1999. *353*(9168): p. 1930-1933.
68. Das, S., S. Pal, and M. Mitra, *Significance of Exhaled Breath Test in Clinical Diagnosis: A Special Focus on the Detection of Diabetes Mellitus*. *Journal of medical and biological engineering*, 2016. *36*(5): p. 605-624.
69. Buszewski, B., et al., *Human exhaled air analytics: biomarkers of diseases*. *Biomed Chromatogr*, 2007. *21*(6): p. 553-66.
70. Barash, O., U.M. Tisch, and H. Haick, *Volatile organic compounds and the potential for a lung cancer breath test*. *Lung Cancer Management*, 2013. *2*: p. 471-482.
71. Behera, B., et al., *Electronic nose: a non-invasive technology for breath analysis of diabetes and lung cancer patients*. *J Breath Res*, 2019. *13*(2): p. 024001.
72. Finamore, P., S. Scarlata, and R.A. Incalzi, *Breath analysis in respiratory diseases: state-of-the-art and future perspectives*. *Expert Rev Mol Diagn*, 2019. *19*(1): p. 47-61.
73. Kant, K., et al., *Clinical use of exhaled volatile organic compounds in pulmonary diseases: A systematic review*. *Respiratory research*, 2012. *13*: p. 117.
74. Wang, X.R., J. Cassells, and A.Z. Berna, *Stability control for breath analysis using GC-MS*. *Journal of Chromatography B*, 2018. *1097-1098*: p. 27-34.
75. Wu, S., G. Lyu, and R. Lou, *Applications of Chromatography Hyphenated Techniques in the Field of Lignin Pyrolysis*. 2012.
76. Ahmed, W.M., et al., *Exhaled Volatile Organic Compounds of Infection: A Systematic Review*. *ACS Infectious Diseases*, 2017. *3*(10): p. 695-710.

77. Ghimenti, S., et al., *Comparison of sampling bags for the analysis of volatile organic compounds in breath*. J Breath Res, 2015. **9**(4): p. 047110.
78. <https://www.apexinst.com/product/gas-sampling-bags>.
79. J., P., *Solid Phase Microextraction: Theory and Practice*. 1997.
80. Vas, G. and K. Vékey, *Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis*. J Mass Spectrom, 2004. **39**(3): p. 233-54.
81. Hou, X., L. Wang, and Y. Guo, *Recent Developments in Solid-phase Microextraction Coatings for Environmental and Biological Analysis*. Chemistry Letters, 2017. **46**(10): p. 1444-1455.
82. <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/reporter-us/bioanalysis-with-spme.html>.
83. *Chapter 1 Basic principles of gas chromatography*, in *Journal of Chromatography Library*, V.G. Berezkin, V.R. Alishoyev, and I.B. Nemirovskaya, Editors. 1977, Elsevier. p. 1-31.
84. <https://microbenotes.com/gas-chromatography/>
85. <https://dgms.eu/en/about-dgms/this-is-mass-spectrometry/mass-spectrometers/>.
86. Murayama, C., Y. Kimura, and M. Setou, *Imaging mass spectrometry: principle and application*. Biophysical reviews, 2009. **1**(3): p. 131-131.
87. Georgiou, C.A. and G.P. Danezis, *Chapter 3 - Elemental and Isotopic Mass Spectrometry*, in *Comprehensive Analytical Chemistry*, Y. Picó, Editor. 2015, Elsevier. p. 131-243.
88. Ribbenstedt, A., H. Ziarrusta, and J.P. Benskin, *Development, characterization and comparisons of targeted and non-targeted metabolomics methods*. PloS one, 2018. **13**(11): p. e0207082-e0207082.
89. [https://americanlaboratorytrading.com/lab-equipment-products/thermo-electron-corporation-ultra-polarisq-gcms-ion-trap-mass-spectrometer-system\\_10833](https://americanlaboratorytrading.com/lab-equipment-products/thermo-electron-corporation-ultra-polarisq-gcms-ion-trap-mass-spectrometer-system_10833).

## 5. Παράρτημα

Πίνακας 1. Συσχετίσεις κυψελιδικής κλίσης συγκεντρώσεων ΠΟΕ με τη μέτρηση FEV1		
ΠΟΕ	Μέτρηση FEV1	
	Συντελεστής συσχέτισης (R) Spearman	P-Value
Ακετόνη	-0,637	0,004
Ισοπροπανόλη	-0,573	0,013
Βενζόλιο	0,255	0,307
Τολουόλιο	0,309	0,213
Βουτυρικός Αιθυλεστέρας	-0,154	0,542
Αιθυλοβενζόλιο	0,185	0,463
Στυρόλιο	0,319	0,197

Πίνακας 2. Συσχετίσεις συγκεντρώσεων ΠΟΕ με τη μέτρηση ERV		
ΠΟΕ	Μέτρηση ERV	
	Συντελεστής συσχέτισης (R)	P-Value
Ακετόνη	-0,377	0,122
Ισοπροπανόλη	0,169	0,502
Βενζόλιο	0,232	0,354
Τολουόλιο	0,235	0,347
Βουτυρικός Αιθυλεστέρας	-0,074	0,769
Αιθυλοβενζόλιο	0,282	0,257
Στυρόλιο	-0,347	0,158

Πίνακας 3: Συσχετίσεις συγκεντρώσεων ΠΟΕ με τη μέτρηση RV		
ΠΟΕ	Μέτρηση RV	
	Συντελεστής συσχέτισης (R) Spearman	P-Value
Ακετόνη	-0,202	0,420
Ισοπροπανόλη	0,072	0,775
Βενζόλιο	0,368	0,132
Τολουόλιο	0,337	0,170
Βουτυρικός Αιθυλεστέρας	0,089	0,722
Αιθυλοβενζόλιο	0,442	0,066
Στυρόλιο	-0,239	0,338

Πίνακας 4: Συσχετίσεις συγκεντρώσεων ΠΟΕ με τη μέτρηση FRC		
ΠΟΕ	Μέτρηση FRC	
	Συντελεστής συσχέτισης (R) Spearman	P-Value
Ακετόνη	-0,277	0,264
Ισοπροπανόλη	0,166	0,509
Βενζόλιο	0,256	0,303
Τολουόλιο	0,271	0,275
Βουτυρικός Αιθυλεστέρας	0,069	0,785
Αιθυλοβενζόλιο	0,335	0,173
Στυρόλιο	-0,358	0,144

Πίνακας 5: Συσχετίσεις συγκεντρώσεων ΠΟΕ με τη μέτρηση TLC		
ΠΟΕ	Μέτρηση FRC	
	Συντελεστής συσχέτισης (R) Spearman	P-Value
Ακετόνη	-0,417	0,0850
Ισοπροπανόλη	0,066	0,794
Βενζόλιο	0,262	0,293
Τολουόλιο	0,290	0,242
Βουτυρικός Αιθυλεστέρας	0,163	0,517
Αιθυλοβενζόλιο	0,377	0,122
Στυρόλιο	-0,304	0,219