

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ-ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΘΕΜΑ : Προσδιορισμός IL-6 και CRP στο
πλευριτικό υγρό και στο αίμα
ασθενών με υπεζωκοτική συλλογή



Εκπόνηση: Τσιλιώνη Ειρήνη

Τριμελής επιτροπή : Κωνσταντίνος Ι. Γουργουλιάνης, Καθηγητής Τμήματος
Ιατρικής (*Υπεύθυνος καθηγητής*)
Δημήτριος Κουρέτας, Αναπληρωτής Καθηγητής Τμήματος
Βιοχημείας-Βιοτεχνολογίας
Σπυρίδων Λάφης, Διδάκτωρ Χημείας Τμήματος Ιατρικής

ΛΑΡΙΣΑ 2005



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

Αριθ. Εισ.: 4436/1
Ημερ. Εισ.: 19-09-2005
Δωρεά: Π.Θ.
Ταξιθετικός Κωδικός: ΠΤ - ΒΒ
2005
ΤΣΙ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000087897

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία διεξήχθη στο εργαστήριο μελέτης υπεζωκοτικών συλλογών της Πνευμονολογικής κλινικής του Περιφερειακού Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας (Π.Π.Γ.Ν.Λ) κατά το χρονικό διάστημα Φεβρουάριος 2004 έως Απρίλιος 2005.

Υπεύθυνος της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι ο καθηγητής του τμήματος της Ιατρικής Σχολής - Πρόεδρος του τμήματος Βιοχημείας-Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και Διευθυντής της Πνευμονολογικής κλινικής του Π.Π.Γ.Ν.Λ κ. Κωνσταντίνος Γουργουλιάνης.

Επιβλέπων ήταν ο συνεργάτης της Πανεπιστημιακής Πνευμονολογικής κλινικής κ. Θεόδωρος Κυρόπουλος.

Θέλω να ευχαριστήσω θερμά τον κ. καθηγητή της Ιατρικής Σχολής και Διευθυντή της Πανεπιστημιακής Πνευμονολογικής κλινικής για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, παρέχοντας μου τη δυνατότητα να διεξάγω την πτυχιακή μου εργασία στην άριστα οργανωμένη Πνευμονολογική κλινική της οποίας προΐσταται.

Ευχαριστώ ολόθερμα τον κ. Θεόδωρο Κυρόπουλο για την αμέριστη συμπαράσταση, βοήθεια και καθοδήγηση που μου πρόσφερε κατά τη διάρκεια της διεξαγωγής του πειράματος. Τον ευχαριστώ επίσης για όλα τα αναλώσιμα και μη είδη που μου παρείχε κατά το χρόνο της πτυχιακής μου εργασίας.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω τους καθηγητές του τμήματος Βιοχημείας-Βιοτεχνολογίας και μέλη της υπεύθυνης τριμελούς επιτροπής κ. Δημήτριο Κουρέτα και κ. Σπυρίδων Λάφη αντίστοιχα, οι οποίοι θα αξιολογήσουν και βαθμολογήσουν τη συνολική εκτέλεση και παρουσίαση της πτυχιακής μου εργασίας.

ΤΣΙΑΙΩΝΗ ΕΙΡΗΝΗ

φοιτήτρια

Τμήματος Βιοχημείας-Βιοτεχνολογίας

Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

| | |
|--|---------|
| ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....σελ. 1 | σελ. 1 |
| ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....σελ. 3 | σελ. 3 |
| 1. ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΗ ΚΟΙΛΟΤΗΤΑ | |
| 1.1 Ανατομία.....σελ.4 | σελ.4 |
| 1.2 Υπεζωκοτικές συλλογές.....σελ.5 | σελ.5 |
| 1.3 Σχηματισμός απορρόφησης πλευριτικού υγρού.....σελ.6 | σελ.6 |
| 1.4 Παθοφυσιολογία παραγωγής πλευριτικού υγρού.....σελ.8 | σελ.8 |
| 1.5 Ανάλυση πλευριτικού υγρού.....σελ.9 | σελ.9 |
| 1.6 <u>Χαρακτηριστικά του πλευριτικού υγρού σε παθολογικές καταστάσεις</u> | |
| 1.6.1 Φυματιώδης υπεζωκοτική συλλογή.....σελ.13 | σελ.13 |
| 1.6.2 Κακοήθεια.....σελ.14 | σελ.14 |
| 1.6.3 Συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια.....σελ.15 | σελ.15 |
| 1.6.4 Παραπνευμονική συλλογή.....σελ.15 | σελ.15 |
| 1.7 C αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP).....σελ.17 | σελ.17 |
| 1.7.1 Δομή της CRP και του γονιδίου της.....σελ.18 | σελ.18 |
| 1.7.2 Διαγνωστική αξία της CRP.....σελ.19 | σελ.19 |
| 1.7.3 Ιντερλευκίνη 6 (IL-6).....σελ.21 | σελ.21 |
| 1.7.4 Δομή της IL-6 και του γονιδίου της.....σελ.22 | σελ.22 |
| 1.7.5 Διαγνωστική αξία της IL-6.....σελ.23 | σελ.23 |
| 2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ | |
| 2.1 Υλικά και μέθοδοι.....σελ. 24 | σελ. 24 |
| 2.2 Μέθοδος προσδιορισμού της CRP.....σελ.27 | σελ.27 |
| 2.3 Μέθοδος προσδιορισμού της IL-6.....σελ.29 | σελ.29 |
| 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ | |
| • Βασικοί ορισμοί για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων.....σελ.31 | σελ.31 |
| 3.1 CRP.....σελ.32 | σελ.32 |
| 3.2 IL-6.....σελ.36 | σελ.36 |
| 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....σελ.41 | |
| 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....σελ.43 | |
| 6. ABSTRACT.....σελ.44 | |
| 7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....σελ.46 | |

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της εργασίας ήταν να μελετηθεί η διαγνωστική αξία προσδιορισμού της CRP και της IL-6 στο πλευριτικό υγρό και τον ορό ασθενών με υπεζωκοτική συλλογή.

Η **CRP** προσδιορίστηκε με τη μέθοδο της νεφελομετρίας ενώ η **IL-6** με τη μέθοδο της ELISA. Οι δραστηριότητες της CRP και της IL-6 μετρήθηκαν σε 124 ασθενείς με υπεζωκοτική συλλογή στο πλευριτικό υγρό και στο αίμα. Η σύγκριση των τιμών της **CRP** έδειξε ότι υψηλότερη μέση τιμή CRP πλευριτικού υγρού είχε η παραπνευμονική συλλογή (12.25 mg/dl) σε σχέση με τη φυματίωση (4.24 mg/dl), κακοήθεια (2.78 mg/dl) και συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια (0.84 mg/dl) ($p < 0.0001$). Και στον ορό η μέση τιμή της CRP στην παραπνευμονική συλλογή (24.17 mg/dl) ήταν μεγαλύτερη από τις άλλες ομάδες, φυματίωση (9.04 mg/dl), κακοήθεια (7.34 mg/dl) και συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια (2.22 mg/dl) ($p < 0.0001$). Σύμφωνα με τη ROC ανάλυση, η CRP μπορεί να διακρίνει με υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα τόσο στο πλευριτικό υγρό (92.9% και 88.4% αντίστοιχα, cut-off > 5.3 mg/dl) όσο και στον ορό (92.9% και 78.9% αντίστοιχα, cut-off > 10.1 mg/dl) τις παραπνευμονικές από άλλης αιτιολογίας υπεζωκοτικές συλλογές (φυματίωση, κακοήθεια και διδρώματα). Ο λόγος της τιμής της CRP στο πλευριτικό υγρό προς την αντίστοιχη του ορού δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές ανάμεσα σε όλες τις υποομάδες των πλευριτικών συλλογών.

Η σύγκριση των τιμών της **IL-6** έδειξε ότι υψηλότερη μέση τιμή IL-6 πλευριτικού υγρού είχαν η φυματίωση και η παραπνευμονική συλλογή ($\bar{X} = 24268$ pg/ml και $\bar{X} = 22762$ pg/ml αντίστοιχα) σε σχέση με την κακοήθεια ($\bar{X} = 8085$ pg/ml) και τη συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια ($\bar{X} = 814$ pg/ml) ($p < 0.0001$). Σύμφωνα με την ROC ανάλυση η ευαισθησία και η ειδικότητα της IL-6 του πλευριτικού υγρού με cut off > 13750 pg/ml είναι 96 % και 76.8 % αντίστοιχα. Στον ορό οι μέσες τιμές της IL-6 στις ίδιες ομάδες ασθενών δεν είχαν σημαντικές αποκλίσεις (φυματίωση $\bar{X} = 133.8$ pg/ml, παραπνευμονική συλλογή, $\bar{X} = 150.3$ pg/ml, κακοήθεια $\bar{X} = 132.8$ pg/ml). Όλες οι διαφορές ήταν μη στατιστικά σημαντικές (NS). Ο λόγος της IL-6 στο πλευριτικό υγρό προς την αντίστοιχη του ορού παρουσίασε υψηλές τιμές στη φυματίωση και στην παραπνευμονική συλλογή ($\bar{X} = 240.8$ pg/ml και $\bar{X} = 225.9$ pg/ml

αντίστοιχα) σε σχέση με τις τιμές των ασθενών με κακοήθεια ($\bar{X}=105.4$ pg/ml) και με συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια ($\bar{X}=29.27$ pg/ml) ($p<0.0001$). Σύμφωνα με την ROC ανάλυση με cut off >175.3 pg/ml η ευαισθησία είναι 76 % και η ειδικότητα 84.8 %

Συμπερασματικά φαίνεται ότι, η μέτρηση της CRP και της IL-6 στο πλευριτικό υγρό και στον ορό των ασθενών βοηθά σε μεγάλο βαθμό στο διαχωρισμό του διδρώματος από το εξίδρωμα. Συγκεκριμένα, τα επίπεδα της CRP μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διάκριση μεταξύ παραπνευμονικών από άλλου είδους συλλογές ενώ η IL-6 στο πλευριτικό υγρό λόγω της χαμηλής ευαισθησίας και ειδικότητας δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί με ασφάλεια για τη διαφοροδιάγνωση των υπεζωκοτικών συλλογών.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η υπεζωκοτική συλλογή αποτελεί μία από τις σημαντικότερες εκδηλώσεις νόσων του αναπνευστικού συστήματος και χαρακτηρίζεται από αύξηση του υγρού εντός της υπεζωκοτικής κοιλότητας^{1,2}. Κάθε χρόνο εκατομμύρια άνθρωποι αναπτύσσουν υπεζωκοτικές συλλογές, παρά όμως τη βελτίωση των διαγνωστικών μεθόδων ένα μεγάλο ποσοστό τους παραμένει αδιάγνωστο.

Πολλές οι προσπάθειες που έγιναν τα τελευταία χρόνια με σκοπό να διευκρινιστεί η παρουσία συγκεκριμένων βιοχημικών δεικτών στο πλευριτικό υγρό. Η συλλογή του πλευριτικού υγρού στην υπεζωκοτική κοιλότητα, σηματοδοτεί μια ανώμαλη παθοφυσιολογική κατάσταση, αποτέλεσμα της διαταραχής της ισορροπίας του ρυθμού παραγωγής και απορρόφησης του υγρού^{1,2}.

Η υπεζωκοτική συλλογή αφορά συχνότερα τον υπεζωκότα και τον πνεύμονα και σπανιότερα άλλα παρακείμενα όργανα (π.χ. ήπαρ, πάγκρεας, οισοφάγο) ενώ μπορεί να εμφανιστεί σε κακώσεις ή και μετά από λήψη φαρμάκων^{1,2}.

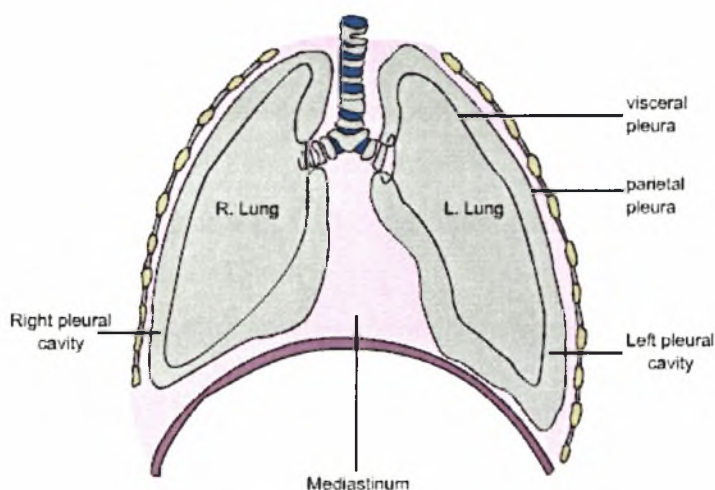
Η παρουσία του πλευριτικού υγρού προσφέρει στον κλινικό γιατρό την δυνατότητα να διαγνώσει, από αυτό, την υπεύθυνη νόσο σε ένα μεγάλο ποσοστό περιπτώσεων. Με τη βοήθεια διάφορων βιοχημικών εξετάσεων (μικροβιολογικών, βιοχημικών, κυτταρολογικών) και τη κλινική εικόνα του ασθενούς, μπορούμε να έχουμε διάγνωση στο 85% περίπου των περιπτώσεων³.

Σκοπός της εργασίας αυτής είναι να ελεγχθεί η αξία των επιπέδων της CRP και της IL-6 στο πλευριτικό υγρό και το αίμα για τη διάγνωση της υπεζωκοτικής συλλογής.

1. ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΗ ΚΟΙΛΟΤΗΤΑ

1.1 ΑΝΑΤΟΜΙΑ

Ο **υπεζωκότας** είναι ένας λεπτός, ημιδιαφανής υμένας που καλύπτει τους πνεύμονες, το μεσαύλιο, το διάφραγμα και το εσωτερικό τοίχωμα του θωρακικού κλωβού. Συνίσταται από το τοιχωματικό και το σπλαχνικό πέταλο (*Εικόνα 1*). Το σπλαχνικό πέταλο του υπεζωκότα εφάπτεται στο πνευμονικό παρέγχυμα, ενώ το τοιχωματικό εφάπτεται στη θωρακική κοιλότητα και καλύπτει τους πνεύμονες, το μεσαύλιο και το διάφραγμα.⁴



Εικόνα 1: Σχηματική απεικόνιση του θώρακα.

Ο υπεζωκότας αποτελείται από βασική μεμβράνη, μονήρη στιβάδα μεσοθηλιακών κυττάρων, αγγεία και συνδετικό ιστό. Νευρικές απολήξεις παρατηρούνται μόνο στο τοιχωματικό του πέταλο. Ο σχισμοειδής χώρος μεταξύ του σπλαχνικού και του τοιχωματικού πετάλου του υπεζωκότα αποτελεί την **υπεζωκοτική κοιλότητα**, εντός της οποίας ενδέχεται να συγκεντρωθούν μεγάλες ποσότητες υγρού. Φυσιολογικά στην υπεζωκοτική κοιλότητα εύρους 10-20mm, υπάρχει μικρή ποσότητα (0.5-1ml) υγρού. Το υγρό αυτό αποτελεί, κυριολεκτικά, «υπερδιήθημα» του αίματος, είναι διαυγές, άχρωμο, με λίγα κύτταρα ($1500-2000/\text{mm}^3$), μικρή ποσότητα πρωτεΐνης ($<1,5\text{g}/100\text{ml}$) καθώς επίσης περιέχει νάτριο, κάλιο και ασβέστιο σε συγκεντρώσεις παρόμοιες με του ενδοκυττάρου υγρού.^{1,4}

1.2 ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΕΣ ΣΥΛΛΟΓΕΣ

Η υπεζωκοτική συλλογή αποτελεί μία από τις σημαντικότερες εκδηλώσεις νόσων του αναπνευστικού συστήματος και χαρακτηρίζεται από αύξηση του υγρού εντός της υπεζωκοτικής κοιλότητας, σε ποσότητα ικανή να αποκαλυφθεί στον ακτινολογικό έλεγχο. Οι παθοφυσιολογικές διεργασίες που οδηγούν στη συλλογή του υγρού στην υπεζωκοτική κοιλότητα οφείλονται στη διαταραχή της ισορροπίας του ρυθμού παραγωγής και απορρόφησης του υγρού. Η υπεζωκοτική συλλογή αφορά συχνότερα τον υπεζωκότα και τον πνεύμονα και σπανιότερα άλλα παρακείμενα όργανα (π.χ. ήπαρ, πάγκρεας, οισοφάγο) ενώ μπορεί να εμφανιστεί σε κακώσεις ή και μετά από λήψη φαρμάκων.^{1,2}

Οι υπεζωκοτικές συλλογές διακρίνονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, τις διιδρωματικές και τις εξιδρωματικές (*Πίνακας 1*).

Στις διιδρωματικές, η διίδρωση οφείλεται στην αύξηση της πίεσης διήθησης (υδροστατικής-κolloειδωσμοτικής) στα τριχοειδή του υπεζωκότα. Αντίθετα, οι εξιδρωματικές είναι το αποτέλεσμα φλεγμονής του υπεζωκότα (πλευρίτιδες) και χαρακτηρίζονται από αυξημένη διαπερατότητα των τριχοειδών σε μεγαλομοριακές ενώσεις (λευκώματα).¹

Πίνακας 1. Αίτια υπεζωκοτικών συλλογών

| ΔΙΪΔΡΩΜΑΤΑ |
|---------------------------------|
| Συμπιεστική περιαισθίτιδα |
| Συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια |
| Κίρρωση με ασίτη |
| Νεφρωσικό σύνδρομο |
| Απόφραξη άνω κοίλης |
| Υπερχορήγηση υγρών |
| Υπολευκωματιναίμια |
| Περιτοναϊκές διυλίσεις |
| Μυξοίδημα |

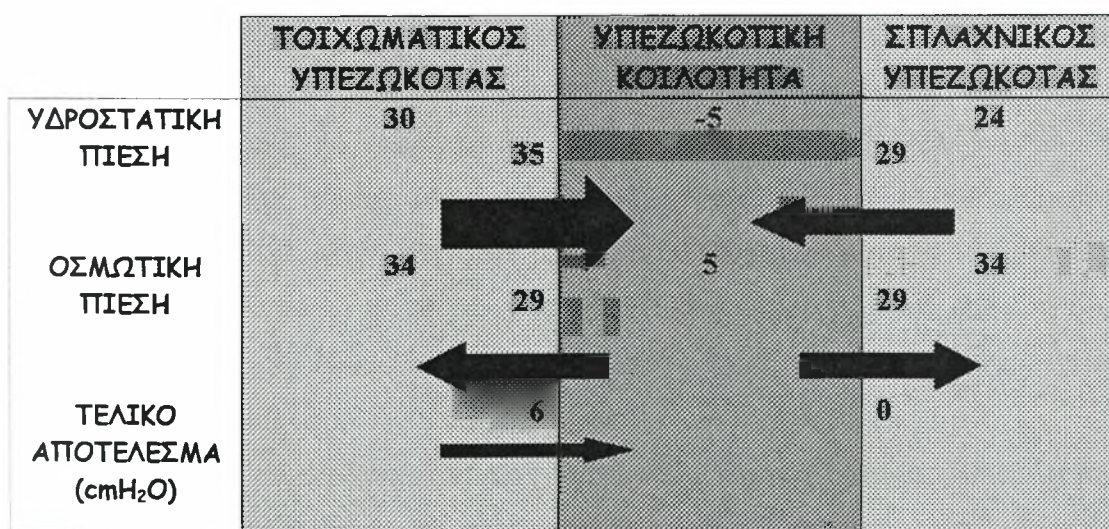
| ΕΞΙΔΡΩΜΑΤΑ |
|---|
| Νεοπλασίες |
| Μεταστατική νόσος, μεσοθηλίωμα, λέμφωμα |
| Βακτηριακές και ιογενείς λοιμώξεις |
| Φυματίωση, μυκητιάσεις, παρασιτώσεις |
| Πνευμονική εμβολή |
| Καρδιακές παθήσεις |
| Αορτοστεφανιαία παράκαμψη, περικαρδιακή νόσος |
| Γαστρεντερική νόσος |
| Παγκρεατική νόσος, υποδιαφραγματικό απόστημα |
| Ρευματοειδής πλευρίτιδα |
| Σύνδρομο υπερδιέγερσης ωσθινών, εμβρυϊκή πλευρίτιδα, ενδομητρίωση |
| Φαρμακευτική πλευρίτιδα |
| Έκθεση σε άβριστο, μεταμόσχευση πνεύμονα, μεταμόσχευση μυελού οστών, πνιγμός, αμυλοείδωση |
| ARDS, νόσος Whipple |
| Αιμοθώρακας |
| Χυλοθώρακας |

Η αιτιολόγηση μιας διΐδρωματικής συλλογής δεν αποτελεί συνήθως πρόβλημα. Αντιθέτως, η αιτιολογική διάγνωση των εξιδρωματικών συλλογών αποτελεί δύσκολο πρόβλημα και δεν επιτυγχάνεται σε ποσοστό 20-25%. Σε ό,τι αφορά τη συχνότητα εμφάνισης των διαφόρων συλλογών, προηγούνται οι συμφορητικές καρδιακές ανεπάρκειες (38%) και ακολουθούν οι μικροβιακές πνευμονίες (23%), οι νεοπλασίες (15%), οι πνευμονικές εμβολές (11%), οι ιώσεις (7%) και άλλα αίτια (6%).¹

1.3 ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΠΛΕΥΡΙΤΙΚΟΥ ΥΓΡΟΥ

Τα τριχοειδή του τοιχωματικού υπεζωκότα προέρχονται από τη συστηματική κυκλοφορία και έχουν υδροστατική πίεση 30cmH₂O. Οι δυνάμεις ελαστικής επαναφοράς των πνευμόνων καθιστούν την ενδοϋπεζωκοτική πίεση μικρότερη της ατμοσφαιρικής κατά το μεγαλύτερο χρονικό διάστημα της αναπνοής. Η ενδοϋπεζωκοτική πίεση επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες όπως η βαρύτητα και ο τύπος της αναπνοής. Η μέση τιμή είναι -5cmH₂O. Επομένως, υπάρχει μία διαφορά πίεσης 35cmH₂O που οδηγεί υγρό από τον τοιχωματικό υπεζωκότα στην υπεζωκοτική κοιλότητα.

Τα τριχοειδή του σπλαχνικού υπεζωκότα προέρχονται κυρίως από την συστηματική κυκλοφορία, αλλά η φλεβική παροχέτευση του σπλαχνικού υπεζωκότα γίνεται στην πνευμονική κυκλοφορία, με αποτέλεσμα η υδροστατική πίεση να είναι χαμηλότερη και ίση με 24cmH₂O. Η διαφορά μεταξύ της υδροστατικής πίεσης του σπλαχνικού υπεζωκότα και της πίεσης της υπεζωκοτικής κοιλότητας (29cmH₂O) συντελεί στη ροή υγρού από τον σπλαχνικό υπεζωκότα στην υπεζωκοτική κοιλότητα (σχήμα 1). Η κολλοειδωσμοτική πίεση και στα δύο πέταλα του υπεζωκότα είναι 34cmH₂O, ενώ μέσα στην υπεζωκοτική κοιλότητα είναι μικρότερη (5cmH₂O), αφού μόνο μικρό ποσοστό μεγάλων μορίων μπορεί να περάσει το ενδοθήλιο των τριχοειδών και να εισέλθει στην υπεζωκοτική κοιλότητα. Η κολλοειδωσμοτική πίεση τείνει να συγκρατήσει το υγρό, έτσι η διαφορά πίεσης μεταξύ τοιχωματικού υπεζωκότα και υπεζωκοτικής κοιλότητας (29cmH₂O) έλκει υγρό από τη υπεζωκοτική κοιλότητα στον τοιχωματικό υπεζωκότα. Η ίδια διαφορά υπάρχει μεταξύ σπλαχνικού υπεζωκότα και υπεζωκοτικής κοιλότητας (29cmH₂O), που έλκει υγρό από την κοιλότητα στον σπλαχνικό υπεζωκότα. Τελικά υπάρχει μια διαφορά πιέσεων 6cmH₂O που οδηγεί υγρό από τον τοιχωματικό υπεζωκότα προς την υπεζωκοτική κοιλότητα και μια διαφορά 0cmH₂O (αν και αυτό δεν έχει αποδειχτεί πειραματικά) στο επίπεδο του σπλαχνικού υπεζωκότα (σχήμα 1) ⁴.



Σχήμα 1: Υδροστατικές και κολλοειδωσμοτικές πιέσεις στον τοιχωματικό, τον σπλαχνικό υπεζωκότα και την υπεζωκοτική κοιλότητα. Τελικά υπάρχει μια διαφορά πίεσης 6cmH₂O που οδηγεί υγρό από τον τοιχωματικό υπεζωκότα στην υπεζωκοτική κοιλότητα.

1.4 ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΠΛΕΥΡΙΤΙΚΟΥ ΥΓΡΟΥ

Η αύξηση του όγκου του πλευριτικού υγρού αποτελεί έναν παράγοντα περιορισμού της συσσώρευσης επιπλέον υγρού, προκαλώντας αλλαγές στην ισορροπία των ενδοϋπεζωκοτικών πιέσεων και αυξάνοντας την λεμφαγγειακή απορρόφηση. Έτσι μετατοπίζεται η ισορροπία ροής του υγρού σε καθαρή απορρόφηση.

Η αύξηση του πλευριτικού υγρού προκαλεί ⁴:

i) Αύξηση της υδροστατικής πίεσης της υπεζωκοτικής κοιλότητας (μειώνοντας τη συνολική διαφορά πίεσης κατά πλάτος του τοιχωματικού πετάλου και αυξάνοντάς τη κατά πλάτος του πνευμονικού πετάλου του υπεζωκότα)

ii) Αύξηση της ροής του υγρού διαμέσου των στομάτων των λεμφαγγείων

Επίσης η αύξηση του πλευριτικού υγρού μπορεί να οφείλεται σε έναν ή και περισσότερους από τους παρακάτω μηχανισμούς ²:

1) Αύξηση της υδροστατικής πίεσης στη μικροκυκλοφορία του υπεζωκότα.

Ευθύνεται συχνά για την υπεζωκοτική συλλογή που παρατηρείται στην καρδιακή ανεπάρκεια. Οι ασθενείς με αριστερή καρδιακή ανεπάρκεια παρουσιάζουν συχνότερα υπεζωκοτική συλλογή από τους ασθενείς με δεξιά καρδιακή ανεπάρκεια.

2) Ελάττωση της κολλοειδωσμοτικής πίεσης (υπολευκωματιναιμία, νεφρωσικό σύνδρομο). Μόνη της σπάνια προκαλεί υπεζωκοτική συλλογή, λόγω της μεγάλης απορροφητικής ικανότητας των λεμφαγγείων. Αν όμως συνδυαστεί με την παρεμπόδιση της λεμφικής παροχέτευσης είναι δυνατόν να δημιουργηθούν μεγάλες συλλογές.

3) Ελάττωση της πίεσης μέσα στην υπεζωκοτική κοιλότητα (ατελεκτασία πνεύμονα). Έχει διαπιστωθεί ότι, στην ολική ατελεκτασία πνεύμονα, η υπεζωκοτική πίεση μπορεί να κατέλθει σε επίπεδα <-20 cm H₂O. Σύμφωνα με την εξίσωση του Starling, οι αρνητικές πιέσεις προκαλούν απόλυτη αύξηση της υδροστατικής πίεσης και υπεζωκοτική συλλογή.

4) Αύξηση της διαπερατότητας των τριχοειδών του υπεζωκότα. Αποτελεί τη δεύτερη, μετά την αύξηση της υδροστατικής πίεσης, αιτία της υπεζωκοτικής συλλογής. Η διαπερατότητα των τριχοειδών αυξάνεται στις φλεγμονές του υπεζωκότα, όπου παρεμποδίζεται η παροχέτευση του υγρού που συγκεντρώνεται στην υπεζωκοτική κοιλότητα με την απόφραξη των λεμφικών στομάτων.

5) **Ελάττωση της λεμφικής παροχέτευσης.** Η απόφραξη του λεμφικού συστήματος από το ύψος των στομάτων μέχρι το ύψος των μεσαυλικών λεμφαδένων και η μείωση της λεμφικής ροής λόγω της αύξησης της συστηματικής φλεβικής πίεσης συμβάλλει στην δημιουργία υπεζωκοτικής συλλογής. Συχνά αίτια είναι οι νεοπλασίες, οι φλεγμονές και η ίνωση.

6) Επιπρόσθετα, λιγότερο συχνοί μηχανισμοί, όπως η **μετακίνηση υγρού από την περιτοναϊκή στην υπεζωκοτική κοιλότητα** με τα διαφραγματικά λεμφαγγεία ή από διαφραγματικά ελλείμματα λόγω της υφιστάμενης διαφοράς πίεσης μεταξύ των δύο κοιλοτήτων, το τραύμα, η ρήξη θωρακικού πόρου ή ιατρογενή αίτια, μπορεί να οδηγήσουν σε συλλογή υγρού στην υπεζωκοτική κοιλότητα.

1.5 ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΛΕΥΡΙΤΙΚΟΥ ΥΓΡΟΥ

Η παρουσία μιας υπεζωκοτικής συλλογής παρέχει τη δυνατότητα στον κλινικό γιατρό να λάβει με θωρακοκέντηση δείγμα του υγρού και να προβεί στην ανάλυσή του, με σκοπό την αιτιολόγηση της συσσώρευσής του.

Το πρώτο βήμα στην ανάλυση του πλευριτικού υγρού είναι η διάκρισή του σε εξίδρωμα ή διίδρωμα. Για το σκοπό αυτό, μετράται η πρωτεΐνη και η γαλακτική δεϋδρογενάση (LDH) στο πλευριτικό υγρό και στο αίμα. Εξίδρωμα χαρακτηρίζεται το πλευριτικό υγρό όταν ικανοποιεί ένα ή περισσότερα από τα εξής κριτήρια (*κριτήρια Light*)¹:

1. Η σχέση των πρωτεϊνών του πλευριτικού υγρού προς τις πρωτεΐνες του αίματος είναι $> 0,5$
2. Η σχέση της LDH του πλευριτικού υγρού προς την LDH του αίματος είναι $> 0,6$
3. Η απόλυτη τιμή της LDH στο πλευριτικό υγρό είναι $> 2/3$ των ανώτερων φυσιολογικών τιμών του πλάσματος.

Σε περίπτωση διιδρωματικής πλευριτικής συλλογής κρίνεται αναγκαία η άμεση θεραπευτική αντιμετώπιση της υποκείμενης νόσου (π.χ. συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, κίρρωση κ.λ.π) η οποία θα συμβάλλει στην απορρόφηση του διιδρώματος.²

Σε περίπτωση όμως που ο ασθενής έχει εξιδρωματική πλευριτική συλλογή, τότε περνάμε στο δεύτερο στάδιο της ανάλυσης, στο οποίο πρέπει να διεξαχθούν επιπρόσθετες εξετάσεις στο πλευριτικό υγρό με σκοπό να προσδιορισθεί η αιτιολογία του.

Οι συνιστώμενες εξετάσεις στο πλευριτικό υγρό αφορούν^{1,2}:

1. Τη μακροσκοπική όψη και οσμή του πλευριτικού υγρού
2. Τον αριθμό και τον τύπο των λευκών αιμοσφαιρίων
3. Τη μέτρηση της γλυκόζης και της γαλακτικής δεϋδρογενάσης
4. Το pH, και
5. Την κυτταρολογική εξέταση

Η μακροσκοπική εμφάνιση του πλευριτικού υγρού μπορεί να είναι ορώδης, χυλώδης, αιμορραγική ή πυώδης (*Πίνακας 2*)

Πίνακας 2. Μακροσκοπική όψη του πλευριτικού υγρού

| |
|---|
| Ορώδες : Τα περισσότερα διυδρώματα - μερικά εξιδρώματα |
| Χυλώδες: Εμπύημα-χυλοθώρακα -ψευδοχυλοθώρακας |
| Αιμορραγικό: Νεοπλάσματα-Πνευμονική εμβολή |
| Πυώδες: Δύσσομο σε αναερόβιες λοιμώξεις |

Εξαιρετικά σπάνια εμφανίζεται με μορφή χολής (χυλοθώρακας), καφεοειδές (*ρήξη αμοιβαδικού αποστήματος*), μαύρο (*λοιμώξη από ασπέργιλλο*) ή κιτρινοπράσινο (*ρευματοειδής πλευρίτιδα, παγκρεατική συλλογή*). Συλλογές με οσμή αμμωνίας είναι ενδεικτικές ουροθώρακα ενώ τα τεμαχίδια τροφής υποδηλώνουν διάτρηση του οισοφάγου.⁵

Ο συνολικός αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων του πλευριτικού υγρού σπάνια είναι σημαντικός για τη διαφορική διάγνωση. Ωστόσο, τιμές μεγαλύτερες των 10.000/ml προδίδουν φλεγμονές του υπεζωκότα (*εμπύημα*) και οξείες καταστάσεις όπως παγκρεατίτιδα και πνευμονική εμβολή, ενώ σε χρόνια εξιδρώματα (*νεοπλασίες, φυματίωση*) ο αριθμός των λευκών δεν ξεπερνά τις 5000/ml. Αντίθετα με τον αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων, ο τύπος τους έχει καθοριστική σημασία στη διάκριση των πλευρίτιδων. Σε οξείες καταστάσεις κυριαρχούν τα πολυμορφοπύρρηνα, ενώ σε χρόνιες τα λεμφοκύτταρα. Χαρακτηριστικά, στη φυματιώδη πλευρίτιδα τα

λεμφοκύτταρα ανέρχονται στο 85-90% του συνόλου των κυττάρων. Συχνά στο υγρό απαντώνται ηωσινοφίλα σε ποσοστό >10% (*ηωσινοφιλική πλευρίτιδα*) ενώ σε περιπτώσεις λευχαιμικής προσβολής του υπεζωκότα εμφανίζονται τα βασεόφιλα σε ποσοστό >10% (*βασεοφιλική πλευρίτιδα*). Τα μεσοθηλιακά κύτταρα χαρακτηρίζουν κυρίως τις διδρωματικές πλευριτικές συλλογές, ενώ η παρουσία μακροφάγων στο πλευριτικό υγρό δεν έχει διαγνωστική σημασία, παρά μόνο προγνωστική της εξέλιξης της φλεγμονής.¹

Τα **επίπεδα της γλυκόζης** στα διδρώματα και στα περισσότερα εξιδρώματα είναι παρόμοια με αυτά του αίματος. Χαμηλές τιμές γλυκόζης <60 mg/dl είναι ενδεικτικές όλων των παραπνευμονικών συλλογών και της ρευματοειδούς πλευρίτιδας. Ακόμη, χαμηλή περιεκτικότητα σε γλυκόζη απαντάται στο 30% των νεοπλασματικών και στο 20% των φυματιωδών πλευρίτιδων. Οι χαμηλότερες τιμές γλυκόζης (<10 mg/dl) απαντώνται στη ρευματοειδή πλευρίτιδα και στο εμπύημα. Συλλογές που συνοδεύουν πνευμονίες με τιμές γλυκόζης <40 mg/dl συνήθως σχετίζονται με βακτηριακή λοίμωξη.¹

Η **γαλακτική δεϋδρογενάση (LDH)** στο πλευριτικό υγρό είναι ένας αξιόπιστος δείκτης υπεζωκοτικής φλεγμονής. Η τιμή της στα διδρώματα είναι < 200 U/l ενώ στα εξιδρώματα >200 U/l.^{2,5}

Στο πλευριτικό υγρό υγιών ατόμων η τιμή του **pH** είναι 7.60. Χαμηλή τιμή pH<7,30, σε συνδυασμό με φυσιολογικές τιμές pH αίματος, προδίδουν φλεγμονές του υπεζωκότα, ενώ τιμές <7,0 χαρακτηρίζουν παραπνευμονική συλλογή. Σε περιπτώσεις διάτρησης του οισοφάγου το pH είναι <6, ενώ σε ρευματοειδή πλευρίτιδα το pH είναι <7,20.¹

Η **κυτταρολογική εξέταση** επιβεβαιώνει τη διάγνωση των νεοπλασματικών συλλογών σε ποσοστό > 50% των ασθενών ενώ με την τρίτη δειγματοληψία το ποσοστό αυτό φθάνει στο 80-90%. Η ευαισθησία της μεθόδου εξαρτάται όχι μόνο από τον αριθμό των δειγμάτων και την εμπειρία του κυτταρολόγου, αλλά επίσης και από τον τύπο του νεοπλάσματος. Χαρακτηριστικά όλα τα αδενοκαρκινώματα δίνουν θετική κυτταρολογική του πλευριτικού υγρού, ενώ η ευαισθησία της εξέτασης μειώνεται στο λέμφωμα Hodgkin (25%). Ωστόσο, υπάρχει ένα μεγάλο ποσοστό ασθενών με αρνητική κυτταρολογική εξέταση, στο οποίο η υπεζωκοτική συλλογή οφείλεται σε ατελεκτασία πνεύμονα ή απόφραξη λεμφαγγείων.^{1,2}

Με βάση τα παραπάνω, είναι φανερό η αναγκαιότητα του προσδιορισμού όλων των δεικτών (λευκά αιμοσφαίρια-τύπος, γλυκόζη, pH) σε κάθε περίπτωση εξιδρωματικής συλλογής. Οι τιμές των δεικτών που προαναφέρθηκαν, σε συνδυασμό με την κλινική εικόνα και το ιστορικό των ασθενών, κατευθύνουν την διεξαγωγή πιο εξειδικευμένων αναλύσεων:

➤ **ADA-IFN-γ**

Η **απαμινάση της αδενοσίνης (ADA)** είναι το ένζυμο που καταλύει την αντίδραση μετατροπής της αδενοσίνης σε ινοσίνη και η μέτρησή της στο πλευριτικό υγρό είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για τη διάκριση των φυματιωδών από τις άλλες φλεγμονώδεις πλευρίτιδες. Για τον ίδιο σκοπό, χρησιμοποιείται και η ποσοτική εκτίμηση της **ιντερφερόνης-γ (IFN-γ)**.^{2,23-26}

➤ **ΑΜΥΛΑΣΗ**

Η μέτρηση της **αμυλάσης** στο πλευριτικό υγρό ασθενών με αδιάγνωστη εξιδρωματική πλευρίτιδα αποδεικνύει ότι αυξημένες τιμές της, οι οποίες ξεπερνούν τις αντίστοιχες του αίματος, παρατηρούνται σε παγκρεατικές νόσους (>1000 U/l) σε οισοφαγική διάτρηση και σε νεοπλασματικές πλευρίτιδες (10%).¹

➤ **ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ**

Ο προσδιορισμός των **τριγλυκεριδίων** στο πλευριτικό υγρό ασθενών με υπερζωκοτική συλλογή αγνώστου αιτιολογίας αποδεικνύει ότι υψηλή στάθμη τριγλυκεριδίων >110 mg/dl χαρακτηρίζει τον χυλοθώρακα, ενώ χαμηλή στάθμη τριγλυκεριδίων συνηγορεί υπέρ της παρουσίας ψευδοχυλοθώρακα.^{1,2}

➤ **ΑΙΜΑΤΟΚΡΙΤΗΣ**

Συνήθως ο αιματοκρίτης του πλευριτικού υγρού είναι πολύ χαμηλότερος απ' ό,τι θα υπέθετε κανείς βασιζόμενος στην όψη του. Όταν η τιμή του στο πλευριτικό υγρό είναι >50% σε σχέση με αυτόν του περιφερικού αίματος, ο ασθενής πάσχει από αιμοθώρακα και χρήζει άμεσης χειρουργικής αντιμετώπισης. Αν όμως ο αιματοκρίτης στο πλευριτικό υγρό είναι >1%, τότε το υγρό θεωρείται αιμορραγικό (νεοπλασία, κάκωση), ενώ όταν είναι μικρότερος δεν αξιολογείται.¹

➤ ΑΝΟΣΟΪΣΤΟΧΗΜΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ

Η βασική χρήση των ανοσοϊστοχημικών μελετών στα κύτταρα του πλευριτικού υγρού είναι η διάκριση μεταξύ του μεταστατικού αδενοκαρκινώματος και του κακοήθους μεσοθηλώματος. Όταν χρησιμοποιείται η ανοσοϊστοχημεία γι' αυτό τον σκοπό, πρέπει να χρησιμοποιηθεί μια σειρά αντισωμάτων.

Οι καλύτεροι δείκτες για το αδενοκαρκίνωμα είναι το καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA), και οι δείκτες **Leu-M1**, **B72.3**, **Ber-EP4** και **BG-8**, ενώ οι καλύτεροι δείκτες για το μεσοθηλίωμα είναι η **καλρετινίνη** και η **κυτοκερατίνη 5/6**.²

➤ ΚΑΡΚΙΝΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

Για τη διάγνωση της κακοήθους πλευρίτιδας έχουν μελετηθεί στο πλευριτικό υγρό πολυάριθμοι καρκινικοί δείκτες όπως οι **CEA**, **AFP**, **CA 15-3**, **CA 72-4**, **CA 19-9**, **CA 72-4**, **τεμάχια κυροκερατίνης 19**, **σιαλικό αντιγόνο**, **αντιγόνο επιδερμοειδούς καρκινώματος** και η **ενολάση**. Αν και οι μέσες στάθμες των περισσότερων καρκινικών δεικτών βρίσκονται αυξημένες στους ασθενείς με κακοήθη πλευρίτιδα, σε σύγκριση με όσους πάσχουν από καλοήγη πλευρίτιδα, δεν συνίσταται η χρήση τους για την εξέταση του πλευριτικού υγρού.^{2,27,28}

1.6 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΠΛΕΥΡΙΤΙΚΟΥ ΥΓΡΟΥ ΣΕ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ

1.6.1 Φυματιώδης υπερζωκοτική συλλογή

Η φυματίωση θεωρείται μία λοιμώδης νόσος οφειλόμενη στο Μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης (*Mycobacterium tuberculosis*). Χαρακτηρίζεται από το σχηματισμό κοκκιώματος με νέκρωση. Προσβάλλει κυρίως τους πνεύμονες και σπανιότερα άλλα μεμονωμένα όργανα^{1,5}.

Η επικράτηση και η ροπή της φυματίωσης σε μία κοινωνία καθορίζεται από τους επιδημιολογικούς δείκτες, οι οποίοι αφορούν αριθμούς θανάτων, νόσησης και μόλυνσης. Η **θνησιμότητα** εκφράζει τον ετήσιο αριθμό θανάτων από φυματίωση μεταξύ 100.000 ατόμων, ενώ η **επίπτωση** προσδιορίζει τον αριθμό των νέων νοσήσεων ετησίως μεταξύ 100.000 ατόμων. Ο **φυματινικός δείκτης** είναι το ποσοστό (%) των ατόμων που έχουν θετική φυματινοαντίδραση, δηλαδή των ατόμων

που έχουν μολυνθεί άσχετα αν εκδήλωσαν ή όχι νόσηση. Πιο ειδικά, ο **ετήσιος δείκτης φυματικής μόλυνσης** εκφράζει το ποσοστό (%) της ετήσιας μεταβολής του φυματινικού δείκτη και αναφέρεται πάντα στην ίδια ηλικία. Ο **ετήσιος κίνδυνος φυματικής μόλυνσης** εκφράζει το ποσοστό (%) των ατόμων που μολύνονται κατά τη διάρκεια ενός έτους¹.

Η φυματίωση για να θεωρηθεί εκριζωθείσα, θα πρέπει η μεν επίπτωση να είναι <0.1% ανά 100.000 άτομα, ο δε ετήσιος κίνδυνος μόλυνσης στο γενικό πληθυσμό <0.1%¹.

Το πλευριτικό υγρό στη φυματιώδη πλευρίτιδα είναι διαυγές, ορώδες με επίπεδα πρωτεΐνης συχνά >5 g/dl και επίπεδα LDH>500 IU/L. Το pH είναι σχεδόν πάντοτε <7.40 και οι τιμές της γλυκόζης είναι χαμηλότερες από 60 mg/100ml σε ποσοστό μόνο 20-50% των περιπτώσεων. Τα λευκά αιμοσφαίρια είναι αυξημένα ενώ τα μεσοθηλιακά κύτταρα είναι ελάχιστα. Η κυτταρολογική εξέταση είναι θετική. Ασθενείς με φυματιώδη πλευρίτιδα έχουν συνήθως τιμή ADA>40 U/L και τιμή ιντερφερόνης-γ >10 U/mL.^{5-8,14-16,18}

1.6.2 **Κακοήθεια**

Οι κακοήθεις υπεζωκοτικές νόσοι προκαλούνται κυρίως από αιματογενείς ή λεμφογενείς μεταστάσεις, από εξωθωρακικά πρωτοπαθή νεοπλάσματα ή από άμεση επέκταση του όγκου από παρακείμενα όργανα. Η πλειονότητα των υπεζωκοτικών όγκων δεν είναι πρωτοπαθείς, αλλά αντιπροσωπεύουν μεταστάσεις ή άμεση επέκταση από παρακείμενα όργανα. Οι πιο συχνοί πρωτοπαθείς όγκοι είναι το βρογχογενές καρκίνωμα (10-50%) και ο καρκίνος του μαστού (20-50%), ενώ ακολουθούν τα λεμφώματα και ο καρκίνος των ωοθηκών. Κάθε κακοήθης όγκος μπορεί δυνητικά να δώσει μεταστάσεις στον υπεζωκότα ωστόσο, σε ποσοστό 20-50% των περιπτώσεων δεν μπορεί να εντοπιστεί. Υπεζωκοτική συλλογή αναπτύσσεται σε ποσοστό 8-15% όλων των ασθενών με βρογχογενές καρκίνωμα, ποσοστό που μπορεί να φτάσει το 27% σε μικροκυτταρικά και το 50% σε μεταστατικά καρκινώματα. Σε ποσοστό 43% η υπεζωκοτική συλλογή αποτελεί το πρώτο σύμπτωμα των μεταστάσεων σε ασθενείς με πρωτοπαθή καρκίνο του μαστού ενώ ένα ποσοστό 5-33% των κακοηθών λεμφωμάτων συνοδεύονται από υπεζωκοτική συλλογή¹.

Το πλευριτικό υγρό είναι ορώδες και στο 90% των περιπτώσεων η συγκέντρωση των λευκωμάτων είναι >3,0 g/dl. Η γλυκόζη σπάνια έχει τιμή <60mg/100mL ενώ το pH μπορεί να είναι <7,30. Ο αριθμός των κυττάρων στο 40% των περιπτώσεων είναι 1000 λευκά αιμοσφαίρια. Το καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο (CEA) κυμαίνεται σε στάθμη μεγαλύτερη των 10ng/mL. Τα επίπεδα της αμυλάσης είναι αυξημένα σε ασθενείς με κακοήγη υπεζωκοτική συλλογή ενώ η συγκέντρωση της γαλακτικής δεϋδρογενάσης (LDH) είναι >250 mU/mL.^{5,11,14-17}

1.6.3 Συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια

Η συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια είναι η πιο συχνή αιτία υπεζωκοτικών συλλογών. Το πλευριτικό υγρό είναι ορώδες και τα επίπεδα των λευκωμάτων είναι χαμηλότερα από 3.0 g/dL. Ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων είναι χαμηλότερος από 1000/μl. Το pH έχει τιμή παρόμοια με αυτή του αίματος, ενώ οι τιμές της γλυκόζης είναι φυσιολογικές. Η LDH είναι χαμηλότερη από 200U/L και η χοληστερόλη χαμηλότερη από 60mg/dL.^{5,12-14,19}

1.6.4 Παραπνευμονική συλλογή

Παραπνευμονική χαρακτηρίζεται η συλλογή υγρού στον υπεζωκοτικό χώρο που συνοδεύει βακτηριδιακή πνευμονία, απόστημα ή βρογχεκτασίες. Οι βακτηριδιακές πνευμονίες σε ένα ποσοστό 40% συνοδεύονται από τη συλλογή υγρού στη σύστοιχη υπεζωκοτική κοιλότητα. Οι συλλογές αυτές αποτελούν το συχνότερο αίτιο των πλευρίτιδων και αντιμετωπίζονται με χορήγηση αντιβίωσης. Στους ενήλικες, ανευρίσκονται συχνά αναερόβια βακτήρια ή συνδυασμός αερόβιων και αναερόβιων βακτηρίων.¹

Κατά τη διαδρομή μας συλλογής διακρίνεται ένα αρχικό εξιδρωματικό στάδιο, στο οποίο το υγρό χαρακτηρίζεται από χαμηλή τιμή LDH (<500 IU/L) και πολυμορφοπύρηνων, ενώ η τιμή της γλυκόζης και του pH δεν παρουσιάζουν ιδιαίτερη απόκλιση από τα φυσιολογικά. Εάν δεν εφαρμοσθεί έγκαιρα η κατάλληλη αντιβίωση, τότε επεκτείνεται η λοίμωξη στον υπεζωκότα και μικρόβια εισχωρούν στον υπεζωκοτικό χώρο. Ακολουθεί η δεύτερη φάση, η ινοπυώδης, που χαρακτηρίζεται από μεγάλη συλλογή υγρού με άφθονα πολυμορφοπύρηννα, ινική, κυτταρικά συγκρίματα, χαμηλή τιμή γλυκόζης-pH και υψηλή LDH. Η εμφάνιση

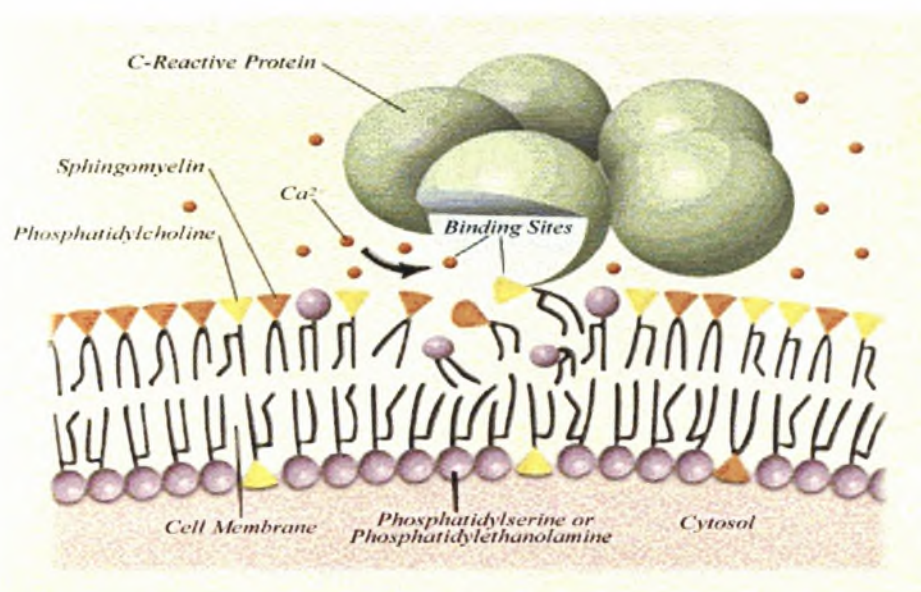
(θολό, παχύ, νεκρωτικό) και η δυσσομία (λόγω αναερόβιας λοίμωξης) σηματοδοτούν την παρουσία εμπύματος. Στη φάση αυτή, το υγρό χαρακτηρίζεται από χαμηλή τιμή pH<7.2 και γλυκόζης (<35mg/dL). Τα επίπεδα LDH είναι υψηλότερα από 1000IU/L ενώ ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων είναι >10.000/μL.^{1,8,10,14-16}

1.7 C ANΤΙΑΔΡΩΣΑ ΠΡΩΤΕΪΝΗ (CRP)

Η CRP είναι πρωτεΐνη οξείας φάσης και χρησιμοποιείται ευρέως ως δείκτης φλεγμονής. Συντίθεται στα ηπατοκύτταρα σε απόκριση ποικίλων παραγόντων όπως η ιντερλευκίνη 1 (IL-1)^{20,21}.

Ανιχνεύεται σε όλα τα άτομα ανεξάρτητα φύλου και ηλικίας και δεν έχει περιγραφεί μέχρι τώρα συγγενής έλλειψή της. Δεν περνάει τον εμβρυοπλακουντιακό φραγμό και δεν ανιχνεύεται στο μητρικό γάλα. Στους ορούς ενηλίκων η ποσότητά της κυμαίνονταν από 0,0068 έως 8,2 mg/l ενώ στα παιδιά της σχολικής ηλικίας βρέθηκε 40% μικρότερη. Στα νεογνά τα επίπεδά της ήταν ακόμη πιο χαμηλά (0,01-0,35 mg/l) ενώ οι μεγαλύτερες συγκεντρώσεις που παρατηρήθηκαν σε ασθενείς ήταν μέχρι 500 mg/l²¹.

Μπορεί να συνδεθεί με μια ποικιλία ουσιών όπως τα φωσφολιπίδια, τα γαλακτοζιδικά πολυμερή και διάφορα πολυκατιόντα, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του συμπληρώματος, παρουσία του οποίου μπορεί να προάγει την φαγοκυττάρωση (Εικόνα 2)^{20,21}.

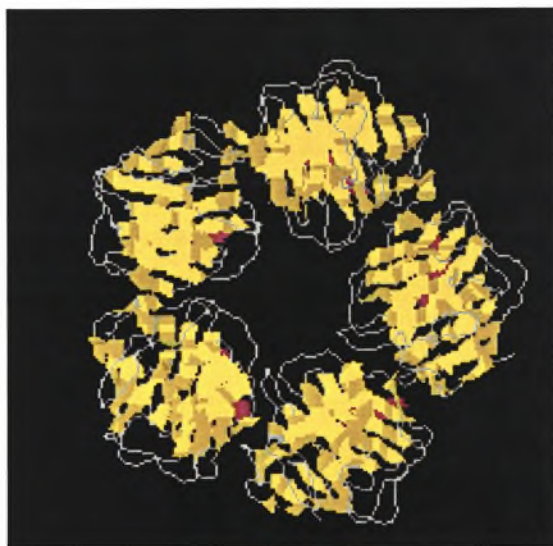


Εικόνα 2. Σχηματική αναπαράσταση αλληλεπίδρασης CRP με τα φωσφολιπίδια
(myweb.ncku.edu.tw/.../sp4/sub_proj_42.htm.2005)

Επιπλέον, ενεργοποιεί τα μεγάλα κοκκιώδη λεμφοκύτταρα που δρουν φονικά για ξένους εισβολείς ενώ έχει την ικανότητα να προάγει αντιδράσεις συγκόλλησης και διόγκωσης του ελύτρου των μικροβίων. Άλλες προ-φλεγμονώδεις ενέργειές της περιλαμβάνουν την επαγωγή των φλεγμονωδών κυτταροκινών^{20,21}.

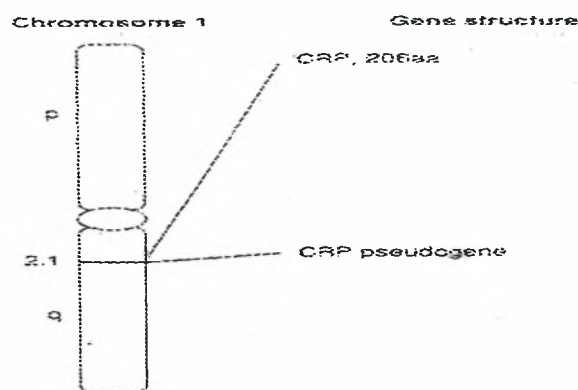
1.7.1 Δομή της CRP και του γονιδίου της

Η CRP του ανθρώπου που απομονώθηκε έχει μοριακό βάρος 105.500 Daltons. Κρυσταλλογραφική ανάλυσή της έδειξε ότι αποτελείται από πέντε υπομονάδες που η καθεμία συνίσταται από 206 αμινοξέα. Οι υπομονάδες αυτές είναι κυκλικά και συμμετρικά τοποθετημένες στις κορυφές ενός κανονικού πενταγώνου. Είναι γλυκοζυλιωμένες και δεν συνδέονται μεταξύ τους με ομοιοπολικούς δεσμούς (Εικόνα 3)²¹.



Εικόνα 3. Τριτοταγής δομή της CRP
(www.case.edu/med/biochemistry/home.html.2004)

Ο άνθρωπος έχει ένα αντίγραφο του γονιδίου της CRP το οποίο βρίσκεται στον επιμήκη βραχίονα του χρωμοσώματος 1, και ειδικότερα στην περιοχή 1q21-q23. Το γονίδιο περιέχει δύο εξώνια διαχωριζόμενα από ένα ιντρόνιο, ενώ έχει μέγεθος 2,5 kb (Εικόνα 4)³⁵⁻³⁸.



Εικόνα 4. Το ανθρώπινο γονίδιο της CRP

(www.chem.uwec.edu/.../adrienne/PAGE2.HTM,2002)

1.7.2 Διαγνωστική αξία της CRP

Ο προσδιορισμός της CRP σαν πληθυσμιακή δοκιμασία για οργανική πάθηση μπορεί να μας αποκλείσει ένα μεγάλο αριθμό νόσων, όταν βρίσκεται σε φυσιολογικά επίπεδα. Μια αύξησή της όμως, μας προτρέπει σε λεπτομερέστερη κλινική και εργαστηριακή έρευνα για εξακρίβωση υποκείμενης νόσου²¹.

Στη ρευματοειδή αρθρίτιδα τα υψηλά επίπεδά της αντανακλούν την ενεργότητα της νόσου, ενώ όταν η νόσος είναι ανενεργός τα επίπεδα της CRP είναι φυσιολογικά ή ελαφρά αυξημένα²¹.

Στο συστηματικό ερυθματώδη λύκο η τιμή της CRP είναι φυσιολογική ή αυξάνει μέτρια ακόμα και σε σοβαρή ενεργότητα της νόσου. Αν όμως ένας ασθενής με συστηματικό ερυθματώδη λύκο αναπτύξει μικροβιακή λοίμωξη, τότε η αύξηση της CRP είναι πολύ μεγάλη²¹.

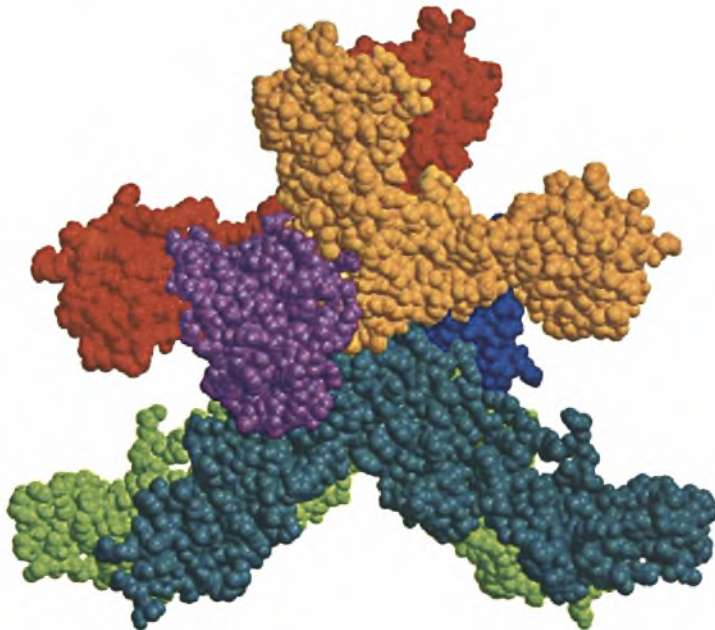
Ο προσδιορισμός της CRP στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (ENY) και στον ορό του αίματος είναι χρήσιμος στη διαφορική διάγνωση βακτηριακής από ιογενή μηνιγγίτιδα. Αύξηση της CRP παρατηρείται στις μικροβιακές μηνιγγίτιδες και όχι στις ιογενείς²¹.

Σημαντική είναι επίσης η συμβολή της σε όλους τους ασθενείς με έμφραγμα του μυοκαρδίου, όπου παρατηρούνται αυξημένα επίπεδά της, αλλά και σε λευχαιμικούς ασθενείς στους οποίους υπάρχει υποψία λοίμωξης²¹.

Η CRP επομένως, αποτελεί ένα χρήσιμο και ευαίσθητο δείκτη για τη διάγνωση και τη θεραπευτική αντιμετώπιση λοιμώξεων, φλεγμονών, νεοπλασιών και επιπλοκών τους.

1.7.3 INTEΡΛΕΥΚΙΝΗ 6 (IL-6)

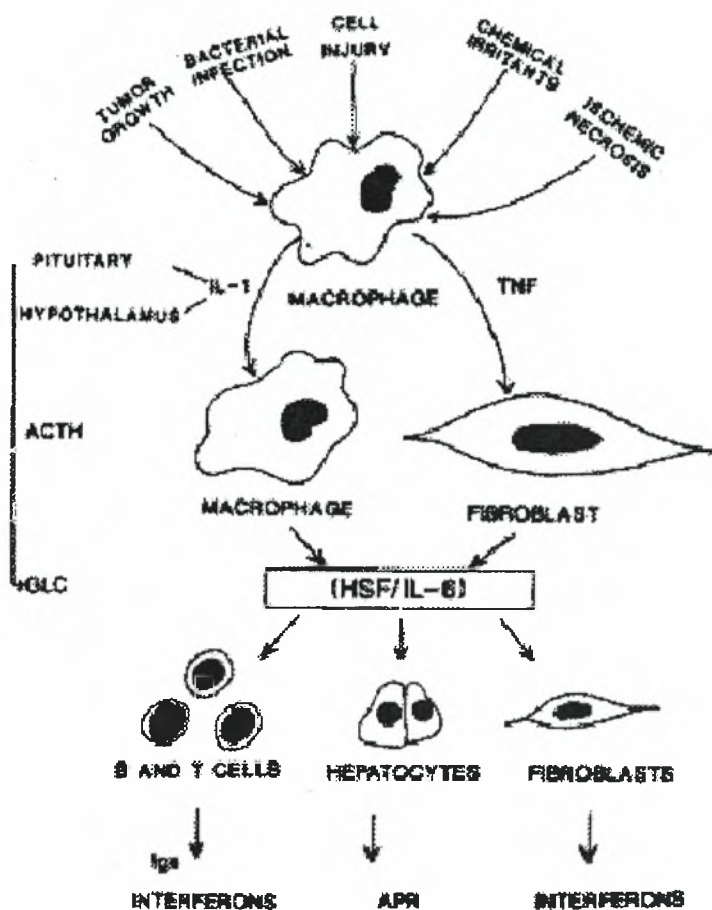
Η IL-6 είναι κυτταροκίνη μοριακού βάρους 26 kDa που συντίθεται από τα μονοκύτταρα φαγοκύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τους ινοβλάστες και άλλα κύτταρα, υπό την επίδραση της IL-1 και, σε μικρότερο βαθμό, του TNF. Ο υποδοχέας της θεωρείται ότι συνίσταται από δυο υπομονάδες με μοριακό βάρος 80 και 130 kDa αντίστοιχα (*Εικόνα 5*)²⁰.



Εικόνα 5. Δομή του υποδοχέα της IL-6

(www.csiro.au/images/mediaReleases/Interleukin.jpg, 2003)

Είναι ο κυριότερος αυξητικός παράγοντας των ενεργοποιημένων Β-κυττάρων καθώς και άλλων λεμφικών και μυελικών κυττάρων. Η κυριότερη, ωστόσο, δράση της, σε σχέση με την παθογένεια της σήψης, είναι ότι διεγείρει τα ηπατοκύτταρα προς την παραγωγή των πρωτεϊνών οξείας φάσης. Ακόμη, η αντιφλεγμονώδης δράση της οφείλεται στην αναστολή της παραγωγής των άλλων κυτταροκινών, όπως του TNF, την οποία έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί (*Εικόνα 6*)^{20,21}.

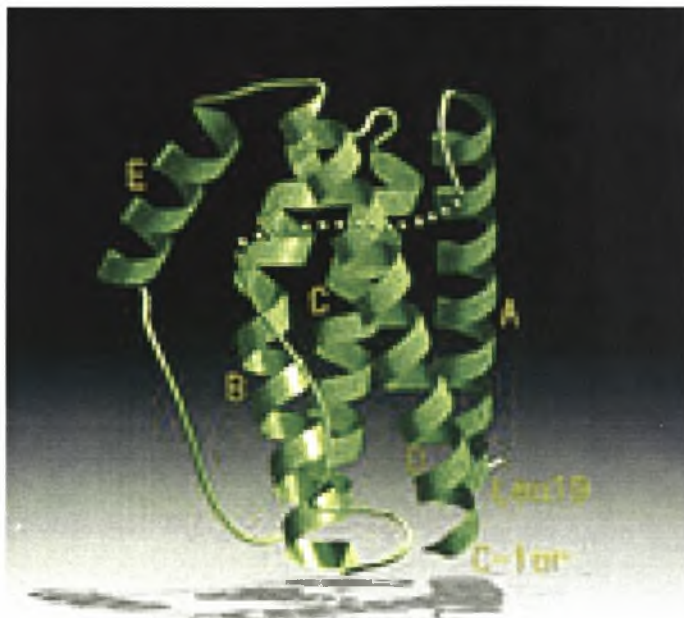


Εικόνα 6. Έκκριση της IL-6 και πιθανές δράσεις της
(www.bio.davidson.edu/.../Sole/myfavprotein.htm.2001)

1.7.4 Δομή της IL-6 και του γονιδίου της

Η IL-6 του ανθρώπου που απομονώθηκε και αναλύθηκε κρυσταλλογραφικά βρέθηκε ότι είναι ένα μονομερές 184 αμινοξέων (Εικόνα 7)³⁹.

Ο γονιδιακός τόπος (locus) βρίσκεται στον επιμήκη βραχίονα του ανθρώπινου χρωμοσώματος 7, και ειδικότερα στην περιοχή 7q21³⁹.



Εικόνα 7. Τριτοταγής δομή της IL-6

(http://www.nature.com/emboj/journal/v16/n5/fig_tab/7590092ft.html.2004)

1.7.5 Διαγνωστική αξία της IL-6

Η IL-6 έχει βρεθεί ότι συμμετέχει στη παθογένεια ορισμένων συστηματικών αυτοάνοσων νοσημάτων. Τα επίπεδά της παρατηρήθηκαν αυξημένα στον ορό ασθενών με ενεργό ρευματοειδή αρθρίτιδα και ορισμένων ασθενών με συστηματικό ερυθρεμάτωδη λύκο. Επίσης, αυξημένες συγκεντρώσεις IL-6 έχουν διαπιστωθεί στο αρθρικό υγρό ασθενών με ρευματοειδή αρθρίτιδα καθώς και άλλες φλεγμονώδεις αρθρίτιδες. Μελέτες που γίνανε σε νεοπλασματικά κύτταρα ποικίλων όγκων, όπως στον καρκίνο του τράχηλου της μήτρας, της ουροδόχου κύστης καθώς και στη νόσο του Castleman δείξαν παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων IL-6. Ο προσδιορισμός των επιπέδων της στο πλευριτικό υγρό, έδειξε υψηλά επίπεδά της σε ασθενείς με φυματιώδη πλευρίτιδα²¹.

2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Σκοπός της εργασίας

Σκοπός της εργασίας αυτής ήταν να εκτιμηθεί κατά πόσον τα επίπεδα της IL-6 και της CRP στο πλευριτικό υγρό και στον ορό θα μπορούσαν να συμβάλλουν στη διαφοροδιάγνωση και παθογένεση των υπεζωκοτικών συλλογών.

2.1 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Συλλογή και διατήρηση των δειγμάτων

Από κάθε ασθενή λαμβάνονταν το Π.Υ. της πρώτης παρακέντησης και ταυτόχρονα 10 mL αίματος τα οποία υποβάλλονταν αμέσως σε φυγοκέντρηση στις 1500 rpm (στροφές) για 10 λεπτά στους 4 °C. Κατόπιν τοποθετούνταν στους -80 °C έως τη στιγμή της ανάλυσής τους.

Ασθενείς

Μελετήθηκαν συνολικά 124 ασθενείς (89 άνδρες και 35 γυναίκες) που νοσηλεύτηκαν στην Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική κλινική του Π.Π.Γ.Ν.Α. για διαγνωστική διερεύνηση υπεζωκοτικής συλλογής κατά το χρονικό διάστημα Φεβρουάριος 2004 έως Απρίλιος 2005. Σε όλους τους ασθενείς συμπληρώθηκε κοινό πρωτόκολλο (Εικόνα 8) στο οποίο καταγράφηκαν τα ακόλουθα:

- 1- Η αιτία εισόδου, ο εντοπισμός της υπεζωκοτικής συλλογής (Αριστερά, Δεξιά, Άμφω) και η τελική διάγνωση.
- 2- Η βιοψία υπεζωκότα για τις περιπτώσεις όπου υπήρχε ένδειξη.
- 3- Η κυτταρολογική του πλευριτικού υγρού.
- 4- Η μικροβιολογική εξέταση του πλευριτικού υγρού.
- 5- Η καλλιέργεια του πλευριτικού υγρού.
- 6- Η γενική αίματος (αριθμός και τύπος λευκών αιμοσφαιρίων, Τ.Κ.Ε.).
- 7- Ο προσδιορισμός του σακχάρου, LDH, ολ. λευκωμάτων και ολικής ADA στο πλευριτικό υγρό και το αίμα.

Οι ασθενείς ταξινομήθηκαν στις εξής ομάδες σύμφωνα με την τελική διάγνωση (Πίνακας 3):

Πίνακας 3. Αιτιολογία υπεζωκοτικών συλλογών

| Αίτια | Αριθμός ασθενών | % |
|------------------------|-----------------|------|
| Διυδρώματα (ΣΚΑ) | 27 | 21.8 |
| Εξιδρώματα | 97 | 78.2 |
| Παραπνευμονική συλλογή | 15 | 12.1 |
| Φυματίωση | 25 | 20.2 |
| Κακοήθεια | 57 | 46 |
| Καρκίνος του πνεύμονα | 28 | 22.6 |
| Άλλα | 29 | 23.4 |

Φυματίωση: 25 ασθενείς (17 άνδρες και 8 γυναίκες) ηλικίας 19 έως 84 ετών (μέση ηλικία $55 \pm 16,51$ έτη).

Η τελική διάγνωση τέθηκε με την απομόνωση του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης: α) στη καλλιέργεια πτυέλων και του πλευριτικού υγρού β) με τη χρώση Zielh Neelsen και γ) με βιοψία υπεζωκότα.

Κακοήθεια: 57 ασθενείς (39 άνδρες και 18 γυναίκες) ηλικίας 27 έως 92 ετών (μέση ηλικία 70 ± 11 έτη).

Η διάγνωση τέθηκε σε όλους τους ασθενείς με την θετική κυτταρολογική εξέταση του πλευριτικού υγρού.

Παραπνευμονική συλλογή: 15 ασθενείς (12 άνδρες και 3 γυναίκες) ηλικίας 21 έως 86 ετών (μέση ηλικία 50 ± 22 έτη).

Σε όλες τις περιπτώσεις το πλευριτικό υγρό παρουσίαζε επικράτηση των πολυμορφοπύρηνων λευκοκυττάρων. Η καλλιέργεια του πλευριτικού υγρού για κοινά βακτηρίδια ήταν αρνητική σε όλους τους ασθενείς.

Συμφορητική Καρδιακή Ανεπάρκεια (Διύδρωμα): 27 ασθενείς (21 άνδρες και 6 γυναίκες) ηλικίας 46 έως 88 ετών (μέση ηλικία 70 ± 9 έτη).

Η διάγνωση βασίστηκε στο ιστορικό των ασθενών, στην κλινική εικόνα και τα αντικειμενικά ευρήματα της συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας, καθώς και τα εργαστηριακά ευρήματα του πλευριτικού υγρού που το χαρακτήριζαν σαν διύδρωμα.

Προσδιορισμός CRP & IL-6 στο πλευριτικό υγρό και στο αίμα ασθενών με
υπεζωκοτική συλλογή

Α/α:

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ: _____

ΔΕΙΓΜΑ: Πλευριτικό υγρό Αίμα

ΚΛΙΝΙΚΗ:

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ:

ΗΛΙΚΙΑ:

ΚΑΠΝΙΣΜΑ (πακέτα/ημέρα Χ έτη):

ΑΙΤΙΑ ΕΙΣΟΔΟΥ:

ΥΠΕΖ. ΣΥΛΛΟΓΗ: ΔΕΞΙΑ ΑΡΙΣΤΕΡΑ

ΜΑΝΤΟΥΧ:

ΔΙΑΓΝΩΣΗ:

ΤΡΟΠΟΣ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ: Βιοψία υπεζωκότα
Κυτταρολογική πλ. Υγρού
Μικροβιολογική πλ. Υγρού

ΓΕΝΙΚΗ ΑΙΜΑΤΟΣ: Λευκά αιμοσφαίρια (αριθμός):

Τύπος λευκών αιμοσφαιρίων:

ΤΚΕ.....

ΑΙΜΑ:

Σάκχαρο:

LDH:

Λευκώματα:

Ολική ADA (ορού):

ΠΛΕΥΡΙΤΙΚΟ ΥΓΡΟ:

Σάκχαρο:

LDH:.....

Λευκώματα:

Ολική ADA πλ. υγρού:

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:

Εικόνα 8. Πρωτόκολλο για τη διάγνωση υπεζωκοτικής συλλογής.

2.2 ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ CRP

Ο προσδιορισμός της CRP έγινε με νεφελομετρία.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η νεφελομετρία είναι μια μέθοδος μέτρησης των διαφόρων πρωτεϊνών στα βιολογικά υγρά. Τα φαινόμενα, που παρεμβάλλονται, για να επιτευχθεί αυτή η μέτρηση, είναι : (α) η αντίδραση της πρωτεΐνης, ως αντιγόνου, με το αντίστοιχο αντισώμα και (β) ο σκεδασμός του φωτός μετά από την πρόσπτωσή του στα σχηματιζόμενα συμπλέγματα αντιγόνου-αντισώματος²⁰.

Κατά την αντίδραση αντιγόνου-αντισώματος σχηματίζονται πολλαπλοί μη ομοιοπολικοί δεσμοί (όπως οι δυνάμεις Van der Waals, οι υδρόφοβοι δεσμοί, οι δυνάμεις Coulomb και οι δεσμοί υδρογόνου) μεταξύ αντιγόνου και της αντίστοιχης αλληλουχίας αμινοξέων της υπερμεταβλητής περιοχής του αντισώματος, η οποία καθορίζει την ειδικότητα της σύνδεσης. Σύμφωνα με τις ιδιότητες αυτών των δεσμών φαίνεται ότι η σύνδεση αντιγόνου-αντισώματος επηρεάζεται σημαντικά απ' το PH, τη θερμοκρασία και κυρίως, από την ιοντική ισχύ του μέσου, εντός του οποίου γίνεται η αντίδραση²⁰.

Η διαφορά μεταξύ ελκτικών και απωθητικών δυνάμεων ενός μονήρους δεσμού αντιγόνου-αντισώματος καθορίζει τη δύναμη αυτού του δεσμού και φέρεται ως χημική συγγένεια του αντισώματος. Η χημική συγγένεια ενός αντισώματος, ειδικού έναντι ενός αντιγονικού μορίου που φέρει ένα και μοναδικό αντιγονικό καθοριστή, ορίζεται από εκείνη τη συγκέντρωση του αντιγόνου, η οποία επιτρέπει, κάτω από συνθήκες δυναμικής ισορροπίας του συστήματος, η μισή ποσότητα του αντισώματος να είναι συνδεδεμένη με το αντιγόνο και η άλλη μισή να είναι ελεύθερη. Όσο μικρότερη είναι, δηλαδή, η συγκέντρωση του αντιγόνου που επιτρέπει τη σύνδεση της μισής ποσότητας του αντισώματος του συστήματος, τόσο υψηλότερη θεωρείται η χημική συγγένεια του τελευταίου²⁰.

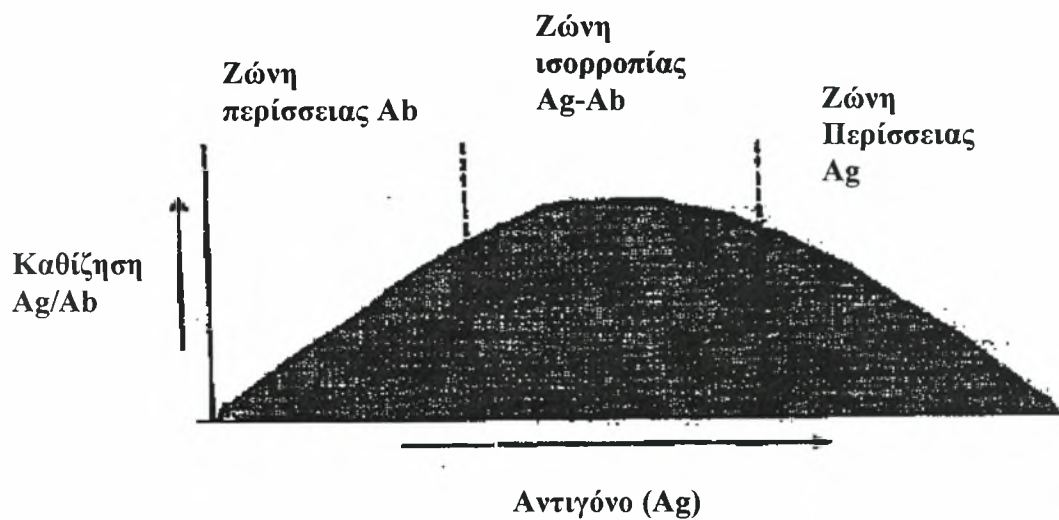
Η μέτρηση του σκεδαζόμενου φωτός επιτυγχάνεται από ειδικά όργανα, τα νεφελόμετρα. Τα κύρια χαρακτηριστικά της διάταξης των νεφελόμετρων έχουν ως εξής²⁰:

A) Φωτεινή πηγή υψηλής έντασης (συνήθως λαμπτήρες χαλαζία-αλογόνου ή ξένου ή πηγές LASER)

Β) Οπτικά συστήματα επιλογής χαμηλού μήκους κύματος (>400-500 nm) προσπίπτοντος φωτός αλλά και συλλογής του ίδιου μήκους κύματος μετά το σκεδασμό.

Γ) Μικρή απόσταση μεταξύ σημείου εκπομπής του σκεδαζομένου φωτός και ανιχνευτή.

Δ) Γωνία ανίχνευσης μικρότερη των 45° (πρόσθιος σκεδασμός). Σε νεφελόμετρα, με τα οποία επιδιώκεται ο προσδιορισμός των μοριακών χαρακτήρων των σκεδαζόμενων σωματιών, ο ανιχνευτής είναι κινητός.



ΚΑΜΠΥΛΗ ΝΕΦΕΛΟΜΕΤΡΙΑΣ

| ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ | ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ |
|--|---|
| <ol style="list-style-type: none"> Υψηλή ακρίβεια Επαναληψιμότητα Ταχύτητα των μετρήσεων Ευαισθησία Ευκολία στη μέτρηση με αναλυτές | <ol style="list-style-type: none"> Παρεμβολή ενδογενών η εξογενών ουσιών παράγοντας μη ειδικό σκεδασμό (λιποπρωτεΐνες, χυλομικρά κ.α) Περιοχή μέτρησης στην καμπύλη (ζώνη περίσσειας του αντι σώματος) Ρευματοειδείς παράγοντες (ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω αύξησης μη αντιγονικών ανοσοσυμπλεγμάτων) |

2.3 ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ IL-6

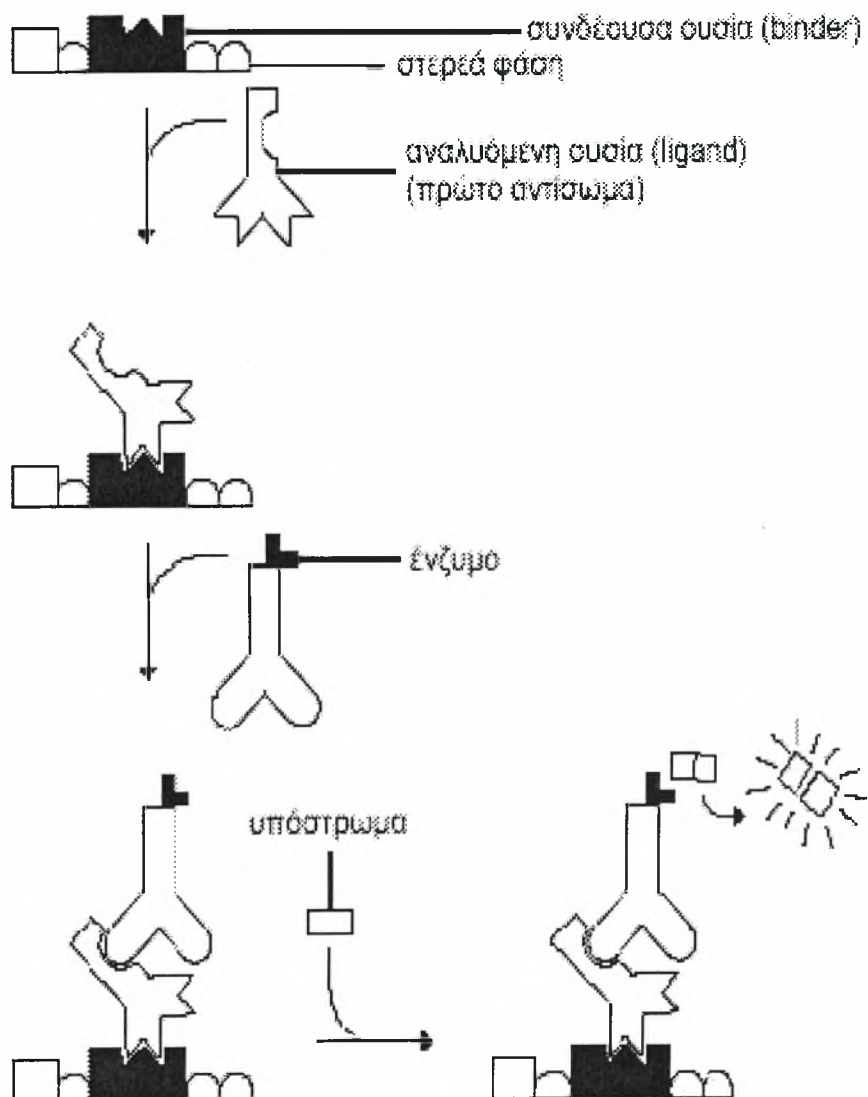
Ο προσδιορισμός της IL-6 έγινε με ELISA kit (BIOSOURCE EUROPE S.A.)

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Ο ποσοτικός προσδιορισμός της IL-6 επιτυγχάνεται με την χρήση της ανοσοπροσροφητικής ανάλυσης στερεάς φάσεως με σύνδεση ενζύμου (Enzyme-linked immunoabsorbent assays, *ELISA*)²⁰.

Η βασική αρχή της μεθόδου (**Εικόνα 9**) στηρίζεται σε ένα ολιγοκλωνικό σύστημα, στο οποίο μονοκλωνικά αντισώματα στοχεύουν συγκεκριμένα επίτοπα του αντιγόνου. Τα αντιγόνα επωάζονται σε ισότονο διάλυμα αλάτων μέσα στα βοθρία της μικροπλάκας, με αποτέλεσμα να προσδένονται στα παγιδευμένα αντισώματα (**MAbsI**). Το ελεύθερο αντιγόνο απομακρύνεται με πλύση. Το πρώτο αντίσωμα (**MAbI**) ανιχνεύεται από ένα δεύτερο αντίσωμα (**MAbII**) σημασμένο με υπεροξειδάση (**HRP**). Ακολουθεί επώαση κατά την οποία δημιουργείται το σύμπλοκο της μορφής: *παγιδευμένο MAbI·αντιγόνο - MAbII·HRP* και στη συνέχεια η μικροπλάκα πλένεται, ώστε να απομακρυνθούν τα μη προσδεμένα σημασμένα αντισώματα²⁰.

Το σημασμένο αντίσωμα καθίσταται ορατό με την προσθήκη χρωμογόνου υπό μορφή διαλύματος (**TMB+H₂O₂**), επάνω στο οποίο δρα η υπεροξειδάση για να παραχθεί ένα έγχρωμο τελικό προϊόν. Ακολουθεί επώαση και τερματισμός της αντίδρασης με την προσθήκη H₂SO₄. Το ποσό του υποστρώματος που έχει καταναλωθεί, προσδιορίζεται εκτιμώντας την ποσότητα του έγχρωμου τελικού προϊόντος με σάρωση της οπτικής πυκνότητας του πλακιδίου στα 450nm. Η τιμή της απορρόφησης που καταγράφεται είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του αντιγόνου (**IL-6**) στο δείγμα²⁰.



Εικόνα 9: Διαγραμματική παράσταση της ELISA
(Αναστάσιος Ε. Γερμενής, Διαγνωστική Ανοσολογία,σελ.16)

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

❖ ΒΑΣΙΚΟΙ ΟΡΙΣΜΟΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Ευαισθησία: Το ποσοστό των ασθενών που έχουν τιμές έξω από το διάστημα αναφοράς.

Η ευαισθησία δίνεται από τον τύπο:

$$\text{Ευαισθησία} = \frac{A\Theta}{A\Theta + \Psi A} \times 100$$

όπου $A\Theta$ = Αληθώς θετικά και ΨA = Ψευδώς αρνητικά. Ο παραπάνω τύπος εκφράζει την ευαισθησία (για μία συγκεκριμένη τιμή αναφοράς), ως το ποσοστό των περιστατικών (ασθενών) που δίνουν θετικό αποτέλεσμα.

Ειδικότητα: Το ποσοστό των ατόμων που δεν έχουν την ασθένεια που μας ενδιαφέρει και εμπίπτουν στο διάστημα.

Η ειδικότητα δίνεται από τον τύπο:

$$\text{Ειδικότητα} = \frac{A\Lambda}{A\Lambda + \Psi\Theta} \times 100$$

όπου $A\Lambda$ = Αληθώς αρνητικά και $\Psi\Theta$ = Ψευδώς θετικά. Ο παραπάνω τύπος εκφράζει την ειδικότητα, ως το ποσοστό των υγιών που δίνουν αρνητικό αποτέλεσμα με την τιμή που επιλέχθηκε.

Η ιδανική μέθοδος βιοχημικής ανάλυσης για μια συγκεκριμένη ανάλυση είναι αυτή που έχει ευαισθησία και ειδικότητα ίση με 100%.

ROC ανάλυση: απεικονίζει τη σχέση ευαισθησίας και ειδικότητας υπό μορφή καμπύλης (καμπύλη ROC). Στηρίζεται στην αρχή ότι ο αριθμός των $\Psi\Theta$ αποτελεσμάτων είναι συνάρτηση της ευαισθησίας. Όσο αυξάνει η ευαισθησία, τόσο αυξάνει και ο αριθμός των $\Psi\Theta$ αποτελεσμάτων.

Για κάθε μέθοδο υπάρχει ένα όριο ευαισθησίας που όταν ξεπεραστεί, ο αριθμός των $\Psi\Theta$ αποτελεσμάτων γίνεται ανεπίτρεπτα μεγάλος. Οι καμπύλες ROC μας επιτρέπουν να παρακολουθούμε τη βελτιστοποίηση των μεθόδων μας όσον αφορά στα χαρακτηριστικά της ευαισθησίας και ειδικότητας²².

3.1 CRP

Τα αποτελέσματα της **CRP** καταγράφονται περιληπτικά στους πίνακες 4, 5, 6, 7 και 8 και αναλυτικότερα στις εικόνες 10, 11 και 12. Η στατιστική ανάλυση έγινε με το πρόγραμμα Prism 4.0 και η ROC ανάλυση με το πρόγραμμα MedCalc.

Η **CRP** του *πλευριτικού υγρού* ασθενών με *παραπνευμονική συλλογή* ήταν σε υψηλότερες τιμές ($\bar{X}=12.25$ mg/dl) σε σχέση με τις τιμές των ασθενών με φυματίωση ($\bar{X}=4.24$ mg/dl), με κακοήθεια ($\bar{X}=2.78$ mg/dl) και με συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια ($\bar{X}=0.84$ mg/dl) (Πίνακας 4, Εικόνα 10). Οι διαφορές ήταν στατιστικά σημαντικές ($p<0.0001$). Σύμφωνα με την ROC ανάλυση με cut off > 5.3 mg/dl η ευαισθησία είναι 100 % και η ειδικότητα 88.4 % (Πίνακας 5).

Οι τιμές της **CRP** του *ορού* στις ίδιες ομάδες βρέθηκαν σε υψηλότερα επίπεδα στους ασθενείς με *παραπνευμονική συλλογή* ($\bar{X}=24.17$ mg/dl) σε σχέση με τις τιμές των υπολοίπων ασθενών (φυματίωση $\bar{X}=9.04$ mg/dl, κακοήθεια $\bar{X}=7.34$ mg/dl, και συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια $\bar{X}=2.22$ mg/dl – Πίνακας 5, Εικόνα 11). Όλες οι διαφορές ήταν στατιστικά σημαντικές ($p<0.0001$). Με cut off > 10.1 mg/dl η ευαισθησία 100 % και η ειδικότητα 78.9 % (Πίνακας 6).

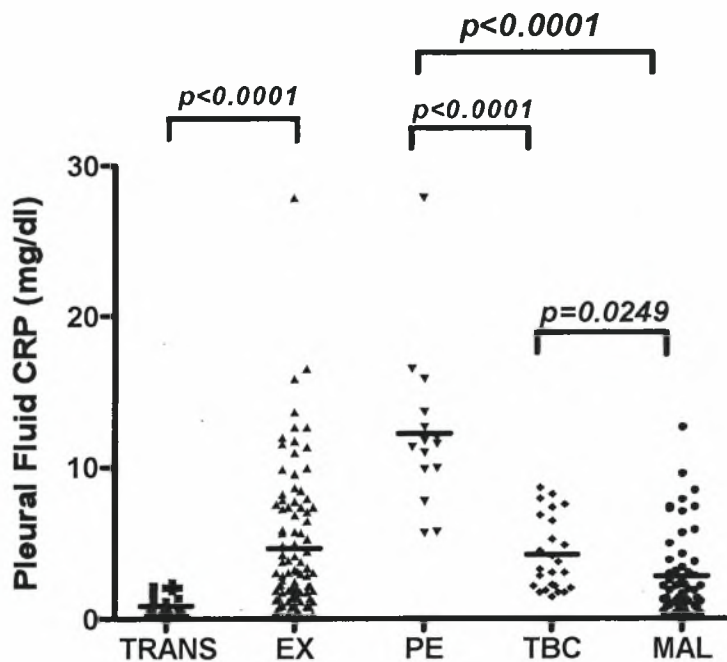
Η τιμή του *πηλίκου* της **CRP** του *πλευριτικού υγρού* προς τη τιμή του *ορού* στις ομάδες που μελετήθηκαν είναι: Παραπνευμονική συλλογή $\bar{X}=0.53$ mg/dl, φυματίωση $\bar{X}=0.53$ mg/dl, κακοήθεια $\bar{X}=0.50$ mg/dl και συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια $\bar{X}=0.50$ mg/dl (Πίνακας 7, Εικόνα 12). Όλες οι διαφορές ήταν μη στατιστικά σημαντικές (NS).

| | TRANS | EXUD | PE | TBC | MAL |
|-----------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| CRP ΠΥ mg/dl | 0.84 ± 0.76 (0.1 – 2.4) | 4.62 ± 4.59 (0.1 – 27.9) | 12.25 ± 5.32 (5.7–27.9) | 4.24 ± 2.40 (1.5 – 8.7) | 2.78 ± 2.75 (0.1–12.70) |

Πίνακας 4. Μέσες τιμές και σταθερές αποκλίσεις

| | Cut off | Ευαισθησία % | Ειδικότητα % |
|----------|------------|--------------|--------------|
| CRP Π.Υ. | >5.3 mg/dl | 100 | 88.4 |

Πίνακας 5. Cut off, ευαισθησία και ειδικότητα, σύμφωνα με τη ROC analysis.



Εικόνα 10. Τιμές CRP πλευριτικού υγρού ταξινομημένες κατά νόσημα.

TRANS = Διόδρωμα (Συμφορητική Καρδιακή Ανεπάρκεια), EX= Εξίδρωμα,

PE = Παραπνευμονική συλλογή, TBC = Φυματίωση, MAL = Κακοήθεια.

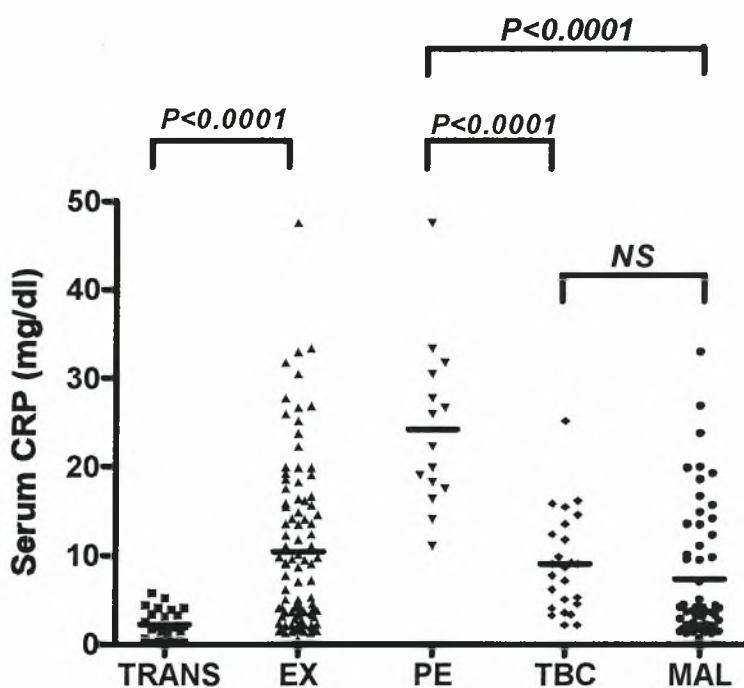
Οι διαφορές των τιμών είναι στατιστικά σημαντικές ($p < 0.0001$).

| | TRANS | EXUD | PE | TBC | MAL |
|-------------------|--------------------------|-----------------------------|----------------------------|-------------------------|-------------------------|
| CRP ΟΡΟΥ mg/dl | 2.22 ± 1.61 (0.2-5.8) | 10.39 ± 9.42 (0.7- 47.6) | 24.17±9.30 (11.1- 47.6) | 9.04±5.58 (2.2-25.2) | 7.34±7.50 (0.1-33.0) |

Πίνακας 6. Μέσες τιμές και σταθερές αποκλίσεις

| | Cut off | Ευαισθησία % | Ειδικότητα % |
|----------|------------|--------------|--------------|
| CRP ΟΡΟΥ | >10.1 g/dl | 100 | 78.9 |

Πίνακας 7. Cut off, ευαισθησία και ειδικότητα, σύμφωνα με τη ROC analysis.



Εικόνα 11. Τιμές CRP ορού ταξινομημένες κατά νόσημα.

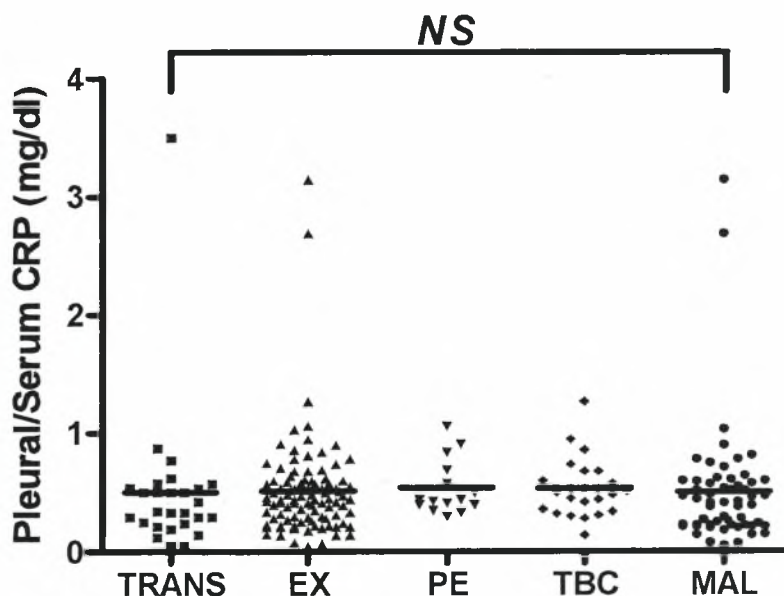
TRANS = Διόδρομα (Συμφορητική Καρδιακή Ανεπάρκεια), EX= Εξίδρωμα,

PE = Παραπνευμονική συλλογή, TBC = Φυματίωση, MAL = Κακοήθεια.

Οι διαφορές των τιμών είναι στατιστικά σημαντικές ($p < 0.0001$).

| | TRANS | EXUD | PE | TBC | MAL |
|---------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| CRP ΠΥ/ΟΡΟ mg/dl | 0.50 ± 0.63 (0.05 – 3.5) | 0.51 ± 0.42 (0.05 – 3.14) | 0.53 ± 0.23 (0.30 – 1.06) | 0.53 ± 0.24 (0.14 – 1.27) | 0.50 ± 0.51 (0.05 – 3.14) |

Πίνακας 8. Μέσες τιμές και σταθερές αποκλίσεις



Εικόνα 12. Τιμές CRP ΠΥ/ΟΡΟΥ ταξινομημένες κατά νόσημα.

TRANS = Δίδρωμα (Συμφορητική Καρδιακή Ανεπάρκεια), EX= Εξίδρωμα,

PE = Παραπνευμονική συλλογή, TBC = Φυματίωση, MAL = Κακοήθεια.

Όλες οι διαφορές είναι μη στατιστικά σημαντικές (NS).

3.2 IL-6

Τα αποτελέσματα της **IL-6** καταγράφονται περιληπτικά στους πίνακες 9, 10, 11, 12 και 13 και αναλυτικότερα στις εικόνες 13, 14 και 15. Η στατιστική ανάλυση έγινε με το πρόγραμμα Prism 4.0 και η ROC ανάλυση με το πρόγραμμα MedCalc.

Η **IL-6** του *πλευριτικού υγρού* ασθενών με *φυματίωση* και *παραπνευμονική συλλογή* ήταν σε υψηλότερες τιμές (\bar{X} =24268 pg/ml και \bar{X} =22762 pg/ml αντίστοιχα) σε σχέση με τις τιμές των ασθενών με *κακοήθεια* (\bar{X} =8085 pg/ml) και με *συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια* (\bar{X} =814 pg/ml) (Πίνακας 9, Εικόνα 13). Οι διαφορές ήταν στατιστικά σημαντικές ($p < 0.0001$). Σύμφωνα με την ROC ανάλυση με cut off >13750 pg/ml η ευαισθησία είναι 96 % και η ειδικότητα 76.8 % (Πίνακας 10).

Οι τιμές της **IL-6** του *ορού* στις ίδιες ομάδες ασθενών δεν είχαν σημαντικές αποκλίσεις (*φυματίωση* \bar{X} = 133.8 pg/ml, *παραπνευμονική συλλογή* \bar{X} = 150.3 pg/ml, *κακοήθεια* \bar{X} = 132.8 pg/ml- Πίνακας 11, Εικόνα 14). Όλες οι διαφορές ήταν μη στατιστικά σημαντικές (NS).

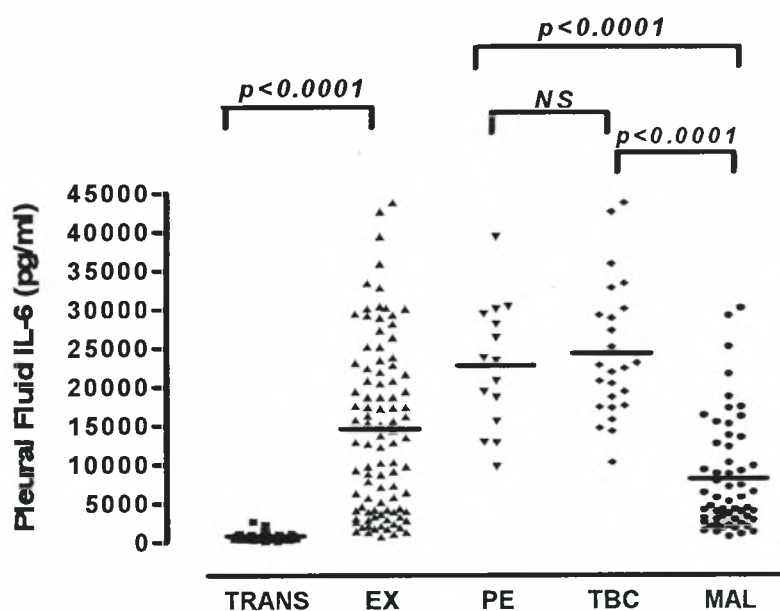
Η τιμή του *πηλίκου* της **IL-6** του *πλευριτικού υγρού* προς τη τιμή του *ορού* στις ομάδες που μελετήθηκαν ήταν σε υψηλότερες τιμές στους ασθενείς με *φυματίωση* και *παραπνευμονική συλλογή* (\bar{X} =240.8 pg/ml και \bar{X} =225.9 pg/ml αντίστοιχα) σε σχέση με τις τιμές των ασθενών με *κακοήθεια* (\bar{X} =105.4 pg/ml) και με *συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια* (\bar{X} =29.27 pg/ml) (Πίνακας 12, Εικόνα 15). Όλες οι διαφορές ήταν στατιστικά σημαντικές ($p < 0.0001$). Σύμφωνα με την ROC ανάλυση με cut off > 175.3 pg/ml η ευαισθησία είναι 76 % και η ειδικότητα 84.8 % (Πίνακας 13).

| | TRANS | EXUD | PE | TBC | MAL |
|------------------|---------------------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|----------------------------|
| IL-6 ΠΥ pg/ml | 814 ± 594.2 (156-2645) | 14526 ± 10881 (731-43819) | 22762 ± 8124 (9800-39415) | 24268 ± 8640 (10321-43819) | 8085 ± 7191 (731-30220) |

Πίνακας 9. Μέσες τιμές και σταθερές αποκλίσεις

| | Cut off | Εναισθησία % | Ειδικότητα % |
|-----------|---------------|--------------|--------------|
| IL-6 Π.Υ. | > 13750 pg/ml | 96 | 76.8 |

Πίνακας 10. Cut off, εναισθησία και ειδικότητα, σύμφωνα με τη ROC analysis.



Εικόνα 13. Τιμές IL-6 πλευριτικού υγρού ταξινομημένες κατά νόσημα.

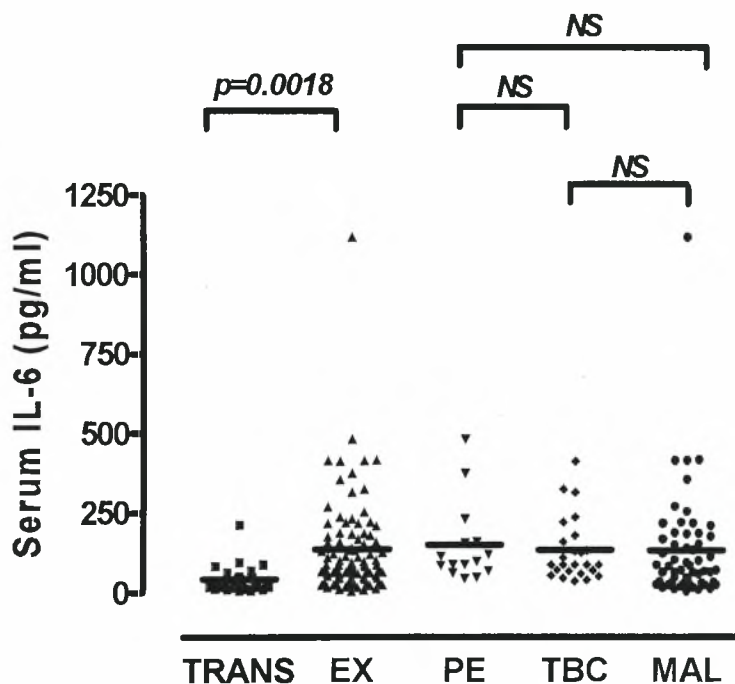
TRANS = Διύδρωμα (Συμφορητική Καρδιακή Ανεπάρκεια), EX= Εξίδρωμα,

PE = Παραπνευμονική συλλογή, TBC = Φυματίωση, MAL = Κακοήθεια.

Οι διαφορές είναι στατιστικά σημαντικές (p<0.0001).

| | TRANS | EXUD | PE | TBC | MAL |
|--------------------|-------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-----------------------------|
| IL-6 ΟΡΟΥ pg/ml | 43.82 ± 42.66 (8.17-215.1) | 155.8 ± 147.4 (6.1-1121) | 150.3 ± 125.6 (47.1-485.2) | 133.8 ± 99.34 (38.28-415.7) | 132.8 ± 170.2 (6.1-1121) |

Πίνακας 11. Μέσες τιμές και σταθερές αποκλίσεις



Εικόνα 14. Τιμές IL-6 ορού ταξινομημένες κατά νόσημα.

TRANS = Διύδρωμα (Συμφορητική Καρδιακή Ανεπάρκεια), EX= Εξίδρωμα,

PE = Παραπνευμονική συλλογή, TBC = Φυματίωση, MAL = Κακοήθεια.

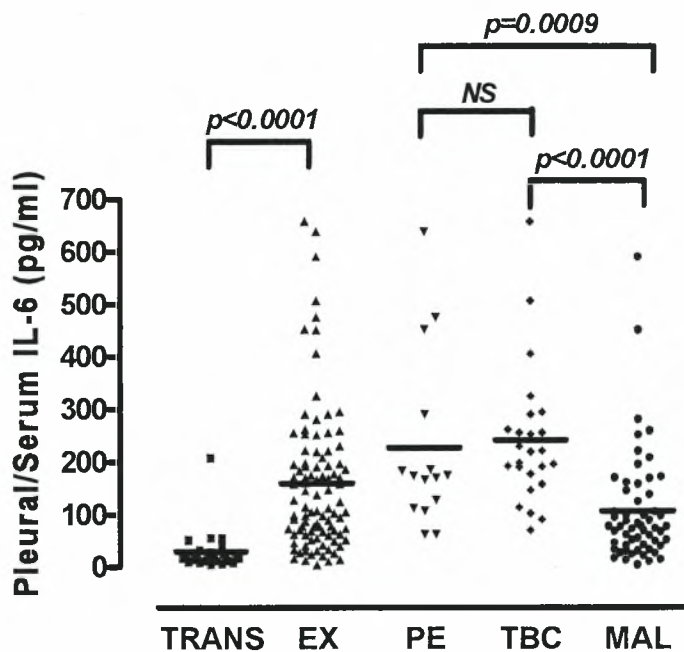
Οι διαφορές είναι μη στατιστικά σημαντικές (NS).

| | TRANS | EXUD | PE | TBC | MAL |
|------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| IL-6 Π.Υ./ΟΡΟ pg/ml | 29.27 ± 38.54 (5.09-208.6) | 158.9 ± 137.6 (4.12-658.7) | 225.9 ± 167.8 (62.25-639.4) | 240.8 ± 129.9 (70.6-658.7) | 105.4 ± 105.1 (4.12-591.3) |

Πίνακας 12. Μέσες τιμές και σταθερές αποκλίσεις

| | Cut off | Ευαισθησία % | Ειδικότητα % |
|---------------|---------------|--------------|--------------|
| IL-6 Π.Υ./ΟΡΟ | > 175.3 pg/ml | 76 | 84.8 |

Πίνακας 13. Cut off, ευαισθησία και ειδικότητα, σύμφωνα με τη ROC analysis.



Εικόνα 15. Τιμές IL-6 Π.Υ./ΟΡΟΥ ταξινομημένες κατά νόσημα.

TRANS = Διόδρομα (Συμφορητική Καρδιακή Ανεπάρκεια), EX= Εξίδρωμα,
PE = Παραπνευμονική συλλογή, TBC = Φυματίωση, MAL = Κακοήθεια.

Οι διαφορές είναι στατιστικά σημαντικές ($p < 0.0001$).

ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΚΑΙ ΒΙΟΧΗΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΛΕΥΡΙΤΙΚΟΥ ΥΓΡΟΥ

| | ΠΑΡΑΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ (n=15) | ΦΥΜΑΤΙΩΣΗ (n=25) | ΚΑΚΟΗΘΕΙΑ (n=57) | ΔΙΑΡΩΜΑΤΑ (ΣΚΑ) (n=27) |
|--|--|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|
| ΗΛΙΚΙΑ | 50 ± 22 (21,0-86,0) | 55 ± 16,51 (19,0-84,0) | 70 ± 11 (27,0-92,0) | 70 ± 9 (46,0-88,0) |
| ΓΕΝΟΣ (Ανδρες/Γυναίκες) | 12/3 | 17/8 | 39/18 | 21/6 |
| ΚΥΤΤΑΡΑ ΠΛΕΥΡΙΤΙΚΟΥ ΥΓΡΟΥ | 10010 ± 6006 (3600 - 22000) | 2767 ± 1301 (1280 - 7500) | 1997 ± 1419 (200 - 7300) | 857,6 ± 404,6 (105 - 1700) |
| ΛΙΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ ΠΛΕΥΡΙΤΙΚΟΥ ΥΓΡΟΥ % | 12,8 ± 6,7 (5 - 28) | 77,1 ± 13 (50 - 95) | 60,8 ± 18 (50 - 92) | 50,4 ± 21,4 (5 - 79) |
| ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΑ ΠΛΕΥΡΙΤΙΚΟΥ ΥΓΡΟΥ % | 73,8 ± 18,6 (44 - 93) | 11,5 ± 6,7 (0 - 025) | 17,3 ± 11,9 (0 - 41) | 13,2 ± 9 (0 - 30) |
| ΓΛΥΚΟΖΗ ΠΛΕΥΡΙΤΙΚΟΥ ΥΓΡΟΥ (mg/dl) | 49,2 ± 48,1 (3,0 - 132) | 90,68 ± 22,05 (59,0 - 167,0) | 111,8 ± 41,78 (12,0 - 226,0) | 126,3 ± 32,51 (95,0 - 247,0) |
| ΛΕΥΚΩΜΑΤΑ ΠΛΕΥΡΙΤΙΚΟΥ ΥΓΡΟΥ (g/L) | 5 ± 0,6 (3,7 - 6,2) | 5,20 ± 0,73 (4,19 - 6,85) | 4,52 ± 0,95 (1,87 - 8,6) | 2,06 ± 0,72 (1,0 - 4,0) |
| ΛΕΥΚΩΜΑΤΑ ΟΡΟΥ (g/L) | 7,1 ± 0,7 (6,0 - 8,1) | 7,0 ± 0,8 (5,7 - 8,8) | 6,4 ± 1,0 (3,46 - 8,1) | 6,0 ± 1,1 (4,2 - 8,3) |
| LDH ΠΛΕΥΡΙΤΙΚΟΥ ΥΓΡΟΥ (UI/L) | 2563 ± 2400 (618 - 9873) | 555,3 ± 274,4 (194,0 - 1423) | 491,5 ± 643,8 (97,0 - 4640) | 111,9 ± 33,61 (65,0 - 199) |
| LDH ΟΡΟΥ (UI/L) | 203 ± 55 (126,0 - 312,0) | 226,1 ± 68,8 (125,0 - 395,0) | 308,7 ± 173,2 (112,0 - 1074) | 218,9 ± 70,33 (143,0 - 454,0) |

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στη συγκεκριμένη μελέτη, η CRP και η IL-6 προσδιορίστηκαν στο πλευριτικό υγρό και στον ορό εκατόν είκοσι τεσσάρων (124) ασθενών με υπεζωκοτική συλλογή.

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας δείχναν πως τα επίπεδα της CRP και της IL-6 στο πλευριτικό υγρό και στον ορό ασθενών με εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή ήταν σημαντικά αυξημένα σε σχέση με ασθενείς με διδρωματική συλλογή.

Οι συγκεντρώσεις της **CRP** στις **παραπνευμονικές συλλογές** βρέθηκαν σημαντικά υψηλές σε σύγκριση με τη φυματιώδη πλευρίτιδα, την κακοήθεια και τη διδρωματική ομάδα. Αυτά τα αποτελέσματα, βρίσκονται σε συμφωνία με εκείνα των Vidriales και συν.²⁹ οι οποίοι μελέτησαν και διαπίστωσαν ότι τα επίπεδα της CRP σε ασθενείς με κακοήθεια ήταν σημαντικά χαμηλά σε σχέση με ασθενείς με παραπνευμονικές συλλογές. Είναι δύσκολο να δοθεί πιθανή εξήγηση για τις διαφορές στις συγκεντρώσεις της CRP, καθώς ο μηχανισμός που τις προκαλεί δεν είναι ξεκάθαρος. Ίσως όμως κάτι τέτοιο να οφείλεται στο γεγονός ότι η CRP παράγεται αποκλειστικά στο ήπαρ και φθάνει στην υπεζωκοτική κοιλότητα από το πλάσμα. Σχετικά με τη σχέση CRP πλευριτικού υγρού προς ορού, δε βρέθηκαν σημαντικές διαφορές ανάμεσα σε όλες τις υποομάδες των πλευριτικών συλλογών, κάτι που βρίσκεται σε διαφωνία με την προηγούμενη μελέτη των Vidriales και συν.²⁹

Σύμφωνα με τη **ROC ανάλυση**, η CRP μπορεί να διακρίνει με υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα τόσο στο πλευριτικό υγρό (92.9 % και 88.4 % αντίστοιχα, cut off > 5.3 mg/dl) όσο και στον ορό (92.9 % και 78.9 % αντίστοιχα, cut off > 10.1 mg/dl) τις παραπνευμονικές από άλλης αιτιολογίας υπεζωκοτικές συλλογές (φυματιώδης πλευρίτιδα, κακοήθεια και διδρώματα).

Στις **λεμφοκυτταρικές εξιδρωματικές υπεζωκοτικές συλλογές** (φυματιώδης πλευρίτιδα και κακοήθεια) τα επίπεδα της CRP βρέθηκαν σημαντικά αυξημένα στο πλευριτικό υγρό της ομάδας με φυματιώδη πλευρίτιδα. Αυτό ίσως να οφείλεται στο γεγονός ότι η τοπική παραγωγή της CRP στην υπεζωκοτική κοιλότητα ασθενών με φυματίωση επάγεται από κυτταροκίνες και συγκεκριμένα από την IL-6 (1/31). Η CRP του ορού και η σχέση CRP πλευριτικού υγρού προς ορού, δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές.

Τόσο τα αποτελέσματα όσο και η ROC ανάλυση στο πλευριτικό υγρό (ευαισθησία 100 %, ειδικότητα 45.6 %, cut off > 1.4 mg/dl) και στον ορό (ευαισθησία 76 %, ειδικότητα 63.2 %, cut off > 4.5 mg/dl) έδειξαν ότι η CRP δεν αποτελεί χρήσιμο εργαλείο για τη διαφοροδιάγνωση της φυματιώδους υπεζωκοτικής συλλογής από την κακοήθεια. Τα ευρήματα όμως έρχονται σε διαφωνία με εκείνα των Chierakul et al.³⁰ οι οποίοι συμπέραναν ότι τα επίπεδα της CRP ίσως είναι χρήσιμα στη διάκριση της φυματιώδους πλευρίτιδας από την κακοήθεια.

Η *IL-6* βρέθηκε να είναι υψηλή στο *πλευριτικό υγρό* ασθενών με *φυματιώδη πλευρίτιδα* και με *παραπνευμονική συλλογή*, σε σχέση με την κακοήθη υπεζωκοτική συλλογή. Οι πιθανές τιμές της *IL-6* στο πλευριτικό υγρό ασθενών με φυματιώδη πλευρίτιδα οφείλονται πιθανώς στο ότι τα T λεμφοκύτταρα, τα οποία επικρατούν, παράγουν *IL-6* όταν διεγείρονται με PPD. Συνεπώς, μπορούν να είναι υπεύθυνα για την τοπική παραγωγή της *IL-6* (2/33,34). Οι διαφορές στα επίπεδα της *IL-6* του πλευριτικού στην παραπνευμονική συλλογή σε σχέση με την κακοήθη υπεζωκοτική συλλογή αιτιολογούνται από το γεγονός ότι εφόσον η *IL-6* κυρίως ελέγχει τη λειτουργία των B και T κυττάρων, υποθέτουμε ότι τα κύτταρα αυτά δεν εμπλέκονται αρχικά ως απάντηση στην εισβολή των κακοηθών κυττάρων στην υπεζωκοτική κοιλότητα (4/32). Η Xirouchaki και συν.³¹ έδειξαν ότι η *IL-6* στο πλευριτικό υγρό είναι υψηλότερη στους ασθενείς με φυματιώδη πλευρίτιδα ωστόσο οι τιμές της στην παραπνευμονική συλλογή ήταν υψηλότερες από την κακοήθη υπεζωκοτική συλλογή αλλά όχι παρόμοια με αυτές στη φυματιώδη πλευρίτιδα.

Τόσο τα αποτελέσματα όσο και η *ROC ανάλυση* στο πλευριτικό υγρό (cut off > 13750 pg/ml, ευαισθησία 96 % και ειδικότητα 76.8 %) και στη σχέση πλευριτικού υγρού προς ορού (cut off > 175.3 pg/ml, ευαισθησία 76 % και ειδικότητα 84.8%) έδειξαν ότι η *IL-6* λόγω της χαμηλής ευαισθησίας και ειδικότητας δε μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνη της για τη διαφοροδιάγνωση των υπεζωκοτικών συλλογών.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ:

1. Η CRP και η IL-6 είναι σημαντικά αυξημένες στα εξιδρώματα σε σχέση με τα διυδρώματα.
2. Τα επίπεδα της CRP μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διάκριση μεταξύ παραπνευμονικών από άλλου είδους συλλογές.
3. Οι συγκεντρώσεις της CRP δεν αποτελούν χρήσιμο εργαλείο για τη διάκριση μεταξύ των λεμφοκυτταρικών υπεζωκοτικών συλλογών (φυματιώδης πλευρίτιδα και κακοήθεια).
4. Η IL-6 στο πλευριτικό υγρό είναι υψηλότερη στην φυματιώδη πλευρίτιδα και την παραπνευμονική συλλογή, όμως λόγω της χαμηλής ευαισθησίας και ειδικότητας δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί με ασφάλεια για τη διαφοροδιάγνωση των υπεζωκοτικών συλλογών.

6. ABSTRACT

The aim of this work is the study of the diagnostic value of defining the C-reactive protein (CRP) and Interleukin 6 (IL-6) in the pleural fluid and serum in the differential diagnosis of the pleural effusions.

The concentration of CRP was defined nephelometrically while these of IL-6 was defined by ELISA. The activity of CRP and IL-6 was measured in 124 patients with pleural effusion in the pleural fluid and blood.

The comparison of the CRP values indicated that parapneumonic effusions presented a higher mean value of CRP pleural fluid (12.25 mg/dl) compared to tuberculosis (4.24 mg/dl), malignancy (2.78 mg/dl), and congestive heart failure (0.84 mg/dl) ($p < 0.0001$). In addition in serum CRP values in parapneumonic effusions were higher (24.17 mg/dl) compared to other groups, tuberculosis (9.04 mg/dl), malignancy (7.34 mg/dl) and congestive heart failure (2.22 mg/dl) ($p < 0.0001$). According to ROC analysis, CRP can distinct with high sensitivity and specificity, in pleural fluid (92.9 % και 88.4 % respectively, cut off > 5.3 mg/dl) and in serum also (92.9 % και 78.9 % respectively, cut off > 10.1 mg/dl) parapneumonic effusions from other pleural effusions (tuberculosis, malignancy, transudates). The ratio of the CRP value in pleural fluid to the corresponding in serum did not present significant differences among all groups of pleural effusions.

The comparison of the IL-6 values indicated that tuberculosis and parapneumonic effusions presented higher mean values ($\bar{X} = 24268$ pg/ml and $\bar{X} = 22762$ pg/ml respectively) compared to malignancy ($\bar{X} = 8085$ pg/ml) and congestive heart failure ($\bar{X} = 814$ pg/ml) ($p < 0.0001$). According to ROC analysis, the sensitivity and specificity of IL-6 of pleural fluid was 96 % και 76.8 % respectively when the cut off was > 13750 pg/ml. In serum mean values of IL-6 in the same groups of patients did not have significant differences (tuberculosis $\bar{X} = 133.8$ pg/ml, parapneumonic effusion $\bar{X} = 150.3$ pg/ml, malignancy $\bar{X} = 132.8$ pg/ml). All the differences were non statistically important. The ratio of IL-6 value in the pleural fluid to the corresponding in serum was found considerably higher in tuberculosis and in parapneumonic effusion ($\bar{X} = 240.8$ pg/ml and $\bar{X} = 225.9$ pg/ml, respectively) compared to malignancy ($\bar{X} = 105.4$ pg/ml) and congestive heart failure

(\bar{X} =29.27pg/ml) ($p < 0.0001$).). The sensitivity and specificity of IL-6 of pleural fluid to the IL-6 of serum was 76 % and 84.8 % respectively where the cut off was > 175.3 pg/ml.

In conclusion it appears that the measuring of CRP and IL-6 in pleural fluid and in serum of patients helps to a great extent the distinction of transudates from exudates. Specifically, CRP values may help the distinction among parapneumonic from other pleural effusions while IL-6 in pleural fluid due to its low sensitivity and specificity may not be used in secure for the differential diagnosis of the pleural effusions.

7. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1) Μ.Παπαδημητρίου, “*Εσωτερική Παθολογία*”, University Studio Press-Εκδόσεις Επιστημονικών Βιβλίων και Περιοδικών, Θεσσαλονίκη 1998.
- 2) V.B. Antony, “*Τα πολλά πρόσωπα του υπεζωκότα*”, Ανοσολογικοί Μηχανισμοί Παθήσεων του Υπεζωκότα, InfoRespiratory medicine.
- 3) Strankinga WFM, Nauta JJP, Straud JP, Stram J. *Adenosine deaminase activity in tuberculous pleural effusions: A diagnostic test.* Tubercle 1987; 68: 137-140
- 4) Χ.Χατζόγλου, Κ.Ι.Γουργουλιάνης, “*Φυσιολογία και Παθοφυσιολογία Υπεζωκότα*”
- 5) J.A.Paré, R.G.Fraser, “*Synopsis of disease of the chest*”, FIRST EDITION by W.B. Saunders Company 1983.
- 6) Stephen J. Chapman, Robert J. O. Davies : *The management of pleural space infections.* Rerpirology 2004;9:4-11
- 7) *Management of Malignant Pleural Effusions.* Am J Respir Crit Med 2000;162:1987-2001
- 8) Ann C Tarn, Ruth Lapworth: *Biochemical analysis of pleural fluid:what should we measure?* Ann Clin Biochem 2001;38:311-322
- 9) Steven A. Sahn: *Malignant Pleural Effusions* (2001)
- 10) Jeffrey Rubins: *Pleural Effusions.* Emedicine 2001
- 11) John E. Heffner, MD: *Lymphocyte-Predominant Pleural Effusion.* International Pleural Newsletter 2003;Vol 1,Issue 4

- 12) Lesley J. Burgess, Frans J. Maritz, J. J. Frans Taljaard: *Comparative Analysis of the Biochemical Parameters Used to Distinguish Between Pleural Transudates and Exudates*. CHEST 1995;107:1604-1609
- 13) J.S.P.Jones: *The Pleura in Health and Disease*. Lung 2002;179:397-413
- 14) Steven A.Sahn : *Diagnosis and Management of Pleural Effusions*. CHEST 2000;Vol 15
- 15) Jeffrey B.Rubins, Gene L.Colice: *Evaluating pleural effusions*. Postgraduate Medicine 1999;Vol 105
- 16) Jose Manuel Porcel, Manuel Vives: *Etiology and Pleural Fluid Characteristics of Large and Massive Effusions*. CHEST 2003;124:978-983
- 17) Antony VB, Loddenkemper R, Astoul P. et al. *Management of malignant pleural effusions*. Eur Respir J 2001;18:402-419
- 18) J.Ferrer: *Pleural Tuberculosis*. Eur Respir J 1997;10:942-947
- 19) Alain A.Eid , Jean I.Keddissi , Michel Samaha , Maroun M.Tawk , Kristopher Kimmell, Gary T.Kinasewitz: *Exudative Effusions in Congestive Heart Failure*. CHEST 2002 ;122 :1518-1523.
- 20) Αναστάσιος Ε. Γερμενής. *Ιατρική Ανοσολογία*, Εκδόσεις Παπαζήση 2000.
- 21) Χαράλαμπος Μ. Μουτσόπουλος. *ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑ Αυτοάνοσα Ρευματικά Νοσήματα*, Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας 1990.
- 22) Ι. Γ. Γεωργιάτσου, Π. Ι. Αρζόγλου. *Αρχές Κλινικής Χημείας*, Εκδόσεις Γιαχούδη – Γιακούλη 1999.
- 23) Kim YC, Park KO, Bom HS, Lim SC, Park HK, Na HJ, Park JH. *Combining DA, protein and IFN-gamma best allows discrimination between tuberculous and malignant pleural effusion*. Korean J Intern Med. 1997;12(2):225-31

- 24) Greco S, Girardi E, Masciangelo R, Capossetta GB, Saltini C. *Adenosine deaminase and interferon gamma measurements for the diagnosis of tuberculous pleurisy: a meta-analysis*. Int J Tuberc Lung Dis.2003;7(8):777-86
- 25) S.K.Sharma, Amit Banga. *Diagnostic Utility of Pleural Fluid IFN- γ in Tuberculosis Pleural Effusion*. Journal of Interferon & Cytokine Research 2004,24(4):213-217
- 26) Aoe K, Hiraki A, Murakami T, et al. *Diagnostic significance of interferon-gamma in tuberculous pleural effusions*.Chest.2003;123:740-744
- 27) Paganuzzi M, Onetto M, Marroni P, et al. *Diagnostic value of CYFRA 21- marker and CEA in pleural effusion due to mesothelioma. 1 tumor* Chest 2001;119:1138-1142
- 28) Romero S, Fernandez C, Arriero J.M, Espasa A, Candela A, Martin C, Sanchez-Paya J. Eur Respir.1996;9:17-23
- 29) Castano Vidriales JL, Amores Antequera C. *Use of pleural fluid C-reactive protein in laboratory diagnosis of pleural effusions*. Eur.J.Med.1992;1:201-7
- 30) Nitipatana Chierakul, Apichart Kanitsap, Angkana Chaiprasert, Ronnaghai Viriyataveekul. *A simple C-reactive protein measurement for the differentiation between tuberculous and malignant pleural effusion*.Respirology 2004;9:66-69
- 31) Hirouchaki Nektaria, Tzanakis Nikolaos, Bouros Demosthenes, Kyriakou Despina, Karkavitsas Nikolaos, Alexandrakis Michalis, Siafakas Nikolaos.*Diagnostic Value of Interleukin-1a, Interleukin-6, and Tumor Necrosis Factor in Pleural Effusions*. CHEST 2002;121:815-820
- 32) Hirano T, Teranishi T, Lin B, et al. *Human helper T cell factor(s):IV.Demonstration of a human late-acting B cell differentiation factor acting on Staphylococcus aureus Cowan I-stimulated B cells*.J Immunol 1984;133:798-802

- 33) Hoheisel G, Izbicki G, Roth M, et al. *Compartmentalization of pro-inflammatory cytokines in tuberculous pleuritis*. Respir Med 1998;92:14-17
- 34) Barnes PF, Mistry SD, Cooper CL, et al. *Compartmentalization of a CD4+T lymphocyte subpopulation in tuberculous pleuritis*. J Immunol 1989;142:1114-1119
- 35) Floyd-Smith, G. A., Whitehead, A. S., Colten, H. R., Francke, U. *Human C-reactive protein gene (CRP) is located on the proximal long arm of chromosome 1*. Cytogenet. Cell Genet 1985;40:630
- 36) Floyd-Smith, G. A., Whitehead, A. S., Colten, H. R., Francke, U. *The human C-reactive protein gene (CRP) and serum amyloid P component gene (APCS) are located on the proximal long arm of chromosome 1*. Immunogenetics 1986;24:171-176
- 37) Goldman, N. D., Liu, T., Lei, K.-J. *Structural analysis of the locus containing the human C-reactive protein gene and its related pseudogene*. J.Biol.Chem 1987;262:7001-7005
- 38) Whitehead, A. S., Bruns, G. A. P., Markham, A. F., Colten, H. R., Woods, D. E. *Isolation of human C-reactive protein complementary DNA and localization of the gene to chromosome 1*. Science 1983;221:69-71
- 39) William Somers, Mark Stahl, Jasbir S. Seehra *1.9 Å crystal structure of interleukin 6: implications for a novel mode of receptor dimerization and signaling*. The EMBO Journal 1997;16:989-997
-

