

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**  
**ΠΝΕΥΜΟΝΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**  
**ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ : ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Κ.Ι. ΓΟΥΡΓΟΥΛΙΑΝΗΣ**

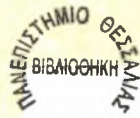
**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ STRESS ΣΤΗ**  
**ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΩΝ ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΩΝ ΣΥΛΛΟΓΩΝ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΠΑΠΑΓΕΩΡΓΙΟΥ ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ**

**ΙΑΤΡΟΣ**

**ΛΑΡΙΣΑ 2009**



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

Αριθ. Εισ.: 7514/1

Ημερ. Εισ.: 24-09-2009

Δωρεά: Π.Θ.

Ταξιθετικός Κωδικός: Δ

616.25

ΠΑΠ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000083745

Υ

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**  
**ΠΝΕΥΜΟΝΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**  
**ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ : ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Κ.Ι. ΓΟΥΡΓΟΥΛΙΑΝΗΣ**

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΘΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ STRESS ΣΤΗ**  
**ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΩΝ ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΩΝ ΣΥΛΛΟΓΩΝ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΠΑΠΑΓΕΩΡΓΙΟΥ ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ**

**ΙΑΤΡΟΣ**

**ΛΑΡΙΣΑ 2009**

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Σελίδα

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	2
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ .....	5
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ .....	11
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	13
ΠΡΟΛΟΓΟΣ .....	14
1. ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΗ ΚΟΙΛΟΤΗΤΑ .....	15
1.1. Ανατομία υπεζωκότα.....	15
1.2. Υπεζωκοτικό υγρό .....	16
1.3. Αιμάτωση και λεμφική κυκλοφορία της υπεζωκοτικής κοιλότητας .....	16
1.4. Διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού .....	17
1.5. Απορρόφηση του υπεζωκοτικού υγρού.....	21
1.6. Παθογένεια των υπεζωκοτικών συλλογών .....	21
1.6.1. Αυξημένη παραγωγή υπεζωκοτικού υγρού .....	21
1.6.2. Αυξημένη διαπερατότητα τριχοειδών .....	23
1.6.3. Μειωμένη κολλοειδωσμοτική πίεση.....	23
1.6.4. Ασκίτης - Ρήξη θωρακικού πόρου .....	23
1.6.5. Μειωμένη παροχέτευση υπεζωκοτικού υγρού.....	24
1.6.6. Ο ρόλος των aquaporins στη διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού .....	24
2. ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ - ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ.....	26
2.1. Γενικά.....	26
2.2. Γενικά χαρακτηριστικά υπεζωκοτικού υγρού .....	27
2.3. Διαγνωστική εκτίμηση δεικτών υπεζωκοτικού υγρού. ....	32
2.3.1. Εξέταση υπεζωκοτικού υγρού για κακοήθη νόσο.....	32
2.3.2. Εξέταση υπεζωκοτικού υγρού για φυματιώδη πλευρίτιδα	33
2.3.3. Ο ανοσολογικός έλεγχος του υπεζωκοτικού υγρού .....	34
2.3.4. Έλεγχος λιπιδίων του υπεζωκοτικού υγρού .....	35
2.3.5. Η καλλιέργεια του υπεζωκοτικού υγρού .....	35
3. ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΩΝ ΣΥΛΛΟΓΩΝ ΣΕ ΔΙΙΔΡΩΜΑΤΑ ΚΑΙ ΕΞΙΔΡΩΜΑΤΑ .....	36
3.1. ΔΙΙΔΡΩΜΑΤΑ .....	38

3.1.1. Καρδιακή ανεπάρκεια .....	39
3.1.2. Ηπατικός υδροθώρακας .....	41
3.1.3. Νεφρική νόσος.....	41
3.1.4. Μυξοίδημα .....	43
3.1.5. Υποαλβουιναιμία .....	43
3.1.6. Πνευμονική εμβολή .....	43
3.1.7. Απόφραξη της άνω κοίλης φλέβας .....	43
3.2. ΕΞΙΔΡΩΜΑΤΑ .....	44
3.2.1. Κακοήθης υπεζωκοτική συλλογή.....	44
3.2.2. Παραπνευμονική συλλογή-Εμπύημα .....	49
3.2.3. Φυματιώδης υπεζωκοτική συλλογή.....	52
3.2.4. Υπεζωκοτική συλλογή οφειλόμενη αυτοάνοσα νοσήματα	54
3.2.5. Υπεζωκοτική συλλογή οφειλόμενη σε πνευμονική εμβολή .....	55
3.2.6. Υπεζωκοτική συλλογή οφειλόμενη σε παθήσεις του γαστρεντερικού συστήματος.....	55
3.2.7. Υπεζωκοτική συλλογή οφειλόμενη σε παθήσεις της καρδιάς και του περικαρδίου.....	56
4. ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ STRESS.....	57
4.1. Γενικά.....	57
4.2. Οξειδωτικές ουσίες.....	58
4.2.1. ROS (ελεύθερες ρίζες οξυγόνου) .....	58
4.2.2. RNS (ελεύθερες ρίζες αζώτου) .....	65
4.2.3. Πρωτεϊνικά μόρια .....	65
4.2.4. Προϊόντα λιπιδικής υπεροξειδωσης.....	66
5. ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ STRESS ΚΑΙ ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ.....	73
5.1 Οξειδωτικό stress και παθήσεις των αεραγωγών. ....	74
5.2. Οξειδωτικό stress και παθήσεις του διαμέσου ιστού.....	78
5.3. Οξειδωτικό stress και καρκίνος πνεύμονα.....	80
5.4. Οξειδωτικό stress και Σύνδρομο Αποφρακτικής Άπνοιας στον Ύπνο(ΣΑΑΥ) .....	81
5.5. Οξειδωτικό stress και βρογχοπνευμονική δυσπλασία.....	81
5.6. Οξειδωτικό stress και σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας(ARDS) .....	81
5.7. Οξειδωτικό stress και πνευμονική υπέρταση .....	82
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ .....	83
6. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	84
6.1. Πληθυσμός.....	84
6.2. Συλλογή δείγματος και ανάλυση .....	84
6.3. Διαγνωστικά κριτήρια υπεζωκοτικών συλλογών .....	85
6.4. Προσδιορισμός οξειδωτικού stress .....	87
6.5. Επαναληψιμότητα .....	88
7. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	90

8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	91
9. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	104
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	111
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	112
ABSTRACT .....	114
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	116

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Πριν τέσσερα περίπου χρόνια, στην περίοδο αναμονής για την έναρξη της ειδικότητας μου, γνώρισα τον καθηγητή Πνευμονολογίας κο Κωνσταντίνο Γουργουλιάνη στην Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική Λάρισας. Η ενασχόληση μου με τις δραστηριότητες της κλινικής για δύο χρόνια υπήρξε για μένα πολύτιμος οδηγός εκπαίδευσης μου ως γιατρός. Δεν θα ξεχάσω την ημέρα που ο καθηγητής μου εμπιστεύτηκε την εκπόνηση της παρούσας διδακτορικής διατριβής, όχι μόνο για τη χαρά και τον ενθουσιασμό που ένιωσα αλλά και για το αίσθημα ευθύνης που με κατέλαβε. Στα χρόνια παραμονής μου στην κλινική ο καθηγητής ήταν πάντα δίπλα μου να με ενθαρρύνει και να με παροτρύνει. Η βοήθεια και η στήριξή του υπήρξε οδηγός για την επιτέλεση του έργου που μου ανέθεσε αλλά και πολύτιμος σύμβουλος των αξιών που πρέπει να κυριαρχούν στην ιατρική επιστήμη και στη ζωή.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά, τον καθηγητή Φυσιολογίας κο Πασχάλη Αδάμ Μόλυβδο καθώς και τον καθηγητή Ανοσολογίας κο Γερμενή για την αμέριστη αρωγή τους στην ερευνητική και εκπαιδευτική μου πορεία αλλά και για τη καθοριστική συμβολή τους στην εκπόνηση αυτής της διδακτορικής διατριβής.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω το λέκτορα Πνευμονολογίας κο Κωνσταντίνο Κωστίκα για την πολύτιμη βοήθεια του, τις εύστοχες παρεμβάσεις του και την προτροπή του για τη συνέχιση της μελέτης.

Τέλος θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στον κο Θεόδωρο Κυρόπουλο για τις πολύτιμες οδηγίες του και τη διάθεση για βοήθεια σε οτιδήποτε χρειάστηκε.

## **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:**

**Πασχάλης – Αδάμ Μολυβδάς**

Καθηγητής Φυσιολογίας

**Κωνσταντίνος Ι. Γουργουλιάνης**

Καθηγητής Πνευμονολογίας

**Αναστάσιος Γερμενής**

Καθηγητής Ανοσολογίας

## **ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:**

**Πασχάλης – Αδάμ Μολυβδάς,** Καθηγητής Φυσιολογίας

**Κωνσταντίνος Ι. Γουργουλιάνης,** Καθηγητής Πνευμονολογίας

**Αναστάσιος Γερμενής,** Καθηγητής Ανοσολογίας

**Ματθαίος Σπελέτσας,** Επίκουρος Καθηγητής Αιματολογίας

**Ευφροσύνη Παρασκευά,** Επίκουρος Καθηγήτρια Φυσιολογίας

**Ελένη Γεωργιάτσου,** Επίκουρος Καθηγήτρια Βιοχημείας

**Ζωή Δανιήλ,** Επίκουρος Καθηγήτρια Πνευμονολογίας



## ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

**ΟΝΟΜΑ:** Ευαγγελία

**ΕΠΩΝΥΜΟ:** Παπαγεωργίου

**ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΓΕΝΝΗΣΕΩΣ:** 19 Ιουνίου 1976

**ΤΟΠΟΣ ΓΕΝΝΗΣΕΩΣ:** Λάρισα

**ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ:** έγγαμη

**ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΚΑΤΟΙΚΙΑΣ:** Χρυσουπόλεως 14- Μελίσσια- Αθήνα

**ΤΗΛΕΦΩΝΑ:** 210-8045096, 6976676333

**E-mail:** evarap19@yahoo.gr

### ΣΠΟΥΔΕΣ

- **1995-2001:** Ιατρική σχολή Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης
- **2002-2003:** Υπηρεσία Υπαίθρου
- **2005-2009:** Ειδικευόμενη ιατρός στην Γ Πνευμονολογική Κλινική Σισμανογλείου Νοσοκομείου Αθηνών

Εκπόνηση Διδακτορικής Διατριβής στην Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική Λάρισας

### ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

**1. E Papageorgiou, K Kostikas, T Kirooulos, E Karetsi, G. Mpatavanis K I. Gourgoulisanis.** Increased oxidative stress in exudative pleural effusions. A new marker for the differentiation between exudates and transudates? CHEST 2005; 128:3291-3297.

2. Daniil ZD, **Papageorgiou E**, Koutsokera A, Kostikas K, Kiropoulos T, Papaioannou AI, Gourgoulisanis KI. Serum levels of oxidative stress as a marker of disease severity in idiopathic pulmonary fibrosis. *Pulm Pharmacol Ther.* 2008;21(1):26-31. Epub 2006 Oct 18

## **ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ (ΜΕ ΠΡΟΦΟΡΙΚΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ Ή POSTERS)**

### **ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ**

1. European Respiratory Society, Annual Congress, October 4-8, 2008

I.Papanikolaou, K.Tsakanika, V.Skouras, N.Karagianidis, V.Polychronopoulos, **E. Papageorgiou**, M.Kokosi, D.Mermigis. BAL cytology in pulmonary alveolar proteinosis: a review of 7 cases

2. CHEST, Annual Cogress, October 2008

**E.Papageorgiou**, M.Kokosi, V.Skouras, F.Diamantea, E.Kastanakis, N.Kragianidis, V.Polychronopoulos. Is pleural effusion a common chest radiographic finding in pulmonary embolism?

3. CHEST, Annual Cogress, October 2008

V.Skouras, I.Papanikolaou, **E.Papageorgiou**, M.Kokosi, I.Vilotou, F.Diamantea, N.Karagianidis, V.Polychronopoulos. Pleural fluid B-Type natriuretic peptide in patients with pleural effusions

### **ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ**

1. **E. Παπαγεωργίου**, Θ. Κυρόπουλος, E. Καρέτση, K. Γουργουλιάννης. Μελέτη οξειδωτικού stress στη διάγνωση υπεζωκοτικών συλλογών. 4<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ελευθέρων Ριζών και Οξειδωτικού Στρες, Λάρισα 7-10 Οκτωβρίου 2004

2. **E. Παπαγεωργίου**, Θ. Κυρόπουλος, K. Κωστίκας, K. Γουργουλιάννης. Οξειδωτικό Stress σε υπεζωκοτικές συλλογές: Ένας νέος δείκτης διάκρισης Εξιδρωμάτων-Διδρωμάτων. 13<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο. Πάτρα, 2-5 Δεκεμβρίου 2004.

3. Ζ. Δανιήλ, **Ε. Παπαγεωργίου**, Α. Κουτσοκέρα, Δ. Παπαδόπουλος, Θ. Κυρόπουλος, Κ. Κωστίκας, Κ. Γουργουλιάνης. Το οξειδωτικό stress στον ορό ασθενών με ιδιοπαθή πνευμονική ίνωση: Συσχέτιση με κλινικούς και λειτουργικούς δείκτες βαρύτητας της νόσου. 14<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο. Θεσσαλονίκη, 1-4 Δεκεμβρίου 2005.
4. **Ε. Παπαγεωργίου**, Κ. Κωστίκας, Θ. Κερενίδη, Α. Παπαιωάννου, Θ. Κυρόπουλος, Κ. Ι. Γουργουλιάνης. Οξειδωτικό stress σε υπεζωκοτικές συλλογές: Ένας νέος δείκτης διάκρισης εξιδρωμάτων από διιδρώματα. 14<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο. Θεσσαλονίκη, 1-4 Δεκεμβρίου 2005
5. Θ.Κερενίδη, **Ε.Παπαγεωργίου**, Κ.Σωτηριάδου, Μ.Α.Θεοφανοπούλου, Κ.Θεοδώρου, Κ.Ι.Γουργουλιάνης, Γ.Πλατανιώτης. Υποκλασματοποιημένη ακτινοθεραπεία σε ασθενείς με μη μικροκυτταρικό καρκίνο πνεύμονα μετά χημειοθεραπεία. 14<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο. Θεσσαλονίκη, 1-4 Δεκεμβρίου 2005
6. Θ.Κερενίδη, **Ε.Παπαγεωργίου**, Κ.Σωτηριάδου, Μ.Α.Θεοφανοπούλου, Κ.Ι.Γουργουλιάνης, Γ.Πλατανιώτης. Η προγνωστική αξία του συνολικού όγκου του νεοπλασματος ασθενών με μη μικροκυτταρικό καρκίνο πνεύμονος μετά χημειοθεραπεία. 14<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο. Θεσσαλονίκη, 1-4 Δεκεμβρίου 2005
7. Γ.Κορατζάνης, Α.Νάκου, **Ε.Παπαγεωργίου**. Συχνά λάθη στην πνευμονία της κοινότητας. 22ο Μεταπτυχιακό Σεμινάριο Ελληνικής Βρογχολογικής Εταιρίας. Αθήνα, Μάρτιος 2006
8. Ε.Μηλιώνη, Τ.Τοπάλης, **Ε.Παπαγεωργίου**, Ε.Πασσαλίδου. Λαρυγγικός σπασμός. 23ο Μεταπτυχιακό Σεμινάριο Ελληνικής Βρογχολογικής Εταιρίας. Αθήνα, Μάρτιος 2007
9. **Ε.Παπαγεωργίου**, Ε.Μηλιώνη, Ε.Πασσαλίδου. Ιδιοπαθής Πνευμονική Ίνωση. Συστάσεις για βασική βιβλιογραφία στην κλινική πράξη. 24ο Μεταπτυχιακό Σεμινάριο Ελληνικής Βρογχολογικής Εταιρίας. Αθήνα, Μάρτιος 2008
10. Φ.Διαμαντέα, **Ε.Παπαγεωργίου**, Μ.Τσαραμίρη. Συχνά λάθη στη Χρόνια βρογχίτιδα και το Εμφύσημα. 24ο Μεταπτυχιακό Σεμινάριο Ελληνικής Βρογχολογικής Εταιρίας. Αθήνα, Μάρτιος 2008
11. Β.Σκούρας, **Ε.Παπαγεωργίου**, Ν.Καραγιαννίδης, Β.Πολυχρονόπουλος, Γ.Δρόσος, Ε.Γιαμαρέλος, Κ.Γουργουλιάνης. Προγνωστικοί δείκτες παραπνευμονικών συλλογών. 16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα Δεκέμβριος, 2007
12. Β.Σκούρας, Η.Μιχαηλίδου, Α.Νάκου, Δ.Μερμίγκης, **Ε.Παπαγεωργίου**, Α.Βουλγαρίδης, Φ.Διαμαντέα, Ν.Καραγιαννίδης, Β.Πολυχρονόπουλος. Σαρκοείδωση. Ενδιαφέροντα περιστατικά. 16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα Δεκέμβριος, 2007
13. **Ε.Παπαγεωργίου**, Φ.Διαμαντέα, Π.Κατσίκια, Ν.Σκαρμούτσου, Μ.Κανελλοπούλου Α. Λιούλιας, Ν.Καραγιαννίδης, Β.Πολυχρονόπουλος. Εμπύημα θώρακος από clostridium Perfigens οφειλόμενο σε ραγείσα εχινόκοκκο κύστη ήπατος. 17<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Αλεξανδρούπολη, Νοέμβριος 2008

## **ΛΟΙΠΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΕΣ**

- Μέλος της Ελληνικής Πνευμονολογικής Εταιρίας
- Μέλος της Ελληνικής Βρογχολογικής Εταιρίας
- Μέλος της European Respiratory Society
- Μέλος της ομάδας Υπεζωκότα της Ελληνικής Πνευμονολογικής Εταιρείας.
- Συμμετοχή στο Boards Review Orlando, Florida, 2008
- Συμμετοχή στο πρόγραμμα σπιρομετρήσεων για την «Πρώιμη διάγνωση της ΧΑΠ» της Πανεπιστημιακής Πνευμονολογικής Κλινικής Λάρισας

## ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

- ADA: Adenosine Deaminase (Αδενοσινοδιαμινάση ή Απαμινάση της Αδενοσίνης)
- ALI: Acute Lung Injury (Οξεία Πνευμονική Βλάβη)
- ANA: Antinuclear Antibodies (Αντιπυρηνικά Αντισώματα)
- AQP: Aquaporins
- ARDS: Acute Respiratory Distress Syndrome (Σύνδρομο Αναπνευστικής Δυσχέρειας)
- AUC: Area Under the Curve (Περιοχή κάτω από την καμπύλη)
- BAL: Bronchoalveolar Lavage (Βρογχοκυψελιδικό Έκπλυμα)
- CRP: C-reactive protein (C-Αντιδρώσα Πρωτεΐνη)
- CEA: Carcinoembryonic antigen (Καρκινοεμβρυϊκό Αντιγόνο)
- CI: Confidence Intervals (Διαστήματα Εμπιστοσύνης)
- CO: Carbon monoxide (Μονοξείδιο του Άνθρακα)
- ELF: Epithelial Lining Fluid
- ENY: Εγκεφαλονωτιαίο Υγρό
- FEV<sub>1</sub>: Forced Expiratory Flow Volume at 1<sup>st</sup> min (Δυναμικός Εκπνεόμενος Όγκος στο 1<sup>ο</sup> λεπτό)
- IFN-γ: Interferon γ (Ιντερφερόνη-γ)
- LDH: Lactic Acid Dehydrogenase (Γαλακτική Δεϋδρογενάση)
- LE: Lupus Erythematosus (Ερυθηματώδης Λύκος)
- MDA: Malonyldialdehyde (Μαλονδϋαλδεϋδη)
- MPO: Myeloperoxidase (Μυελοϋπεροξειδάση)
- NO: Nitric Monoxide (Μονοξείδιο του Αζώτου)
- NOS: Nitric Oxide Synthase (Συνθάση του Μονοξειδίου του Αζώτου)
- NT-pro-BNP: Non Terminal pro-Brain Natriuretic Peptide (όχι τελικό προ εγκεφαλικό νατριουρητικό πεπτιδίο)
- PCR: Polymerase Chain Reaction (Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης)

- Pro-BNP: pro-Brain Natriuretic Peptide (προ Εγκεφαλικό Νατριουρητικό Πεπτίδιο)
- ROC: Receiver Operator Characteristics Curves
- ROM: Reactive Oxygen Metabolites (Ενεργοί Μεταβολίτες Οξυγόνου)
- ROS: Reactive Oxygen Species (Ενεργά Είδη Οξυγόνου)
- RNS: Reactive Nitrogen Species (Ενεργά Είδη Αζώτου)
- SD: Standard Deviation (Σταθερά Απόκλιση)
- SOD: Superoxide Dismutase (Υπεροξειδική Δισμουτάση)
- VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor (Αγγειακός Ενδοθηλιακός Αυξητικός Παράγοντας)
- ΥΥ: Υπεζωκοτικό Υγρό
- Yellow nail syndrome: Σύνδρομο Κίτρινων Ονύχων

# ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η υπεζωκοτική συλλογή μπορεί να είναι αποτέλεσμα επιπλοκής πολλών νοσημάτων. Τα πιο συχνά αίτια υπεζωκοτικής συλλογής είναι η καρδιακή ανεπάρκεια (500000 ασθενείς/έτος), η πνευμονία (300000 ασθενείς/έτος), η κακοήθεια (200000 ασθενείς/έτος) και η πνευμονική εμβολή (60000 ασθενείς/έτος). Μετά την επιβεβαίωση της υπεζωκοτικής συλλογής με απλή ακτινογραφία θώρακος, υπερηχογραφικό έλεγχο ή αξονική τομογραφία θώρακος ο γιατρός καλείται να διαγνώσει τη διιδρωματική ή εξιδρωματική φύση αυτής. Για το σκοπό αυτό απαραίτητη είναι η εφαρμογή των κριτηρίων του Light αλλά και η συνεκτίμηση της κλινικής εικόνας του ασθενούς.

Πλήθος δεικτών έχουν περιγραφεί στη βιβλιογραφία όσον αφορά τόσο στη διαφορική διάγνωση του εξιδρώματος από το διίδρωμα (συγκρινόμενα με τα κριτήρια του Light) όσο και στη διαφορική διάγνωση των εξιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών μεταξύ τους. Με την εφαρμογή επομένως των ανωτέρω βιοχημικών δεικτών, αλλά και των μικροβιολογικών και κυτταρολογικών εξετάσεων του πλευριτικού υγρού λαμβάνουμε αρκετές πληροφορίες σχετικά με τη φύση της υπεζωκοτικής συλλογής και το πιθανή νόσο που την προκάλεσε.

Σκοπός της συγκεκριμένης έρευνας ήταν η μελέτη του οξειδωτικού stress στις υπεζωκοτικές συλλογές και ο προσδιορισμός ενός δείκτη εκτίμησης του οξειδωτικού stress στο υπεζωκοτικό υγρό και στο αίμα ασθενών με υπεζωκοτική συλλογή. Υποθέσαμε ότι τα επίπεδα του παραπάνω δείκτη ήταν υψηλότερα στα εξιδρώματα από ότι στα διιδρώματα



λόγω του ότι αντικατοπτρίζουν την τοπική φλεγμονώδη διαδικασία. Βασισμένοι στα αποτελέσματα εκτιμήθηκε τόσο η αξιοπιστία όσο και η χρησιμότητα του οξειδωτικού stress στην καθημερινή κλινική πράξη.

## **1.ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΗ ΚΟΙΛΟΤΗΤΑ**

### **1.1. Ανατομία υπεζωκότα**

Ο υπεζωκότας είναι μια λεπτή μεμβράνη, η οποία καλύπτει το πνευμονικό παρέγχυμα, το μεσοπνευμόνιο και το θωρακικό τοίχωμα. Η ανωτέρω μεμβράνη αποτελείται από δύο πέταλα, το περίτονο και το περισπλάχνιο, τα οποία αφίστανται μεταξύ τους από μια λεπτή στιβάδα υγρού που διακινείται φυσιολογικά μεταξύ αυτών. Το περισπλάχνιο πέταλο του υπεζωκότα καλύπτει πλήρως τον πνεύμονα στα σημεία που έρχεται σε επαφή με το θωρακικό τοίχωμα, το διάφραγμα, το μεσοπνευμόνιο και τις μεσολόβιες σχισμές. Το περίτονο πέταλο του υπεζωκότα καλύπτει την εσωτερική επιφάνεια της θωρακικής κοιλότητας και διακρίνεται στον πλευρικό υπεζωκότα, τον μεσοπνευμόνιο και το διαφραγματικό. Στην περιοχή της πύλης του πνεύμονα συναντάται το περίτονο με το περισπλάχνιο πέταλο του υπεζωκότα. Τμήμα του περιτόνου πετάλου του υπεζωκότα ανακάμπει πλαγίως δημιουργώντας μια λεπτή πτυχή, η οποία ονομάζεται πνευμονικός σύνδεσμος.

Το άνω όριο της υπεζωκοτικής κοιλότητας εκτείνεται 2-3 cm άνω της πρώτης πλευράς, πίσω από τον στερνοκλειδομαστοειδή μυ. Ο υπεζωκότας εκτείνεται και εντός των μεσολοβίων χώρων με τέτοιο τρόπο ώστε ο κάθε πνευμονικός λοβός να εκπτύσσεται και να συμπίπτει κατά τρόπο ανεξάρτητο ώστε να μην επηρεάζει τον άλλο.

## 1.2. Υπεζωκοτικό υγρό

Φυσιολογικά μια μικρή ποσότητα υγρού βρίσκεται στην υπεζωκοτική κοιλότητα. Αν και δεν υπάρχουν δεδομένα όσον αφορά στην ποσότητα του υπεζωκοτικού υγρού σε έναν υγιή άνθρωπο, μελέτες σε πειραματόζωα έδειξαν πως η ποσότητα του υπεζωκοτικού υγρού κυμαίνεται από 0.4-2.4 ml<sup>1</sup>. Οι Miserocchi και Agostoni μελετώντας κουνέλια και σκύλους διεπίστωσαν πως το υπεζωκοτικό υγρό ήταν αντίστοιχα 1.0 και 2.4ml αντίστοιχα. Ο Sahn δημοσίευσε μελέτη με κουνέλια υπολογίζοντας ότι το υπεζωκοτικό υγρό ήταν 0.4ml<sup>2</sup>.

Το υπεζωκοτικό υγρό περιέχει φυσιολογικά περίπου 1500-2450 κύτταρα σύμφωνα με τις παραπάνω μελέτες. Η πρωτεΐνη του υπεζωκοτικού υγρού κυμαίνεται μεταξύ 1.06-1.33g/dl<sup>2</sup>. Τα επίπεδα των διττανθρακικών στο υπεζωκοτικό υγρό είναι 20-25% υψηλότερα από ότι στο αίμα. Τα ιόντα Na είναι μειωμένα κατά 3% ενώ του Cl είναι 3-6% μειωμένα σε σχέση με εκείνα του πλάσματος. Τα επίπεδα του K και της γλυκόζης είναι περίπου τα ίδια<sup>3</sup>. Το pH του πλευριτικού υγρού είναι αλκαλικό, δεδομένου ότι η μερική πίεση του CO<sub>2</sub> είναι ίση περίπου με εκείνη του πλάσματος, λόγω των αυξημένων διττανθρακικών.

## 1.3. Αιμάτωση και λεμφική κυκλοφορία της υπεζωκοτικής κοιλότητας

Η αιμάτωση του περιτόνου πετάλου του υπεζωκότα γίνεται από τα τριχοειδή της συστηματικής κυκλοφορίας μέσω των μεσοπλευρίων αρτηριών, της περικαρδιοφρενικής, της άνω φρενικής και των μσοφρενικών αρτηριών. Η αιμάτωση του περισπλάχνιου πετάλου του υπεζωκότα γίνεται από τη συστηματική κυκλοφορία μέσω των κλάδων της βρογχικής αρτηρίας.

Τα λεμφαγγεία του περιτόνου πετάλου παροχετεύουν στους έσω μεσοπλεύριους λεμφαδένες, στους τραχειοβρογχικούς, τους μεσοθωρακικούς και τους παραστερνικούς. Ο περισπλάχνιος είναι πλήρης λεμφαγγείων, τα οποία σχηματίζουν δίκτυο αλληλοεπικοινωνούντων αγγείων με τα λεμφαγγεία της βρογχικής κυκλοφορίας.

Η επικοινωνία των λεμφαγγείων του περιτόνου πετάλου με την υπεζωκοτική κοιλότητα γίνεται μέσω των «στομάτων», τα οποία έχουν διάμετρο 2,6nm και αποτελούν την απαρχή της λεμφικής κυκλοφορίας του περιτόνου πετάλου. Το πλείστον αυτών βρίσκεται στον μεσοπνευμόνιο υπεζωκότα και στα μεσοπλεύρια διαστήματα με μεγαλύτερη συγκέντρωση στα κατώτερα τμήματα του θώρακα. Ο ρόλος τους είναι πολύ σημαντικός γιατί μαζί με τα λεμφαγγεία αποτελούν την κύρια οδό απομάκρυνσης στοιχείων από την υπεζωκοτική κοιλότητα<sup>4,5</sup>.

#### **1.4. Διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού**

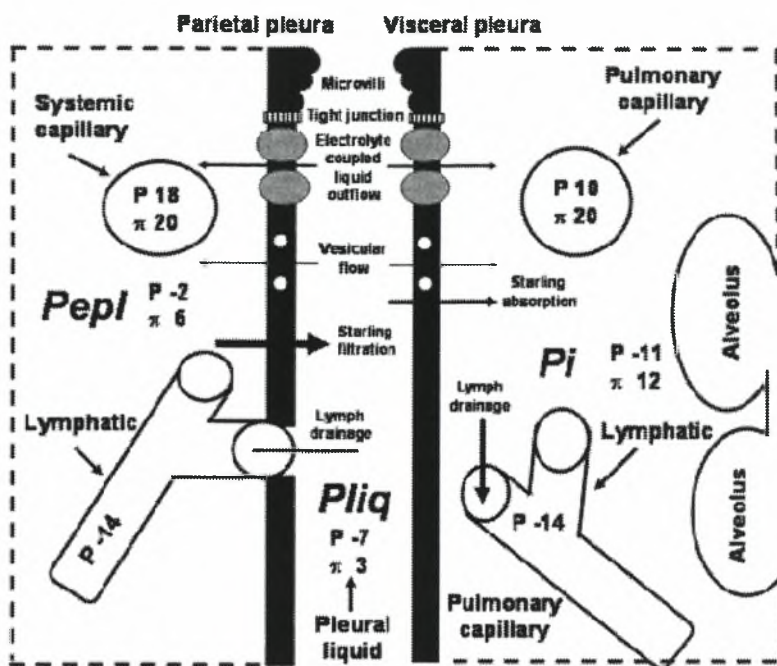
Για να γίνει κατανοητή η διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού, θεωρείται απαραίτητο να παρατεθούν βασικές γνώσεις των πιέσεων εντός της υπεζωκοτικής κοιλότητας και του μηχανισμού με τον οποίο οι πιέσεις αυτές λειτουργούν. Η πίεση εντός της υπεζωκοτικής κοιλότητας κατά τις διάφορες φάσεις της αναπνοής οφείλεται στην ύπαρξη ελαστικών δυνάμεων τόσο από την πλευρά του θωρακικού τοιχώματος όσο και από την πλευρά του πνευμονικού παρεγχύματος. Σε θέση λειτουργικής υπολειπόμενης χωρητικότητας(FRC) ο πνεύμονας τείνει να συμπέσει ενώ το θωρακικό τοίχωμα τείνει να αναπηδήσει προς τα έξω. Ακόμη και σε θέση υπολειπόμενου όγκου(RV) ο πνεύμονας τείνει να συμπέσει και ισορροπεί από μόνος του μόνο αν αφαιρεθεί από τη θωρακική κοιλότητα και αφεθεί στον αέρα. Σε αντίθεση, το θωρακικό τοίχωμα τείνει να εκπύσσεται προς τα έξω και ισορροπεί σε θέση 55% της ζωτικής χωρητικότητας(VC) ή 70% της ολικής πνευμονικής χωρητικότητας(TLC). Κάτω από τη θέση αυτή το

θωρακικό τοίχωμα τείνει να κινείται προς τα έξω, ενώ άνω της θέσης αυτής τείνει να κινείται προς τα έσω. Σε θέση λειτουργικής υπολειπόμενης χωρητικότητας (FRC), το θωρακικό τοίχωμα τείνει να εκπτυχθεί προς τα έξω και ο πνεύμονας να συμπυχθεί, αλλά στο σημείο αυτό οι δυνάμεις που προκαλούν αυτές τις κινήσεις είναι ίσες και αντιθέτου φοράς, με αποτέλεσμα το σύστημα πνεύμονας και θωρακικό τοίχωμα να ισορροπεί<sup>6</sup>.

Στη θέση ισορροπίας του συστήματος πνεύμονας και θωρακικό τοίχωμα (FRC) δημιουργείται εντός της υπεζωκοτικής κοιλότητας αρνητική πίεση της οποίας η τιμή στο μέσο της υπεζωκοτικής κοιλότητας είναι  $-5\text{cmH}_2\text{O}$ . Η τιμή της πίεσεως δεν είναι σταθερή σε όλο το ύψος του ορθοστατούντος πνεύμονος εντός της υπεζωκοτικής κοιλότητας και είναι πλέον αρνητική στην κορυφή απ'ότι στη βάση του πνεύμονος και μεταβάλλεται από 0,2-0,5 ανά εκατοστόμετρο ύψους<sup>7</sup>. Σε θέση πλήρους εκπτύξεως του συστήματος πνεύμων και θωρακικό τοίχωμα (TLC), η ενδοϋπεζωκοτική πίεση στο μέσο του θώρακος θα είναι πολύ περισσότερο αρνητική απ' ότι σε θέση FRC και όντως είναι περί τα  $-30\text{cmH}_2\text{O}$ <sup>8</sup>.

Η ποσότητα του υγρού σε κάθε υπεζωκοτική κοιλότητα είναι περίπου 2ml. Σε μελέτη 120 υγιών ατόμων χρησιμοποιώντας ειδική ακτινολογική τεχνική βρέθηκε ότι 15 από αυτούς είχαν 3-15ml<sup>7</sup>.

Στα φυσιολογικά άτομα η έξοδος και η απορρόφηση του υπεζωκοτικού υγρού γίνεται δια του περιτόνου πετάλου του υπεζωκότα και είναι αποτέλεσμα της ισορροπίας μεταξύ δυνάμεων (υδροστατικών, κολλοειδωσμοτικών) και της ικανότητας του λεμφικού δικτύου του περιτόνου πετάλου για απομάκρυνση του υγρού<sup>9</sup>. Στην παρακάτω εικόνα παρατίθενται οι πιέσεις οι οποίες προκαλούν τη διακίνηση του υγρού εντός και εκτός της υπεζωκοτικής κοιλότητας.



**Εικόνα 2.** Διαγραμματική παρουσίαση των αναπτυσσόμενων πιέσεων κατά τον σχηματισμό και απορρόφηση του υπεζωκοτικού υγρού

Η δύναμη η οποία τείνει να προκαλέσει την έξοδο του υγρού εκτός των τριχοειδών του περίτονου πετάλου του υπεζωκότα είναι η συνισταμένη της δυνάμεως, η οποία αντιστοιχεί στην υδροστατική πίεση των τριχοειδών του τοιχωματικού υπεζωκότος (περίπου  $30\text{cmH}_2\text{O}$ ) και της δυνάμεως η οποία προκαλεί την αρνητική πίεση στην υπεζωκοτική κοιλότητα και η οποία κυμαίνεται από  $-4\text{cm}$  έως  $-8\text{cmH}_2\text{O}$ . Επειδή και οι δύο δυνάμεις έχουν φορά προς την υπεζωκοτική κοιλότητα δημιουργείται μια συνισταμένη δύναμη (σε θέση FRC), η οποία είναι περίπου  $34-38\text{cmH}_2\text{O}$ . Η κολλοειδωσμητική πίεση εντός των τριχοειδών του περίτονου πετάλου είναι περίπου  $34\text{cmH}_2\text{O}$  και αντιστοιχεί σε δύναμη η οποία έχει φορά προς τα τριχοειδή δηλαδή αντίθετη προς τη συνισταμένη των υδροστατικών πιέσεων. Η κολλοειδωσμητική πίεση εντός της υπεζωκοτικής κοιλότητας είναι περίπου  $5-8\text{cmH}_2\text{O}$  και αντιστοιχεί σε δύναμη η οποία τείνει να μετακινήσει το υγρό εντός της υπεζωκοτικής κοιλότητας. Δημιουργείται τελικά μια συνισταμένη δύναμη η οποία προκύπτει από το άθροισμα  $30+5+8-34=9\text{cmH}_2\text{O}$ , η οποία μπορεί να είναι  $6\text{cmH}_2\text{O}$  και έχει φορά από τον τοιχωματικό υπεζωκότα προς την υπεζωκοτική κοιλότητα.

Στον άνθρωπο ο τοιχωματικός υπεζωκότας αιματώνεται από τις μεσοπλεύριες αρτηρίες, οι οποίες εκβάλλουν στις πνευμονικές φλέβες ενώ ο περισπλάχνιος αιματώνεται από τις αρτηρίες της βρογχικής κυκλοφορίας που εκβάλλουν στις μεσοπλεύριες φλέβες. Συνεπώς ο τοιχωματικός υπεζωκότας παροχετεύει στη δεξιά κοιλία ενώ ο περισπλάχνιος στην αριστερά. Η διαφορά πίεσεως που προκαλεί τη ροή αίματος στον περισπλάχνιο υπεζωκότα είναι μικρότερη από εκείνη στον τοιχωματικό υπεζωκότα και συνεπώς η ροή του αίματος διά του περιτόνου πετάλου είναι μεγαλύτερη εκείνης του περισπλάχνιου. Με βάση τα ανωτέρω όπως και στην εικόνα φαίνεται ότι οι υδροστατικές δυνάμεις στο περισπλάχνιο πέταλο του υπεζωκότος είναι  $+24 \text{ cmH}_2\text{O}$  ( αντί για  $30 \text{ cmH}_2\text{O}$  που είναι στον τοιχωματικό υπεζωκότα) με φορά προς την υπεζωκοτική κοιλότητα και  $-5 \text{ cmH}_2\text{O}$  από την κοιλότητα του υπεζωκότα προς το περισπλάχνιο πέταλο, δηλαδή τελικά  $+5 \text{ cmH}_2\text{O}$  προς την υπεζωκοτική κοιλότητα. Η συνισταμένη δύναμη αντιστοιχεί σε υδροστατική πίεση  $24+5=29 \text{ cmH}_2\text{O}$  και η φορά είναι προς την υπεζωκοτική κοιλότητα, ενώ η συνισταμένη των κολλοειδωσμοτικών είναι  $34-5=29 \text{ cmH}_2\text{O}$  και με φορά προς το περισπλάχνιο πέταλο. Η πίεση που προκύπτει τελικά είναι είτε 0 είτε  $3 \text{ cmH}_2\text{O}$  (εάν η κολλοειδωσμοτική πίεση θεωρηθεί  $8 \text{ cmH}_2\text{O}$  αντί για  $5 \text{ cmH}_2\text{O}$ ) οπότε και αντιστοιχεί σε δύναμη η οποία έχει φορά προς την υπεζωκοτική κοιλότητα. Συνεπώς ελάχιστη ή μηδενική πίεση προκαλεί έξοδο υγρού εντός της υπεζωκοτικής κοιλότητας από μέρους του περισπλάχνιου πετάλου, ενώ πίεση  $6-9 \text{ cmH}_2\text{O}$  προκαλεί έξοδο εντός της υπεζωκοτικής κοιλότητας από μέρους του περιτόνου πετάλου αφού το περισπλάχνιο δεν συμμετέχει καθόλου στη διαδικασία αυτή. Ακόμη και το υγρό το οποίο μπορεί να εξέρχεται από το περισπλάχνιο πέταλο προς την υπεζωκοτική κοιλότητα, απορροφάται και αυτό από τα «στόματα» του περιτόνου πετάλου. Το πρότυπο που ερμηνεύει τα ανωτέρω φαίνεται στην εικόνα.

## **1.5. Απορρόφηση του υπεζωκοτικού υγρού**

Παρά το γεγονός ότι η πίεση από μέρους του περιτόνου πετάλου του υπεζωκότος είναι 6-9 cmH<sub>2</sub>O και από μέρους του περισπλάχνιου πετάλου 3 cmH<sub>2</sub>O, οι οποίες πιέσεις αντιστοιχούν σε δυνάμεις που ωθούν το υγρό εντός της υπεζωκοτικής κοιλότητας, η τελευταία παραμένει σχεδόν στεγανή λόγω της απορροφήσεως του υγρού δια των στομάτων του περιτόνου πετάλου. Η ποσότητα του υγρού, η οποία απορροφάται διά των στομάτων κυμαίνεται από 0,22-0,40ml/kg/h και μπορεί η αποχετευτική ικανότητα της λεμφικής οδού να αυξηθεί σε σημαντικό βαθμό, άνω του 20πλάσιου, προκειμένου να αποτραπεί η συσσώρευση υγρού εντός της υπεζωκοτικής κοιλότητας<sup>10-11</sup>.

Η ύπαρξη επομένως υγρού εντός της υπεζωκοτικής κοιλότητας σημαίνει ότι η δυνατότητα παροχετεύσεώς του υπολείπεται σημαντικά του ρυθμού συσσωρεύσεως του.

## **1.6. Παθογένεια των υπεζωκοτικών συλλογών**

Το υπεζωκοτικό υγρό συσσωρεύεται στην υπεζωκοτική κοιλότητα όταν ο ρυθμός παραγωγής του ξεπεράσει το ρυθμό απορρόφησής του. Οι κύριες αιτίες οι οποίες προκαλούν αυξημένη παραγωγή ή μειωμένη απορρόφηση του υπεζωκοτικού υγρού αναφέρονται παρακάτω.

### **1.6.1. Αυξημένη παραγωγή υπεζωκοτικού υγρού**

Η αυξημένη ποσότητα υπεζωκοτικού υγρού μπορεί να οφείλεται είτε σε αύξηση του υγρού του διαμέσου χώρου είτε σε διαταραχή του νόμου του Starling. Σύμφωνα με την κλασική εξίσωση του Starling η διαϋπεζωκοτική

κίνηση υγρού ( $J_v$ ) είναι ίση με την συνολική διαφορά πίεσης ( $\Delta P$ ) κατά πλάτος του τοιχωματικού ή του πνευμονικού υπεζωκότα:

$$J_v = L_p S \Delta P$$

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

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

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

Η συχνότερη αιτία υπάρξεως υγρού στην υπεζωκοτική κοιλότητα είναι η αύξηση του υγρού στο διάμεσο ιστό του πνεύμονος. Όταν η συσσώρευση του υγρού στο διάμεσο ιστό υπερβαίνει τα 5g ανά γραμμάριο ξηρού πνευμονικού παρεγχύματος τότε προκαλείται υπεζωκοτική συλλογή, άσχετα με το αν το υγρό είναι χαμηλής ή υψηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη<sup>12</sup>. Αυτός είναι και ο προεξάρχων μηχανισμός σχηματισμού της υπεζωκοτικής συλλογής σε ασθενείς με συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, παραπνευμονική συλλογή, ARDS και μεταμόσχευση πνεύμονος. Σε ασθενείς με δεξιά ή αριστερή καρδιακή ανεπάρκεια, περικαρδιακή συλλογή υγρού, σύνδρομο άνω κοίλης φλέβας οι πιέσεις στα τριχοειδή του υπεζωκότος είναι αυξημένες και το αποτέλεσμα είναι να αυξάνεται η ποσότητα του υγρού εντός της υπεζωκοτικής κοιλότητας. Η πιο γνωστή κατάσταση η οποία προκαλεί πτώση της ενδουπεζωκοτικής πίεσης ( $-50\text{cmH}_2\text{O}$ ) και συσσώρευσης υπεζωκοτικού υγρού είναι η ατελεκτασία του κάτω λοβού ή όλου του πνεύμονος<sup>13</sup>. Μείωση επίσης της ενδοϋπεζωκοτικής πίεσης προκαλείται όταν εναποτίθεται στρώμα κολλαγόνου στο περισπλάχνιο πέταλο του υπεζωκότα με αποτέλεσμα τον παγιδευμένο πνεύμονα.



### **1.6.2. Αυξημένη διαπερατότητα τριχοειδών**

Η αυξημένη διαπερατότητα των τριχοειδών είναι υπεύθυνη για τη συσσώρευση υγρού εντός της υπεζωκοτικής κοιλότητας. Πιστεύεται πως τα αυξημένα επίπεδα VEGF αυξάνουν τη διαπερατότητα των τριχοειδών και μπορεί μερικώς να ευθύνονται για τη συσσώρευση υπεζωκοτικού υγρού σε συγκεκριμένες καταστάσεις<sup>14,15</sup>. Υποδοχείς VEGF έχουν ανευρεθεί σε μεσοθηλιακά κύτταρα και τα επίπεδά του VEGF είναι μεγαλύτερα στα εξιδρώματα από ότι στα διιδρώματα. Φυσικά όταν ο υπεζωκότας φλεγμαίνει αυξάνεται η διαπερατότητα των τριχοειδών.

### **1.6.3. Μειωμένη κολλοειδωσμητική πίεση**

Η μείωση της κολλοειδωσμητικής πίεσης μπορεί να προκαλέσει αυξημένη συσσώρευση υπεζωκοτικού υγρού σύμφωνα με το νόμο του Starling. Τα αυξημένα επίπεδα πρωτεΐνης στο υπεζωκοτικό υγρό παρατηρούνται στο πνευμονικό οίδημα, στον αιμοθώρακα και όταν αυξάνεται η διαπερατότητα των τριχοειδών του υπεζωκότα. Ο μηχανισμός ωστόσο δεν είναι τόσο σημαντικός γιατί όταν προκλήθηκε πλευριτική συλλογή σε πρόβατο με επίπεδα πρωτεΐνης 9,0g/dl η παραγωγή του υπεζωκοτικού υγρού ήταν πολύ μικρή 0,22ml/kg/h<sup>16</sup>. Επιπρόσθετα η υποπρωτεϊναιμία θεωρείται σπάνια αιτία υπεζωκοτικής συλλογής<sup>17</sup>.

### **1.6.4. Ασκήτης - Ρήξη θωρακικού πόρου**

Στην περίπτωση ασκίτικης συλλογής, λόγω υπάρξεως τρημάτων στο διάφραγμα, υγρό από την περιτοναϊκή κοιλότητα συσσωρεύεται στην υπεζωκοτική κοιλότητα<sup>18</sup>. Κατά μηχανισμό ανάλογο γίνεται συσσώρευση υγρού εντός της υπεζωκοτικής κοιλότητας σε ρήξη του θωρακικού πόρου.

### **1.6.5. Μειωμένη παροχέτευση υπεζωκοτικού υγρού**

Όπως προαναφέρθηκε το υγρό μπορεί να συσσωρευθεί στην υπεζωκοτική κοιλότητα όταν η παροχέτευσή του παρακωλύεται. Η δυνατότητα του λεμφικού συστήματος να παροχετεύει υγρό, μπορεί να υπερβεί το 20πλάσιο της υπό κανονικές συνθήκες διακινήσεώς του. Η δυσχέρεια στην παροχέτευση του υγρού διά του λεμφικού συστήματος οφείλεται κυρίως σε κακοήθη αίτια όπως το πρωτοπαθές και το μεταστατικό νεόπλασμα του πνεύμονος. Η παροχέτευση της λεμφικής οδού γίνεται ως γνωστό στο φλεβικό σκέλος της συστηματικής κυκλοφορίας. Τούτο σημαίνει ότι η αύξηση της πίεσεως στις κεντρικές φλέβες δημιουργεί και δυσχέρεια στη λεμφική κυκλοφορία. Οι Allen και συνεργάτες αναφέρουν ότι σε πρόβατα, ποσότητα υγρού συσσωρεύτηκε στην υπεζωκοτική κοιλότητα όταν η πίεση στην άνω κοίλη φλέβα αυξήθηκε πάνω από 15mmHg και όταν η ποσότητα του υγρού ήταν πάνω από 500ml τότε η πίεση στην άνω κοίλη φλέβα ήταν περίπου 27-28mmHg<sup>19</sup>. Οι ανωτέρω ερευνητές αναφέρουν ότι όσο η ποσότητα του υγρού ήταν μεγαλύτερη, τόσο το επίπεδο της πρωτεΐνης του υγρού ήταν μεγαλύτερο. Συμπεραίνοντας τονίζουν ότι οι υπεζωκοτικές συλλογές αναπτύχθηκαν λόγω: α) εξόδου λέμφου από τα λεμφαγγεία, τα οποία διασχίζουν το θώρακα (διαφραγματικά και πνευμονικά), β) εξόδου υγρού του διαμέσου πνευμονικού ιστού στην υπεζωκοτική κοιλότητα λόγω αποφράξεως λεμφαγγείων του πνεύμονος ή του θωρακικού τοιχώματος.

### **1.6.6. Ο ρόλος των aquaporins στη διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού**

Οι aquaporins (AQS) είναι μια οικογένεια πρωτεϊνών οι οποίες μεταφέρουν H<sub>2</sub>O διαμέσου των μεμβρανών<sup>20</sup>. Η ανεπάρκεια μίας εκ των ανωτέρω πρωτεϊνών προκαλεί σημαντικές διαταραχές σε ζωτικά όργανα. Υπάρχουν τουλάχιστον 4 AQP's στον πνεύμονα. Αρκετές πληροφορίες ελήφθησαν για τον φυσιολογικό τους ρόλο από ποντίκια. Ο

ανοσοφθορισμός στον υπεζωκότα αποκάλυψε την παρουσία AQP1 στα ενδοθηλιακά κύτταρα των τριχοειδών του περιτόνου και του περισπλάχνιου πετάλου του υπεζωκότα<sup>21</sup>. Ωστόσο σύμφωνα με άλλες μελέτες οι AQPs δεν φαίνεται να παίζουν ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στον μηχανισμό συσσώρευσης και παροχέτευσης του υπεζωκοτικού υγρού.

## 2. ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ - ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ

### 2.1. Γενικά

Φυσιολογικά η υπεζωκοτική κοιλότητα περιέχει 2-5ml πλευριτικού υγρού όπως αναφέρθηκε και ανωτέρω. Πολλές είναι οι καταστάσεις που προάγουν τη συσσώρευση υπεζωκοτικού υγρού και οι οποίες θα υπογραμμιστούν αναλυτικά στο επόμενο κεφάλαιο. Όταν επομένως επιβεβαιώνεται η παθολογική συσσώρευση υπεζωκοτικού υγρού κλινικά, ακτινολογικά ή υπερηχογραφικά τότε γίνεται προσπάθεια διαγνωστικής θωρακοκέντησης. Συγκεκριμένα όταν η ποσότητα του υγρού είναι 50ml ή λιγότερο με τους υπερήχους η αποκάλυψη φθάνει στο 85% των περιπτώσεων ενώ στις ίδιες περιπτώσεις με τις ακτινολογικές μεθόδους αποκαλύπτεται περίπου το 60% των περιπτώσεων. Με την διαγνωστική θωρακοκέντηση λαμβάνεται υγρό, του οποίου η αιτιολογία δεν είναι γνωστή και το οποίο αποστέλλεται για ειδικές εξετάσεις με σκοπό τη διαγνωστική προσέγγιση του ασθενούς.

Η πρώτη βασική ενέργεια του ιατρού είναι η επισκόπηση του υγρού, το οποίο θα δώσει τις πρώτες πληροφορίες για τη φύση του υγρού με την αδρή αξιολόγηση της χροιάς του (αιματηρό, διαυγές, θολερό, αχυρόχρουν), της πιθανής οσμής και της πηκτικής του τάσεως. Το λευκωπό χρώμα μπορεί να οφείλεται σε πύον αλλά και σε χυλοθώρακα ή ψευδοχυλοθώρακα οπότε και απαιτείται φυγοκέντρηση. Η αιμορραγική χροιά μπορεί να οφείλεται σε ιατρογενή τρώση αγγείου αλλά μπορεί και να είναι αποτέλεσμα διηθήσεως του υπεζωκότα από νεόπλασμα ή πνευμονική εμβολή ή τραυματισμού του θώρακος. Για τη διαφορική διάγνωση των υπεζωκοτικών συλλογών από το 1972 εφαρμόζονται τα κριτήρια του Light, τα οποία θεωρούν ότι μια υπεζωκοτική συλλογή είναι εξιδρωμα όταν:

- Η LDH υπεζωκοτικού υγρού είναι μεγαλύτερη από τα 2/3 της ανώτερης φυσιολογικής τιμής της στον ορό του αίματος
- Σχέση LDH υπεζωκοτικού υγρού προς LDH ορού άνω του 0,6

- Σχέση πρωτεϊνών υπεζωκοτικού υγρού προς πρωτεΐνες ορού άνω του 0,5

Εάν πληρείται ένα από τα παραπάνω κριτήρια τότε μάλλον πρόκειται για εξιδρωμα ενώ αν πληρούνται και τα τρία τότε οι πιθανότητες το υγρό να είναι εξιδρωμα είναι 99%<sup>22</sup>.

Πλην των κριτηρίων του Light στη βιβλιογραφία έχουν περιγραφεί και άλλα κριτήρια με σκοπό να διαγνώσουν την εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή όπως τα επίπεδα χοληστερόλης υγρού πάνω από 60mg/dl<sup>23-24</sup>, επίπεδα χοληστερόλης επίσης, σε άλλη μελέτη, πάνω από 45mg/dl<sup>25</sup>, η διαφορά αλβουμίνης υπεζωκοτικού υγρού και ορού κάτω από 1,2g/dl<sup>26</sup>, ο λόγος χολερυθρίνης υπεζωκοτικού υγρού προς χολερυθρίνη ορού κάτω από 0,6<sup>27</sup> και ο λόγος χολινεστεράσης υπεζωκοτικού υγρού προς την χολινεστεράση ορού κάτω από 0,23<sup>28</sup>.

## 2.2. Γενικά χαρακτηριστικά υπεζωκοτικού υγρού

Εάν το υγρό έχει αιματηρή **όψη** απαιτείται έλεγχος του αιματοκρίτη και του περιφερικού αίματος. Εάν ο αιματοκρίτης του υγρού υπερβαίνει το 50% του αιματοκρίτη του περιφερικού αίματος τότε ο ασθενής πάσχει από αιμοθώρακα και τίθεται άμεσα σωλήνας παροχέτευσης. Εάν ο αιματοκρίτης είναι κάτω από 1% τότε πρόκειται μάλλον για νεοπλασματική διήθηση του υπεζωκότα ή πνευμονική εμβολή.

Εάν το υγρό είναι θολερό τότε θα πρέπει να φυγοκεντρείται και στη συνέχεια να επανεξετάζεται οπότε αν η θολερότητα παραμένει πρόκειται για χυλοθώρακα ή ψευδοχυλοθώρακα. Στον χυλοθώρακα (ρήξη μείζονος θωρακικού πόρου συνήθως λόγω τραυματισμού ή νεοπλασίας) δεν υπάρχουν κρύσταλλοι χοληστερίνης στο υπεζωκοτικό υγρό και η τιμή των τριγλυκεριδίων του υπεζωκοτικού υγρού είναι πάνω από 110mg/dl ενώ

στον ψευδοχυλοθώρακα τα τριγλυκερίδια συνήθως είναι κάτω από 60mg/dl και υπάρχουν κρύσταλλοι χοληστερίνης στο υπεζωκοτικό υγρό.

Η τιμή της **γλυκόζης** του υπεζωκοτικού υγρού θα πρέπει σχεδόν πάντα να μετράται στα εξιδρώματα αν και όταν είναι χαμηλή όπως κάτω από 60mg/dl το αίτιο της υπεζωκοτικής συλλογής μπορεί να είναι i) παραπνευμονική συλλογή, ii) κακοήθης υπεζωκοτική συλλογή, iii) φυματιώδης υπεζωκοτική συλλογή, iv) ρευματική υπεζωκοτική συλλογή, v) αιμοθώρακας, vi) παραγονιμίαση, vii) σύνδρομο Churg-Strauss. Σύμφωνα με τα ανωτέρω στις παραπνευμονικές συλλογές η γλυκόζη είναι χαμηλή<sup>29</sup> και όσο πιο χαμηλή είναι η τιμή της τόσο πιο επιπλεγμένη είναι η συλλογή και έχει χειρότερη προγνωστική αξία. Όταν το υγρό είναι πύον τότε η γλυκόζη τείνει στο μηδέν<sup>30</sup>. Από τις κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές περίπου 15-25% έχουν τιμή γλυκόζης κάτω από 60mg/dl και σε ορισμένες περιπτώσεις και λιγότερο από 10mg/dl<sup>31-32</sup>. Ασθενείς με χαμηλότερη τιμή γλυκόζης στο υπεζωκοτικό υγρό είχαν πιο εκτεταμένη νόσο, όπως φάνηκε μετά από θωρακοσκόπηση<sup>32</sup>, αλλά και χειρότερη πρόγνωση. Όσον αφορά στις φυματιώδεις πλευρίτιδες ορισμένες μελέτες<sup>33-34</sup> έδειξαν πως μόνο σε αυτές συναντούμε χαμηλές τιμές γλυκόζης και αυτό ίσως να οφείλεται στην αύξηση της γλυκολύσεως από τα μεταβολικώς ενεργά κύτταρα του υγρού. Η πλειονότητα ωστόσο των ασθενών με φυματιώδη πλευρίτιδα έχουν τιμή γλυκόζης μικρότερη από 80mg/dl<sup>35</sup>. Σε ασθενείς επίσης με ρευματοειδή αρθρίτιδα τα επίπεδα της γλυκόζης μπορεί να είναι πολύ χαμηλά κάτω από 30mg/d<sup>36</sup> και ίσως αυτό να οφείλεται σε επιλεκτική παρεμπόδιση εισόδου της γλυκόζης στην υπεζωκοτική κοιλότητα<sup>37</sup>. Η υπεζωκοτική συλλογή που οφείλεται στον ερυθρηματώδη λύκο δεν παρουσιάζει συνήθως μείωση του σακχάρου.

Η εξέταση της **αμυλάσης** του υπεζωκοτικού υγρού μπορεί να βοηθήσει στη διάγνωση τριών νοσημάτων: i)ρήξεως οισοφάγου, ii)κακοήθους νεοπλασίας και iii)παγκρεατικής νόσου<sup>35</sup>. Περίπου 50% των ασθενών με φλεγμονώδη παγκρεατική νόσο αναπτύσσουν υπεζωκοτική συλλογή και

από αυτούς συνήθως η τιμή της αμυλάσης είναι αυξημένη<sup>38</sup>. Μικρό ποσοστό ασθενών με παγκρεατίτιδα αναπτύσσουν υπεζωκοτική συλλογή, της οποίας η αμυλάση είναι μεγαλύτερη εκείνης του ορού. Σε μερικές περιπτώσεις πρόκειται για ψευδοκύστη παγκρέατος. Η τιμή της αμυλάσης του υπεζωκοτικού υγρού είναι αυξημένη στο 10% των ασθενών με κακοήθη υπεζωκοτική συλλογή<sup>35</sup>, συνήθως είναι λίγο ή μετρίως αυξημένη. Αντίθετα στη ρήξη οισοφάγου τα επίπεδα της αμυλάσης του υπεζωκοτικού υγρού είναι πολύ αυξημένα και η πρόελευση της είναι οι σιελογόνοι αδένες παρά το πάγκρεας<sup>39</sup>.

Η εξέταση της **γαλακτικής αφυδρογονάσης** του υπεζωκοτικού υγρού (LDH) χρησιμοποιείται για να διαχωρίσει τα διιδρώματα από τα εξιδρώματα. Οι περισσότεροι ασθενείς οι οποίοι πληρούν το κριτήριο της LDH για εξίδρωμα και όχι των πρωτεϊνών έχουν συνήθως κακοήθη υπεζωκοτική συλλογή ή παραπνευμονική συλλογή. Σύμφωνα με τον Light η LDH αποτελεί έναν αξιόπιστο δείκτη φλεγμονής του υπεζωκότα. Επειδή η ολική LDH δεν προσφέρει ιδιαίτερες πληροφορίες για τη διαφορική διάγνωση των εξιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών διερευνήθηκε και η αξία των ισοενζύμων σε δύο μελέτες, τα οποία ελάχιστα προσέφεραν στον ανωτέρω σκοπό<sup>40-41</sup>.

Τα επίπεδα της **πρωτεΐνης** είναι πάντα αυξημένα στις εξιδρωματικές υπεζωκοτικές συλλογές και αποτελούν κριτήριο για τη διαφορική διάγνωση επίσης των εξιδρωμάτων από τα διιδρώματα. Η διαφορά των ολικών πρωτεϊνών του πλευριτικού υγρού και ορού >3,1g/dl όπως και η διαφορά της λευκωματίνης του πλευριτικού υγρού και ορού >1,2g/dl μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διαφορική διάγνωση των διιδρωματικών από τις εξιδρωματικές υπεζωκοτικές συλλογές<sup>42</sup>.

Τα **pH** του υπεζωκοτικού υγρού συνήθως είναι 7,6 ενώ στα εξιδρώματα 7,3-7,45. Η εξέταση του pH του υπεζωκοτικού υγρού γίνεται στα εξιδρώματα και η βοήθειά του περιορίζεται στις επιπλακείσες

παραπνευμονικές συλλογές δηλαδή στο κατά πόσο απαιτείται να τεθεί σωλήνας παροχετεύσεως ( $pH < 7,20$ ). Το γεγονός ότι τιμή  $pH > 7,20$  μπορεί να σημαίνει εκτός από επιπλακείσα παραπνευμονική συλλογή και ρήξη οισοφάγου, ρευματοειδή πλευρίτιδα, κακοήθη πλευρίτιδα, αιμοθώρακα, πλευρίτιδα του λύκου περιορίζει την αξία της μετρήσεως της παραμέτρου αυτής.

Μόλις 5000-10000 **ερυθροκύτταρα** ανά  $mm^3$  υπεζωκοτικού υγρού είναι αρκετά για να προσδώσουν αιματηρό χρώμα στο υπεζωκοτικό υγρό. Αυτό σημαίνει απλά ότι μόλις 1ml αίματος από τρώση αγγείου κατά την παρακέντηση μπορεί να δώσει την προαναφερθείσα όψη στο υπεζωκοτικό υγρό. Αρκετά συχνά 15% των διιδρωμάτων και 45% των εξιδρωμάτων έχουν αιματηρή όψη χωρίς να πρόκειται για αιμορραγικό υγρό ή αιμοθώρακα.

Ο αριθμός των **λευκοκυττάρων** στα διιδρώματα είναι περίπου 1000 ανά ml ενώ στα εξιδρώματα μεγαλύτερος του αριθμού αυτού. Το 50% των παραπνευμονικών συλλογών έχουν πάνω από 50000 ανά ml υπεζωκοτικού υγρού. Τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα υποδηλώνουν οξεία φλεγμονή των πετάλων του υπεζωκότα. Ο αριθμός των λευκοκυττάρων στα διιδρώματα δεν έχει ιδιαίτερη αξία. Η ιντερλευκίνη 8 (IL-8) είναι βασικός χημειοτακτικός παράγοντας των ουδετεροφίλων. Ο αριθμός των ουδετεροφύλων στο πλευριτικό υγρό συνδέεται με τα επίπεδα της IL-8 και στο εμπύημα είναι πολύ αυξημένα<sup>43</sup>.

Η παρουσία **ηωσινοφίλων** (>10%) στο υπεζωκοτικό υγρό συνδέεται συνήθως με την παρουσία αέρα ή αίματος στην υπεζωκοτική κοιλότητα<sup>44</sup>. Εάν πρόκειται για αιμορραγική υπεζωκοτική συλλογή τα ηωσινόφιλα συνήθως είναι >70%. Αν και τόσο εκσεσημασμένη ηωσινοφιλία σπάνια παρατηρείται σε κακοήθειες, τα αυξημένα ηωσινόφιλα δεν αποκλείουν την κακοήθη υπεζωκοτική συλλογή. Επίσης η υπεζωκοτική συλλογή οφειλόμενη σε πνευμονική εμβολή είναι συνήθως αιμορραγική και περιέχει



ηωσινόφιλα<sup>45</sup>. Σε ασθενείς στους οποίους ούτε αίμα ούτε αέρας μπορεί να δικαιολογήσει την παρουσία ηωσινοφίλων στο υπεζωκοτικό υγρό, οι Καλομενίδης και Light ανακοίνωσαν πως η πιο κοινή αιτία της ηωσινοφιλικής υπεζωκοτικής συλλογής ήταν ιδιοπαθής (39,8%), ακολουθούμενη από την κακοήθεια (17%), την παραπνευμονική συλλογή(12,5%), τα διιδρώματα(7,9%), τη φυματίωση(5,6%), την πνευμονική εμβολή(4,3%) και άλλα(12,8%)<sup>46</sup>.

Τα **λεμφοκύτταρα** στις υπεζωκοτικές συλλογές έχουν διαγνωστική αξία εφόσον υπερβαίνουν το 50% του αριθμού των κυττάρων του υπεζωκοτικού υγρού. Στην περίπτωση αυτή και εφόσον πρόκειται για μικρά λεμφοκύτταρα, η πιθανότητα να πρόκειται για φυματιώδη υπεζωκοτική συλλογή, κακοήθη ή υπεζωκοτική συλλογή μετά καρδιοχειρουργική επέμβαση είναι αρκετά υψηλή<sup>47</sup>. Μετά από ανάλυση συγκεκριμένων μελετών διαπιστώθηκε ότι σχεδόν όλες οι φυματιώδεις και τα δύο τρίτα των κακοήθων υπεζωκοτικών συλλογών έχουν καθ'υπεροχήν μικρά λεμφοκύτταρα<sup>48</sup>. Οι υποπλυθυσμοί των λεμφοκυττάρων δεν φαίνεται να σχετίζονται με την αιτία της φλεγμονής. Εάν τα λεμφοκύτταρα είναι πάνω από 80% σε εξιδρωματική συλλογή το κυριότερο αίτιο όπως προαναφέρθηκε είναι η φυματίωση αλλά και το λέμφωμα όπως επίσης και το σύνδρομο κίτρινων ονύχων, ο παγιδευμένος πνεύμονας και η οξεία απόρριψη μοσχεύματος<sup>49</sup>.

Τα **μεσοθηλιακά** κύτταρα ως γνωστό καλύπτουν την υπεζωκοτική κοιλότητα και βρίσκονται σε μικρό ποσοστό φυσιολογικά στο υπεζωκοτικό υγρό. Επί φυματιώδους συλλογής ο αριθμός των μεσοθηλιακών κυττάρων είναι εξαιρετικά χαμηλός (1 ανά 1000 κύτταρα)<sup>50</sup> αλλά και η παντελής απουσία τους απαντάται εκτός από τη φυματιώδη και στην κακοήθη υπεζωκοτική συλλογή.

Τα **μακροφάγα** στο υπεζωκοτικό υγρό προέρχονται είτε από τα κυκλοφορούντα μονοκύτταρα, είτε από τα μεσοθηλιακά κύτταρα. Δεν

έχουν ιδιαίτερη διαγνωστική αξία όπως και τα **βασεόφιλα** και τα **πλασματοκύτταρα**.

## **2.3. Διαγνωστική εκτίμηση δεικτών υπεζωκοτικού υγρού.**

### **2.3.1. Εξέταση υπεζωκοτικού υγρού για κακοήθη νόσο**

Η κυτταρολογική εξέταση του υπεζωκοτικού υγρού αποβαίνει θετική στο 90% των κακοήθων διηθήσεων του υπεζωκότα, όταν τρία τουλάχιστον δείγματα υπεζωκοτικού υγρού εξεταστούν από έμπειρο κυτταρολόγο (διακύμανση από 40%-87%)<sup>51</sup>. Διάφοροι παράγοντες μπορεί να επηρεάσουν το αποτέλεσμα. Πρώτον σε ασθενείς με επιβεβαιωμένη κακοήθη νόσο και υπεζωκοτική συλλογή, η τελευταία πιθανόν να οφείλεται σε άλλους παράγοντες όπως καρδιακή ανεπάρκεια, πνευμονική εμβολή, πνευμονία, block λεμφαδένων ή και υποπρωτεϊναιμία. Σε αυτούς τους ασθενείς δεν περιμένουμε η κυτταρολογική του πλευριτικού υγρού να είναι θετική. Για παράδειγμα είναι ασύνηθες στον μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα η κυτταρολογική να είναι θετική γιατί σε αυτές τις περιπτώσεις το υγρό είναι αποτέλεσμα ατελεκτασίας ή παρεμπόδισης παροχέτευσης αυτού από λεμφαδενικό block<sup>52</sup>. Η πιθανότητα επίσης θετικής κυτταρολογικής εξαρτάται από τον τύπο της κακοήθειας. Για παράδειγμα στο λέμφωμα η κυτταρολογική είναι θετική στο 75% των περιπτώσεων όταν πρόκειται για τον ιστοκυτταρικό τύπο και μόνο 25% για το non-Hodgkin λέμφωμα<sup>53</sup>. Επίσης είναι συχνότερα θετική στο αδενοκαρκίνωμα παρά στο σάρκωμα<sup>52</sup>. Σύμφωνα με τον Light σε ασθενείς με επιβεβαιωμένη κακοήθη νόσο και προσβολή του υπεζωκότα η κυτταρολογική του πρώτου δείγματος υπεζωκοτικού υγρού αποβαίνει θετική στο 60% των περιπτώσεων ενώ αν εκτιμηθούν τρία ξεχωριστά δείγματα υπεζωκοτικού υγρού η πιθανότητα η κυτταρολογική του υγρού να είναι θετική ανέρχεται στο 80%<sup>35</sup>.

Οι ανοσοϊστοχημικές μελέτες χρησιμοποιούν τα μονοκλωνικά αντισώματα για τη διαφοροδιάγνωση του μεσοθηλιώματος από το αδενοκαρκίνωμα. Διάφορες μελέτες αναφέρονται στα ανωτέρω αλλά ένα πρόσφατο άρθρο του Ordóñez καταλήγει στο ότι έως σήμερα οι καλύτεροι δείκτες για το αδενοκαρκίνωμα είναι το καρκινοεμβρυικό αντιγόνο(CEA) και MOC31 ενώ οι καλύτεροι δείκτες για το μεσοθηλίωμα είναι η καλρετινίνη και η κυτοκερατίνη<sup>54</sup>.

Η εξέταση επίσης ιστού με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο μπορεί να προσφέρει πολλά στη διάγνωση του μεσοθηλιώματος και του μεταστατικού καρκινώματος του πνεύμονα.

Αντικείμενο πολλών μελετών επίσης υπήρξε ο ρόλος των καρκινικών δεικτών στο υπεζωκοτικό υγρό για τη διαγνωστική προσέγγιση κακοήθους νόσου. Πολλοί καρκινικοί δείκτες όπως CEA<sup>55-56</sup>, CA15-3, CA19.9, CA549<sup>57</sup>, CA72.4<sup>58</sup>, κυτοκερατίνη19<sup>59</sup> έχουν μελετηθεί αλλά σύμφωνα με τον Light αν και οι αυξημένες τιμές είναι ενδεικτικές κακοήθειας οι παραπάνω δείκτες δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διάγνωση υπεζωκοτικών συλλογών<sup>60</sup>.

Στη βιβλιογραφία των τελευταίων ετών γίνεται λόγος επίσης για την κυτταρομετρία ροής, το ρόλο των ογκογονιδίων, του υαλορουνικού οξέος και της χρωμοσωμικής ανάλυσης ασθενών με κακοήθη υπεζωκοτική συλλογή.

### **2.3.2. Εξέταση υπεζωκοτικού υγρού για φυματιώδη πλευρίτιδα**

Η ανεύρεση του μυκοβακτηριδίου της φυματιώσεως στο υπεζωκοτικό υγρό σε περίπτωση φυματιώδους πλευρίτιδας δεν απαντάται συχνά ενώ η καλλιέργεια του υγρού αποβαίνει συχνότερα θετική αλλά δεν αποτελεί ευαίσθητο δείκτη διαγνώσεως της νόσου<sup>61</sup>. Παρά το γεγονός ότι η βιοψία του υπεζωκότα αποβαίνει συχνά διαγνωστική στην περίπτωση της

φυματιώδους υπεζωκοτικής συλλογής, επειδή υπάρχει ένα ποσοστό 30% περίπου όπου είναι αρνητική και επειδή αποτελεί επεμβατική μέθοδο, το ενδιαφέρον των ερευνητών έχει στραφεί σε άλλες μη επεμβατικές μεθόδους.

Η απαμινάση της αδενοσίνης (ADA) είναι ένα ένζυμο το οποίο καταλύει την μετατροπή της αδενοσίνης σε ινοσίνη και αποτελεί αξιόπιστο διαγνωστικό εργαλείο για τη φυματιώδη πλευρίτιδα<sup>62-63</sup>. Επίπεδα της ADA πάνω από 40-45U/L είναι ενδεικτικά φυματιώδους πλευρίτιδας και σύμφωνα με τον Light όσο υψηλότερη είναι η τιμή της, τόσο πιθανότερη είναι η διάγνωση της φυματιώδους πλευρίτιδας. Τιμές ADA πάνω από 70U/L σε μια συλλογή που δεν είναι εμπύημα ή οφειλόμενη σε ρευματοειδή αρθρίτιδα θέτουν με βεβαιότητα τη διάγνωση της φυματιώδους υπεζωκοτικής συλλογής.

Η ιντερφερόνη-γ(INF-γ) έχει εξαιρετικό συνδυασμό ευαισθησίας και ειδικότητας 96% έναντι της ADA 93%<sup>64-65</sup> για τη διάγνωση της φυματιώδους πλευρίτιδας αλλά συνήθως προτιμάται η μέτρηση της δεύτερης, η οποία αποτελεί πολύ φθηνότερη μέθοδο.

### **2.3.3. Ο ανοσολογικός έλεγχος του υπεζωκοτικού υγρού**

Τα νοσήματα του κολλαγόνου, τα οποία μπορεί να προκαλέσουν προσβολή του υπεζωκότα είναι ο ερυθρηματώδης λύκος(50%) και η ρευματοειδής αρθρίτιδα(5%). Η ανεύρεση του τίτλου του ρευματοειδούς παράγοντος(RF) 1:320 και ταυτόχρονα και στον ορό πάνω από 1:320 αποτελεί ισχυρό διαγνωστικό κριτήριο της ρευματοειδούς αρθρίτιδας<sup>66</sup>. Η μέτρηση των αντιπηρυνικών αντισωμάτων(ANA) του υπεζωκοτικού υγρού αποτελεί την καλύτερη μέθοδο διαγνώσεως της υπεζωκοτικής συλλογής οφειλόμενης σε ερυθρηματώδη λύκο. Τιμές μάλιστα πάνω από 1:160 και σχέση ANA υπεζωκοτικού υγρού προς ANA ορού μεγαλύτερη ή ίση της μονάδας είναι ενδεικτική πλευρίτιδας οφειλόμενης στον ΣΕΛ<sup>67</sup>.

#### **2.3.4. Έλεγχος λιπιδίων του υπεζωκοτικού υγρού**

Ο Staats και οι συνεργάτες του από τη Mayo Clinic μελέτησαν τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων και της χοληστερόλης και ανακοίνωσαν ότι όταν τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων είναι άνω των 110mg/dl σημαίνει ότι το υγρό είναι χυλοθώρακας και όταν η εξέταση του ιζήματος αποκαλύπτει κρυστάλλους χοληστερόλης τότε πρόκειται για ψευδοχυλοθώρακα<sup>68</sup>.

#### **2.3.5. Η καλλιέργεια του υπεζωκοτικού υγρού**

Εάν το υγρό είναι πολυμορφοπυρηνικό εξίδρωμα θα πρέπει να αποστέλλεται για χρώση Gram και καλλιέργεια υπό αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες. Η χρώση Ziehl Nielsen είναι συνήθως αρνητική εκτός αν πρόκειται για φυματιώδες εμπύημα. Η καλλιέργεια του υγρού για b-Koch μπορεί να δώσει συχνότερα θετικά αποτελέσματα εφόσον πρόκειται για φυματιώδη πλευρίτιδα και μάλιστα το ταχύτερο χρονικό διάστημα με τη μέθοδο BACTEC(18 ημέρες) σε σχέση με το συνήθη τρόπο καλλιέργειας(34 ημέρες)<sup>69</sup>.

### **3. ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΩΝ ΣΥΛΛΟΓΩΝ ΣΕ ΔΙΔΡΩΜΑΤΑ ΚΑΙ ΕΞΙΔΡΩΜΑΤΑ**

Σε κάθε ασθενή με επιβεβαιωμένη υπεζωκοτική συλλογή απεικονιστικά, με απλή ακτινογραφία θώρακος ή υπερηχογράφημα θώρακος, θα πρέπει να γίνεται θωρακοκέντηση από έμπειρο κλινικό ιατρό με σκοπό να ταυτοποιηθεί ο τύπος του υγρού δηλαδή αν είναι διίδρωμα ή εξίδρωμα έτσι ώστε να αρχίσει σωστά η διαγνωστική προσέγγιση. Όπως αναφέραμε αναλυτικά παραπάνω οι υπεζωκοτικές συλλογές διακρίνονται σύμφωνα με τα κριτήρια του Light σε διιδρώματα και εξιδρώματα (Πίνακας 1).

**ΠΙΝΑΚΑΣ 1.** Διαφορική διάγνωση υπεζωκοτικών συλλογών, Light 2003

<p><b>I. ΔΙΙΔΡΩΜΑΤΑ</b></p> <p>A. Καρδιακή ανεπάρκεια B. Κίρρωση ήπατος C. Νεφρωσικό σύνδρομο D. Σύνδρομο άνω κοίλης E. Περιτοναϊκή κάθαρση F. Ουρινοθώρακας G. Σπειραματονεφρίτιδα H. Μυξοίδημα I. Υποαλβουμιναιμία J. Πνευμονική εμβολή K. Σαρκοείδωση</p> <p><b>II. ΕΞΙΔΡΩΜΑΤΑ</b></p> <p><b>A. Νεοπλάσματα</b></p> <p>i. Μεταστατική νόσος ii. Μεσοθηλίωμα iii. Λέμφωμα</p> <p><b>B. Λοιμώδη νοσήματα</b></p> <p>i. Φυματίωση ii. Βακτηριακές λοιμώξεις iii. Μυκητιασικές iv. Παρασιτικές v. Ιογενείς</p> <p><b>C. Πνευμονική εμβολή</b></p> <p><b>D. Παθήσεις ΓΕΣ</b></p> <p>i. Παγκρεατική νόσος ii. Ενδοηπατικό απόστημα iii. Ρήξη οισοφάγου iv. Διαφραγματοκήλη</p> <p><b>E. Παθήσεις καρδιάς</b></p> <p>i. Σύνδρομο Dressler ii. Σύνδρομο μετά περικαρδιοτομή</p>	<p><b>F. Γυναικολογικά νοσήματα</b></p> <p>i. Σύνδρομο Meigs ii. Ενδομητρίωση iii. Σύνδρομο υπερδιέγερσης ωοθηκών</p> <p><b>G. Αυτοάνοσα νοσήματα</b></p> <p>i. ΣΕΛ ii. Ρευματοειδής αρθρίτιδα iii. Σύνδρομο Sjogren iv. Σύνδρομο Churg-Strauss</p> <p><b>H. Φάρμακα</b></p> <p>i. Νιτροφουραντοίνη ii. Δαντρολένη iii. Μεθουσεργίδη iv. Αμιωδαρόνη v. Προκαρβαζίνη vi. Μεθοτρεξάτη vii. Κλοζαπίνη</p> <p><b>I. Διάφορα</b></p> <p>i. Έκθεση σε άσβεστο ii. Yellow nail syndrome iii. Παγιδευμένος πνεύμονας iv. Αμυλοείδωση v. Ουραιμία vi. Τραύμα</p> <p><b>J. Αιμοθώρακας</b></p> <p><b>K. Χυλοθώρακας</b></p>
--	---

Ο παρακάτω πίνακας αναφέρεται στον ετήσιο αριθμό νοσημάτων που προκαλούν υπεζωκοτική συλλογή στις Η.Π.Α.

<b>ΠΙΝΑΚΑΣ 2.</b> Ετήσιος αριθμός νοσημάτων που προκαλούν υπεζωκοτική συλλογή στις Η.Π.Α	
<b>Νόσος</b>	<b>Αριθμός περιστατικών κατά έτος</b>
1. Συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια	500000
2. Παραπνευμονική συλλογή	300000
3. Κακοήθης υπεζωκοτική συλλογή	200000
4. Πνευμονική εμβολή	150000
5. Ιογενείς νόσοι	100000
6. Κίρρωση με ασκίτη	50000
7. Μετά αορτοστεφανιαία παράκαμψη	50000
8. Νοσήματα του γαστρεντερικού	25000
9. Φυματίωση	2500
10. Μεσοθηλίωμα	2500
11. Έκθεση σε αμιάντο	2500

Στην Ελλάδα η φυματίωση θα πρέπει να καταλάβει την 3<sup>η</sup> με 4<sup>η</sup> θέση.  
Light 5<sup>η</sup> έκδοση, 2007

### **3.1. ΔΙΙΔΡΩΜΑΤΑ**

Διιδρώματα δημιουργούνται όταν οι παράγοντες οι οποίοι προκαλούν μετακίνηση υγρού από την υπεζωκοτική κοιλότητα προς τα λεμφικά αγγεία του περιτόνου πετάλου του υπεζωκότα δεν λειτουργούν αποτελεσματικά. Τα κυριότερα αίτια τα οποία προκαλούν διιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή είναι τα κατωτέρω:



### 3.1.1. Καρδιακή ανεπάρκεια

Η συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια αποτελεί το συχνότερο αίτιο υπεζωκοτικής συλλογής γενικά<sup>70</sup> αλλά και το συχνότερο αίτιο διιδρωματικής υπεζωκοτικής συλλογής<sup>71</sup>. Οι γνώσεις σχετικά με την παθοφυσιολογία της συλλογής του υγρού στην υπεζωκοτική κοιλότητα έχουν αυξηθεί τα τελευταία χρόνια και δεν θεωρείται πλέον ότι το υγρό είναι αποτέλεσμα αυξημένων υδροστατικών πιέσεων στα τριχοειδή του περίτονου πετάλου του υπεζωκότα και ελαττωμένης επαναρροφήσεώς του από τον περισπλάχνιο υπεζωκότα, σύμφωνα με την εξίσωση του Starling. Αντίθετα σήμερα πιστεύεται πως η οδός διαφυγής είναι κυρίως τα κυψελιδικά τριχοειδή απ' όπου λόγω αυξημένων υδροστατικών πιέσεων αυτό διαφεύγει στο διάμεσο χώρο<sup>72</sup>. Το υγρό στη συνέχεια συσσωρευόμενο στο διάμεσο χώρο αυξάνει την πίεσή του όπως και την πίεση του στον υποϋπεζωκοτικό διάμεσο χώρο με αποτέλεσμα τη μετακίνησή του από το διάμεσο πνευμονικό χώρο, διασχίζοντας τον περισπλάχνιο υπεζωκότα, προς την υπεζωκοτική κοιλότητα. Στη συνέχεια απομακρύνεται από τον υπεζωκοτικό χώρο από τα προαναφερθέντα «στόματα», τα οποία βρίσκονται στο περίτονο πέταλο του υπεζωκότα και αποτελούν την απαρχή της λεμφικής κυκλοφορίας. Ελάχιστο υγρό απομακρύνεται από τα τριχοειδή του περισπλάχνιου υπεζωκότα<sup>73</sup>. Όταν ο ρυθμός εισόδου του υγρού στον υπεζωκοτικό χώρο υπερβαίνει τη δυνατότητα της λεμφικής κυκλοφορίας να το απομακρύνει, τότε συσσωρεύεται στην υπεζωκοτική κοιλότητα. Σύμφωνα με μία μελέτη των Wiener-Kronish και συνεργατών ποσοστό άνω του 50% επί 37 ασθενών που μελετήθηκαν με συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, παρουσίαζε υπεζωκοτική συλλογή<sup>74</sup>. Τα αίτια της συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας ήταν ισχαιμία της αριστεράς κοιλίας ή μυοκαρδιοπάθεια και η μέση πίεση ενσφήνωσης στους ασθενείς με υπεζωκοτική συλλογή ήταν περί τα 25mmHg στατιστικά σημαντικά υψηλότερη από την τιμή 18mmHg εκείνων χωρίς υπεζωκοτική συλλογή. Οι ίδιοι συγγραφείς αναφέρουν επίσης ότι η ύπαρξη σοβαρού βαθμού

πνευμονικού οιδήματος συνοδεύεται, σε μεγάλο βαθμό, από υπεζωκοτική συλλογή σε αντίθεση με το ηπίου βαθμού πνευμονικό οίδημα.

Οι κλινικές εκδηλώσεις είναι εκείνες της καρδιακής ανεπάρκειας, με δύσπνοια τύπου ορθόπνοιας και συσφικτικό άλγος κατά την κόπωση. Η απλή ακτινογραφία θώρακος αποκαλύπτει συνήθως αμφοτερόπλευρη υπεζωκοτική συλλογή και καρδιομεγαλία. Σε μία τελευταία ανασκόπηση προηγούμενων μελετών<sup>75</sup> διαπιστώθηκε ότι από τις 444 διιδρωματικές συλλογές που μελετήθηκαν 69% ήταν αμφοτερόπλευρες ενώ οι υπόλοιπες ήταν ετερόπλευρες από τις οποίες 21% εντοπιζονταν δεξιά και 9% αριστερά. Πρέπει να είμαστε προσεκτικοί στην ευκολία με την οποία αποδίδουμε μία συλλογή στην καρδιακή ανεπάρκεια τη στιγμή 25% των ασθενών, σύμφωνα με τον Race<sup>76</sup>, το αίτιο της υπεζωκοτικής συλλογής ασθενών με καρδιακή ανεπάρκεια ήταν πνευμονική εμβολή ή πνευμονία. Σε ασθενείς επομένως με καρδιομεγαλία και αμφοτερόπλευρη υπεζωκοτική συλλογή, οι οποίοι είναι απύρετοι και δεν έχουν πλευριτικό πόνο, δεν γίνεται θωρακοκέντηση αλλά αντιμετωπίζονται με διουρητικά και εκτιμάται η υποχώρηση ή όχι της υπεζωκοτικής συλλογής. Αν δεν υποχωρεί τότε γίνεται θωρακοκέντηση. Το πρόβλημα σε αυτή την περίπτωση είναι ότι με τη διούρηση τα χαρακτηριστικά του υπεζωκοτικού υγρού αλλάζουν και εφαρμόζοντας τότε τα κριτήρια του Light στο υγρό μπορεί το τελευταίο να εκτιμηθεί λανθασμένα ως εξίδρωμα. Συγκεκριμένα 15-20% των διιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών ασθενών με καρδιακή ανεπάρκεια εκτιμώνται ως εξιδρώματα σύμφωνα με τα κριτήρια του Light<sup>77</sup>. Σε αυτές τις περιπτώσεις εφαρμόζεται η διαφορά των ολικών πρωτεϊνών και η διαφορά της αλβουμίνης υπεζωκοτικού υγρού και ορού. Όταν η διαφορά των ολικών πρωτεϊνών υπεζωκοτικού υγρού και ορού είναι μεγαλύτερη από 3,1g/dl ή η διαφορά αλβουμίνης υπεζωκοτικού και ορού είναι μεγαλύτερη από 1,2g/dl τότε πρόκειται για διιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή πιθανόν οφειλόμενη σε καρδιακή ανεπάρκεια<sup>78</sup>.

### 3.1.2. Ηπατικός υδροθώρακας

Μικρό ποσοστό ασθενών (περίπου 6%) με κίρρωση ήπατος παρουσιάζει διιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή συνηθέστερα δεξιά και σπανιότερα αριστερά ή αμφοτερόπλευρα<sup>79</sup>. Ποτέ σχεδόν δεν διαπιστώνεται διιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή όταν απουσιάζει η περιτοναϊκή συλλογή υγρού. Παρά το γεγονός ότι παλαιότερα θεωρήθηκε ότι η υπολευκωματιναιμία παίζει βασικό ρόλο στην πρόκληση της διιδρωματικής υπεζωκοτικής συλλογής σήμερα πιστεύεται ότι η ύπαρξη του υγρού στην υπεζωκοτική κοιλότητα είναι αποτέλεσμα μετακινήσεώς του από την περιτοναϊκή κοιλότητα. Παρά τις κατά καιρούς διατυπωθείσες θεωρίες ότι το υγρό από την περιτοναϊκή κοιλότητα μεταφέρεται στον υπεζωκότα μέσω των λεμφαγγείων φαίνεται ότι αυτό δεν ισχύει σήμερα και θεωρείται ότι η μετακίνηση αυτού του υγρού γίνεται μέσω των ελλειμμάτων του διαφράγματος<sup>80</sup>. Η τιμή της πρωτεΐνης του υπεζωκοτικού υγρού είναι συνήθως μεγαλύτερη από εκείνη του ασκίτικου αλλά μικρότερη από 3g/dl ενώ η LDH είναι πολύ χαμηλή. Η θεραπευτική προσέγγιση περιλαμβάνει την αντιμετώπιση του ασκίτη με δίαιτα πτωχή σε άλας και διουρητική αγωγή.

### 3.1.3. Νεφρική νόσος

#### A. Περιτοναϊκή διάλυση

Το υγρό το οποίο χρησιμοποιείται για την ανωτέρω μέθοδο μπορεί να διέλθει από την περιτοναϊκή κοιλότητα μέσω του διαφράγματος στην υπεζωκοτική κοιλότητα και να προκαλέσει διιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή. Το υγρό συνήθως αναπτύσσεται μετά από ένα μήνα και εντοπίζεται κατά 90% δεξιά<sup>81</sup>. Η πρωτεΐνη του υγρού είναι συνήθως κάτω από 1g/dl και η LDH κάτω από 100IU/L.

## **Β. Νεφρωσικό σύνδρομο**

Η διιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή αποτελεί κοινή εκδήλωση (21%) ασθενών με νεφρωσικό σύνδρομο. Ο μηχανισμός που ευθύνεται για την πρόκληση υπεζωκοτικής συλλογής είναι ο συνδυασμός αυξημένης υδροστατικής πίεσης στα τριχοειδή και ελαττωμένης της κολλοειδωσμοτικής πίεσης του πλάσματος<sup>82</sup>. Η διάγνωση της υπεζωκοτικής συλλογής της οφειλόμενης σε νεφρωσικό σύνδρομο δεν είναι εύκολη και πρέπει να εφαρμόζεται διαγνωστική θωρακοκέντηση. Πάντα θα πρέπει να λαμβάνεται σοβαρά υπόψη η πιθανότητα της πνευμονικής εμβολής. Η θεραπευτική προσέγγιση των ασθενών αυτών περιλαμβάνει δίαιτα πτωχή σε πρωτεΐνες και χρήση αναστολέων της αγγειοτενσίνης με σκοπό τον περιορισμό της απώλειας πρωτεϊνών από τα ούρα.

## **Γ. Σπειραματονεφρίτιδα**

Οι περισσότεροι ασθενείς (άνω του 55%) με σπειραματονεφρίτιδα αναπτύσσουν υδροθώρακα ίσως λόγω αυξημένων ενδαγγειακών πιέσεων οπότε και οι περισσότεροι ασθενείς συνήθως εμφανίζουν καρδιομεγαλία και περιφερικά οιδήματα ως αποτέλεσμα των υπεζωκοτικών συλλογών<sup>83</sup>.

## **Δ. Ουρινοθώρακας**

Ουρινοθώρακας είναι η κατάσταση κατά την οποία μετακινούνται ούρα από τον οπισθοπεριτοναϊκό χώρο προς την υπεζωκοτική κοιλότητα λόγω διαφυγής τους από την αποχετευτική οδό εξαιτίας τραυματισμού, αποφράξεως, οπισθοπεριτοναϊκής φλεγμονής, κακοήθους εξεργασίας, αποτυχημένης νεφροστομίας ή βιοψίας. Η εκδήλωση αυτή είναι σπάνια. Ως το 2006, 56 περιπτώσεις έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία<sup>84</sup>.

#### **3.1.4. Μυξοίδημα**

Η υπεζωκοτική συλλογή συνοδεύει σπάνια τον υποθυρεοειδισμό, περίπου 5%, και μπορεί να είναι είτε διίδρωμα είτε εξίδρωμα. Συνήθως συνοδεύεται με περικαρδιακή συλλογή και η θεραπευτική αντιμετώπιση είναι η αποκατάσταση της δυσλειτουργίας του θυρεοειδούς αδένου.

#### **3.1.5. Υποαλβουιναιμία**

Η υπολευκωματιναιμία σύμφωνα με την εξίσωση του Starling προκαλεί συσσώρευση υγρού στην υπεζωκοτική κοιλότητα. Σύμφωνα με τη μελέτη των Eid και συνεργατών<sup>85</sup> σπάνια η υπολευκωματιναιμία από μόνη της προκαλεί υπεζωκοτική συλλογή αν και η μελέτη των Mattison και συνεργατών<sup>86</sup> έδειξε ότι 8% από 62 υπεζωκοτικές συλλογές σε ασθενείς νοσηλευόμενους σε μονάδα εντατικής θεραπείας οφείλονταν στην υπολευκωματιναιμία.

#### **3.1.6. Πνευμονική εμβολή**

Η πνευμονική εμβολή μπορεί να προκαλέσει διιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή (20%) αν και μία τελευταία μελέτη με 60 ασθενείς με πνευμονική εμβολή αποκαλύπτει πως όλες οι υπεζωκοτικές συλλογές ήταν εξιδρώματα<sup>87</sup>.

#### **3.1.7. Απόφραξη της άνω κοίλης φλέβας**

Η απόφραξη της άνω κοίλης φλέβας προκαλεί τόσο διιδρωματική όσο και εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή. Η ύπαρξη υγρού στην υπεζωκοτική κοιλότητα δεν οφείλεται τόσο στη δυσχέρεια παροχетеύσεως του υπεζωκοτικού υγρού όσο στην κακοήθη διήθηση του υπεζωκότα.

## **3.2. ΕΞΙΔΡΩΜΑΤΑ**

### **3.2.1. Κακοήθης υπεζωκοτική συλλογή**

#### **A. Μεταστατική διήθηση του υπεζωκότα από κακοήθη νεοπλάσματα**

Η μεταστατική διήθηση του υπεζωκότα αποτελεί τη δεύτερη ή τρίτη αιτία εξιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών μετά την παραπνευμονική συλλογή και τη φυματιώδη πλευρίτιδα . Ο καρκίνος του πνεύμονα<sup>88</sup> και του μαστού<sup>89</sup> αποτελούν τα δύο συχνότερα αίτια μεταστατικής διήθησης του υπεζωκότα σε ποσοστό 70%. Άλλες κακοήθεις νεοπλασίες περιλαμβάνουν το λέμφωμα, τη λευχαιμία, τον καρκίνο των ωοθηκών, το σάρκωμα, τον καρκίνο της μήτρας και τον καρκίνο του πεπτικού συστήματος.

Ποσοστό περίπου 50% των ασθενών με καρκίνο πνεύμονα θα αναπτύξουν, κατά τη διάρκεια της πορείας της νόσου, υπεζωκοτική συλλογή. Συχνότερα η τελευταία απαντάται σε ασθενείς με αδenoκαρκίνωμα πνεύμονα και σε ασθενείς οι οποίοι έχουν αντισώματα anti-p53<sup>90</sup>. Αρκετές φορές απαντάται υπεζωκοτική συλλογή μετά από χειρουργική αντιμετώπιση του αδenoκαρκινώματος του πνεύμονα και εμφανίζεται 8 μήνες μετά το χειρουργείο. Είναι σημαντικό να τονίσουμε ότι η παρουσία της υπεζωκοτικής συλλογής είτε με θετική είτε με αρνητική κυτταρολογική αποκλείει τη χειρουργική παρέμβαση. Η παρουσία επίσης της υπεζωκοτικής συλλογής στο μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα κατηγοριοποιεί τον τελευταίο στο στάδιο IV<sup>91</sup>.

Όσον αφορά στον καρκίνο του μαστού περίπου 48% των ασθενών εμφανίζουν υπεζωκοτική συλλογή κατά την πορεία της νόσου. Το αίτιο συνήθως είναι η λεμφαδενική απόφραξη και η συλλογή εντοπίζεται κατά 58% σύστοιχα με τον προσβληθέντα μαστό. Η εμφάνιση της υπεζωκοτικής

συλλογής γίνεται συνήθως 2 με 20 χρόνια μετά από τη διάγνωση του καρκίνου του μαστού<sup>92</sup>.

Το λέμφωμα αποτελεί την τρίτη αιτία κακοήθους υπεζωκοτικής συλλογής μετά τα ανωτέρω. Οι ασθενείς με Hodgkin λέμφωμα σε κάποια φάση της διαδρομής της νόσου θα εμφανίσουν σε ποσοστό 16% υπεζωκοτική συλλογή συγχρόνως με ενδοθωρακική λεμφαδενοπάθεια, χωρίς τις περισσότερες φορές ωστόσο να υπάρχει μικροσκοπική προσβολή του υπεζωκότα<sup>93</sup>. Αντίθετα το non-Hodgkin λέμφωμα διηθεί σχεδόν πάντα τον υπεζωκότα. Η κυτταρολογική του υπεζωκοτικού υγρού είναι συνήθως θετική σε όλες τις περιπτώσεις<sup>94</sup>. Κατά την πορεία της νόσου περίπου 40% των ασθενών θα εμφανίσουν υπεζωκοτική συλλογή, η οποία στο 20% των περιπτώσεων είναι χυλοθώρακας<sup>94</sup>. Στο πολλαπλούν μυέλωμα η παρουσία υπεζωκοτικής συλλογής είναι περίπου 1% και εμφανίζεται συνήθως 12 μήνες μετά από την εμφάνιση της νόσου<sup>95</sup>.

Αρκετοί μηχανισμοί ευθύνονται για την πρόκληση υπεζωκοτικής συλλογής σε πνευμονικό καρκίνο, ο σημαντικότερος των οποίων θεωρείται η αύξηση της διαπερατότητας των τριχοειδών, πιθανόν λόγω αυξημένης παραγωγής του αυξητικού παράγοντος του ενδοθηλίου των αγγείων (VEGF) στους ασθενείς αυτούς<sup>96,97</sup>. Στους ανωτέρω μηχανισμούς συγκαταλέγονται η διήθηση του υπεζωκότα με απόφραξη της λεμφικής οδού, η προσβολή των λεμφαδένων του μεσοπνευμονίου με αποτέλεσμα την ελάττωση της ροής διά των λεμφαγγείων του υπεζωκότα, η ρήξη του θωρακικού πόρου, η βρογχική απόφραξη και η διήθηση του περικαρδίου. Η ακτινοβολία επίσης στην οποία υποβάλλονται οι καρκινοπαθείς μπορεί να προκαλέσει υπεζωκοτική συλλογή.

Το υπεζωκοτικό υγρό στην κακοήθη υπεζωκοτική συλλογή είναι εξιδρώμα στο 95% των περιπτώσεων<sup>98</sup>. Ποσοστό περίπου 50% των κακοήθων συλλογών είναι αιμορραγικές και αντίστροφα 50% των αιμορραγικών συλλογών είναι κακοήθεις. Τα ποσοστά των λευκοκυττάρων

στις κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές κυμαίνεται από 1000-10000/mm. Ο τύπος των κυττάρων είναι λεμφοκυτταρικός ή μονοκυτταρικός με ποσοστό περίπου 40-45%<sup>99</sup>. Στο παρελθόν η παρουσία εωσινοφίλων >10% στο υπεζωκοτικό υγρό απέκλειε την κακοήθεια. Ωστόσο σε μία πρόσφατη μελέτη 392 ηωσινοφιλικών υπεζωκοτικών συλλογών η κακοήθεια αποτελούσε το 17% της τελικής διάγνωσης<sup>46</sup>.

Η διάγνωση της κακοήθους υπεζωκοτικής συλλογής γίνεται όπως αναφέρθηκε και παραπάνω με την κυτταρολογική του υπεζωκοτικού υγρού, η οποία αποβαίνει θετική στο 40-87% των περιπτώσεων, τις ανοσοϊστοχημικές εξετάσεις και τη βιοψία υπεζωκότα. Η διαγνωστική αξία της κυτταρολογικής του υπεζωκοτικού υγρού αυξάνει στο 80% όταν τρία ξεχωριστά δείγματα εξεταστούν από έμπειρο κυτταρολόγο<sup>100</sup>. Η βιοψία διαβελόνης αποβαίνει θετική στο 39-75% των ασθενών με κακοήθεια και έχει μικρότερη διαγνωστική αξία από την κυτταρολογική του υπεζωκοτικού υγρού τη στιγμή που σε πάνω από τους μισούς ασθενείς με κακοήθη νόσο δεν έχουμε προσβολή του περιτόνου πετάλου του υπεζωκότα<sup>101</sup>. Συνιστάται συνήθως να εφαρμόζονται και οι κυτταρολογικές του υπεζωκοτικού υγρού και η βιοψία του υπεζωκότα αν οι πρώτες δεν δώσουν διάγνωση. Ο Light προτείνει την παρακάτω αλγοριθμική προσέγγιση της λεμφοκυτταρικής εξιδρωματικής υπεζωκοτικής συλλογής (Πίνακας 3) και μία αλγοριθμική προσέγγιση αντιμετώπισης της κακοήθους υπεζωκοτικής συλλογής (Πίνακας 4).



**ΠΙΝΑΚΑΣ 3.** Αλγοριθμική προσέγγιση λεμφοκυτταρικής υπεζωκοτικής συλλογής

**1° βήμα:** Κυτταρολογικές εξετάσεις υπεζωκοτικής συλλογής+απλή εξέταση για b-Koch

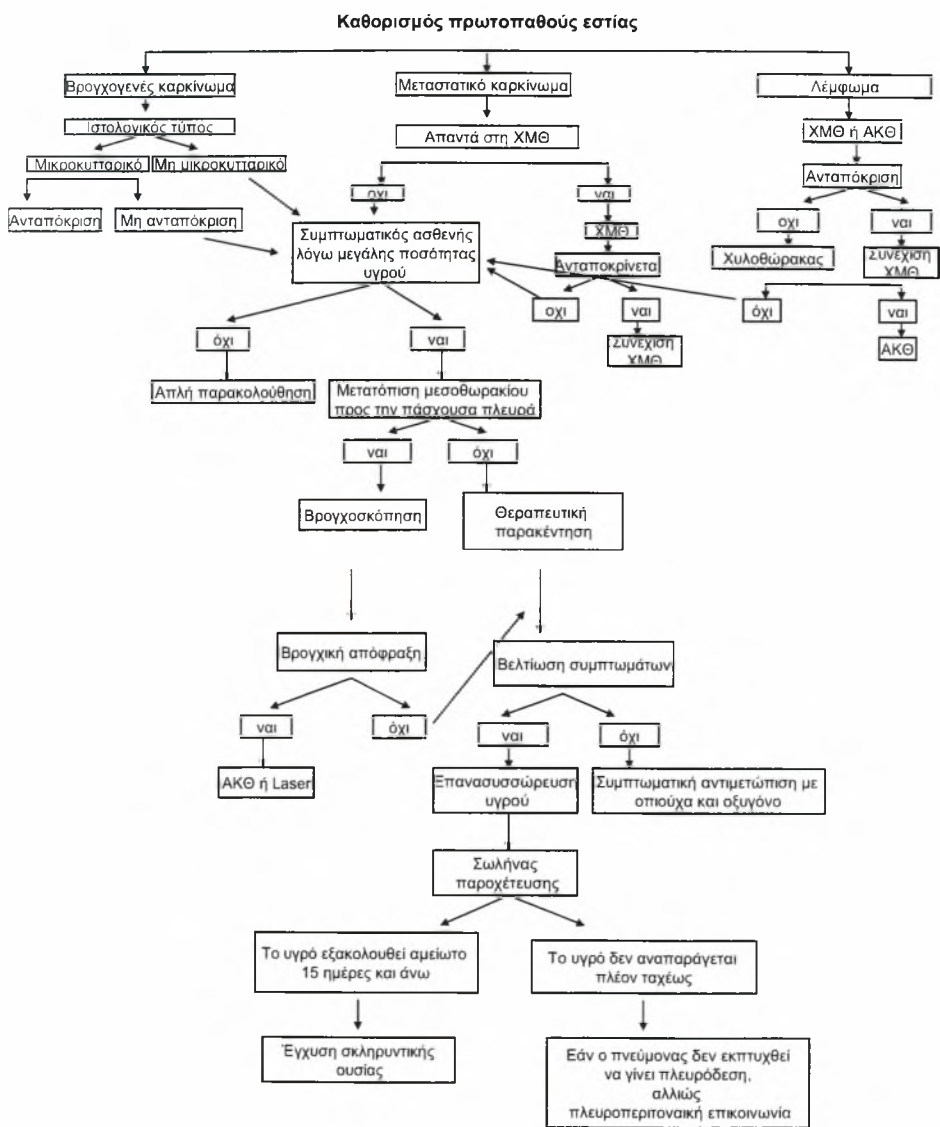
**2° βήμα:** Εάν είναι αρνητικές οι κυτταρολογικές(και η απλή για b-Koch) εκτελείται ελικοειδής CT προς τεκμηρίωση ή αποκλεισμό της διαγνώσεως της πνευμονικής εμβολής, αφού αφαιρεθεί όσο υγρό είναι δυνατόν

**3° βήμα:** Επί αρνητικής της εξετάσεως για πνευμονική εμβολή, εφόσον διαπιστωθεί παρεγχυματική αλλοίωση εκτελείται βρογχοσκόπηση

**4° βήμα:** Εάν όλα τα ανωτέρω είναι αρνητικά και η CT αποκαλύψει εικόνα πιθανού μεσοθελιώματος τότε εκτελείται θωρακοσκόπηση

**5° βήμα:** Εάν η CT είναι αρνητική τότε, επί καλής γενικής κατάστασης, απουσίας ιστορικού καρκίνου και αρνητικής mantoux ο ασθενής απλώς παρακολουθείται για λίγες εβδομάδες καθότι είναι ελάχιστα πιθανό να παρουσιάζει καρκίνο. Εάν η mantoux είναι θετική ή θετικοποιηθεί στην πορεία της παρακολούθησης τότε ο ασθενής τίθεται σε αντιφυματική αγωγή

**6° βήμα:** Εάν η CT είναι αρνητική και ο ασθενής επιδεινώνεται, εκτελείται θωρακοσκοπική βιοψία(VATS), θέτει τη διάγνωση στο 90% των περιπτώσεων.



**ΠΙΝΑΚΑΣ 4.** Στρατηγική αντιμετώπισης της κακοήθους υπεζωκοτικής συλλογής(Light 2003)

### 3.2.2. Παραπνευμονική συλλογή-Εμπύημα

Η πνευμονία παρά την αγωγή με τα αντιβιοτικά αποτελεί μία από τις κυριότερες αιτίες νοσηρότητας και θνητότητας στις προηγμένες χώρες<sup>102</sup>. Ποσοστό 20% των ασθενών αυτών θα νοσηλευτούν σε νοσοκομείο και 40% θα αναπτύξουν υπεζωκοτική συλλογή<sup>103</sup>. Η θνητότητα των ασθενών με παραπνευμονική συλλογή είναι 2,7 φορές μεγαλύτερη από εκείνη των ασθενών με πνευμονία χωρίς παραπνευμονική συλλογή. Παραπνευμονική συλλογή ορίζεται η εξιδρωματική πολυμορφοπυρηνική συλλογή, η οποία συνοδεύεται με αντίστοιχη βακτηριακή πνευμονία, πνευμονικό απόστημα ή βρογχεκτασίες. Ως εμπύημα ορίζεται η συλλογή πυώδους υγρού, το οποίο είναι πολυμορφοπυρηνικό εξίδρωμα. Το κύριο ερώτημα για τον ασθενή με παραπνευμονική συλλογή είναι πότε πρέπει να τοποθετηθεί σωλήνας παροχέτευσης. Σύμφωνα με τον Light ο όρος επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή αναφέρεται σε εκείνες τις συλλογές που δεν μπορούν να υποχωρήσουν αν δεν τοποθετηθεί άμεσα σωλήνας παροχέτευσης.

Η παθογένεια της παραπνευμονικής συλλογής μπορεί να διακριθεί σε τρία στάδια. Εάν η πρώιμη φλεγμονώδης αντίδραση των μεσοθηλιακών κυττάρων του υπεζωκότα δεν αποδειχθεί επαρκής στην αντιμετώπιση της υπεζωκοτικής λοιμώξεως, προκαλείται η παραπνευμονική συλλογή, η οποία εξελίσσεται μέσω τριών σταδίων και είναι δυνατόν να μεταπέσει σε εμπύημα. Το αρχικό στάδιο το οποίο καλείται εξιδρωματικό χαρακτηρίζεται από συσσώρευση λεπτόρευστου, πλούσιου σε πρωτεΐνη υγρού, το οποίο περιέχει μικρό σχετικά αριθμό ουδετεροφίλων. Τα φλεγμαίνοντα πέταλα του υπεζωκότα είναι ακόμη εύκαμπτα και ο παρακείμενος πνεύμονας διατηρεί την ικανότητά του να επανεκπτυχθεί προς το θωρακικό τοίχωμα μετά την απομάκρυνση του υγρού. Οι ασθενείς οι οποίοι εμφανίζουν αυτό το στάδιο είναι πιο εύκολο να αναρρώσουν πλήρως μετά την επιτυχή κλειστή παροχέτευση της υπεζωκοτικής κοιλότητας. Μετά το εξιδρωματικό στάδιο αναπτύσσεται το ινωδοπυογόνο, το οποίο χαρακτηρίζεται από εκτεταμένη υπεζωκοτική φλεγμονή οπότε και το υγρό καθίσταται θολερό

και κολλώδεις. Η εναπόθεση ινώδους προκύπτει λόγω ενεργοποίησης των παραγόντων της πήξεως εντός του υπεζωκότα με παράλληλη μείωση της ινωδολυτικής δραστηριότητας. Στο τρίτο στάδιο το υγρό καθίσταται πυώδες, περατώνεται η είσοδος ινοβλαστών και δημιουργείται ίνωση μεταξύ των πετάλων του υπεζωκότα, η οποία παρεμποδίζει περαιτέρω την έκπτυξη του πνεύμονα<sup>104-105</sup>.

Τα συχνότερα ενοχοποιούμενα μικρόβια που προκαλούν παραπνευμονική συλλογή είναι ο χρυσίζων σταφυλόκοκκος, ο πυογόνος στρεπτόκοκκος, τα Gram αρνητικά βακτηρίδια, τα αναερόβια βακτηρίδια και σπανιότερα ο πνευμονιόκοκκος<sup>106</sup>. Τα ένα τρίτο περίπου των παραπνευμονικών συλλογών είναι πολυμικροβιακής αιτιολογίας.

Τα υπεζωκοτικό υγρό είναι συνήθως θολερό ή έχει όψη πύου και είναι πολυμορφοπυρηνικό εξίδρωμα. Εκτιμώνται επίσης η τιμή του pH, η τιμή της γλυκόζης όπως επίσης και της LDH. Η πτώση της τιμής του pH είναι πιο γρήγορη απ' ότι της γλυκόζης οπότε το pH θεωρείται πιο ευαίσθητος δείκτης επιπλεγμένης παραπνευμονικής συλλογής. Ο συνήθης έλεγχος του υπεζωκοτικού υγρού με σκοπό τη διαγνωστική προσέγγιση είναι η Gram χρώση, η καλλιέργεια του υγρού, που σπάνια αποβαίνει θετική και η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR). Σε περίπτωση που η Gram χρώση ή η καλλιέργεια του υπεζωκοτικού υγρού αποβαίνει θετική τότε χρειάζεται άμεσα να τοποθετηθεί σωλήνας παροχέτευσης. Η κατάσταση και η αντιμετώπιση των παραπνευμονικών συλλογών περιγράφεται αναλυτικά στον παρακάτω πίνακα(Πίνακας 5).

Κατηγορίες	Γενικά χαρακτηριστικά	Χαρακτηριστικά υπεζωκοτικού υγρού	Σχόλια
1.Μη σημαντική παραπνευμονική συλλογή	Διαυγές υγρό <10mm στην πλάγια κατακεκλιμμένη α/α θώρακος		Δεν χρειάζεται παρακέντηση
2.Τυπική παραπνευμονική συλλογή	Διαυγές υγρό >10mm στην πλάγια κατακεκλιμμένη α/α θώρακος	pH>7,20 LDH<3x το ανώτερο φυσιολογικό όριο στον ορό Glu<40mg/dl Gram χρώση και καλλιέργεια αρνητικές	Χρειάζεται παρακέντηση-Αντιβιοτική αγωγή
3.Οριακά επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή		7<pH<7,20 LDH>3x το ανώτερο φυσιολογικό όριο στον ορό Glu>40mg/dl Gram χρώση και καλλιέργεια αρνητικές	Χρειάζεται παρακέντηση-Αντιβιοτική αγωγή
4.Απλή επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή	Όχι καθαρό πύο Όχι εγκυστωμένο	pH<7 Glu<40mg/dl Gram χρώση και καλλιέργεια θετικές	Σωλήνας παροχέτευσης-Αντιβιοτικά
5.Σύνθετη επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή	Πολυεγκυστωμένο	pH<7 Glu<40mg/dl Gram χρώση και καλλιέργεια θετικές	Σωλήνας παροχέτευσης-Ινωδολυτικά
6.Απλό εμπύημα	Καθαρό πύο,εγκυστωμένο ή ελεύθερο		Σωλήνας παροχέτευσης-Αποφλοίωση
7.Επιπλεγμένο εμπύημα	Καθαρό πύο, πολυεγκυστωμένο		Σωλήνας παροχέτευσης-Ινωδολυτικά Συχνά θωρακοσκόπηση και αποφλοίωση

**ΠΙΝΑΚΑΣ 5.** Κατάταξη και αντιμετώπιση των παραπνευμονικών συλλογών

### 3.2.3. Φυματιώδης υπεζωκοτική συλλογή

Η φυματιώδης υπεζωκοτική συλλογή αποτελεί εκδήλωση είτε της πρωτοπαθούς πνευμονικής φυματιώσεως, είτε της μεταπρωτοπαθούς. Ως εκδήλωση της πρωτοπαθούς φυματιώσεως εμφανίζεται 6-12 εβδομάδες από την είσοδο του μυκοβακτηριδίου στον οργανισμό, ενώ συνηθέστερα παρατηρείται στην μεταπρωτοπαθή φυματίωση<sup>107</sup>. Η φυματιώδης υπεζωκοτική συλλογή είναι αποτέλεσμα μεταφοράς μυκοβακτηριδίων φυματιώσεως από μια πρωτοπαθή περιφερική εστία στην υπεζωκοτική κοιλότητα είτε λεμφογενώς είτε από ρήξη της περιφερικής τυρώδους εστίας. Με τη ρήξη της περιφερικής εστίας απελευθερώνονται φυματίνη και μικρόβια στην υπεζωκοτική κοιλότητα και στον ασθενή με φυματινική υπερευαισθησία αναπτύσσεται υπεζωκοτική συλλογή. Όταν η υπερευαισθησία του ασθενούς στη φυματίνη είναι αυξημένη, η ποσότητα του υγρού είναι μεγάλη και τα τοπικά συμπτώματα(πλευριτικό άλγος) και γενικά συμπτώματα(καταβολή) είναι περισσότερο έντονα. Η αμφοτερόπλευρη υπεζωκοτική συλλογή μπορεί να οφείλεται σε κεχροειδή φυματίωση, η οποία σήμερα παρατηρείται συχνότερα σε νεαρά άτομα. Η φυματιώδης πλευρίτιδα εμφανίζεται συνήθως σε νεαρά άτομα κάτω των 35 ετών αν και σήμερα συναντάται και σε μεγαλύτερα άτομα με ταυτόχρονη συνύπαρξη ακτινολογικών ή βακτηριολογικών ευρημάτων πνευμονικής φυματιώσεως στο 1/3 των περιπτώσεων. Η δερμοαντίδραση Mantoux είναι θετική σε περίπου 30% των ασθενών με φυματιώδη πλευρίτιδα.

Μια εξήγηση της φυματιώδους υπεζωκοτικής συλλογής, της οφειλόμενης σε μεταπρωτοπαθή φυματίωση και η οποία υποστηρίζεται από αρκετούς ερευνητές είναι η αντίδραση επιβραδυνόμενης ευαισθησίας στη φυματινική πρωτεΐνη η οποία αυξάνει τη διαπερατότητα των τριχοειδών του υπεζωκότα στην τελευταία με αποτέλεσμα τη συσσώρευση της στην υπεζωκοτική κοιλότητα και τη δημιουργία υπεζωκοτικής συλλογής<sup>108</sup>. Τα ουδετερόφιλα φαίνεται πως παίζουν κάποιο ρόλο στην πρόκληση της φυματιώδους υπεζωκοτικής συλλογής και κυριαρχούν στην υπεζωκοτική

κοιλότητα το πρώτο 24ωρο. Από το δεύτερο έως και πέμπτο 24ωρο κυριαρχούν τα μακροφάγα ενώ από το τρίτο 24ωρο εμφανίζονται τα λεμφοκύτταρα, τα οποία κυριαρχούν την πέμπτη μέρα.

Σε πολλές περιοχές του κόσμου η φυματιώδης πλευρίτιδα αποτελεί την πιο κοινή αιτία υπεζωκοτικής συλλογής συλλογής. Στις ΗΠΑ η ετήσια επίπτωση της νόσου είναι 1000 νέες περιπτώσεις ενώ λέγεται πως ένας στους 30 ασθενείς με φυματίωση θα αναπτύξει φυματιώδη πλευρίτιδα<sup>109</sup>.

Αν και η φυματίωση θεωρείται χρόνια νόσος η φυματιώδης πλευρίτιδα εκδηλώνεται συνήθως ως οξεία νόσος στο 65-70% των περιπτώσεων με πλευριτικό άλγος, βήχα και πυρετό.

Η φυματιώδης πλευρίτιδα συνήθως είναι ετερόπλευρη και μικρή, μέτρια ή μεγάλη. Περίπου 80% των ασθενών με φυματιώδη πλευρίτιδα δεν παρουσιάζουν παρεγχυματική νόσο στην ακτινογραφία θώρακος<sup>110</sup>. Οι ασθενείς, οι οποίοι είναι οροθετικοί με τον ιό του AIDS μπορεί να εμφανίζουν διαφορετική κλινική εικόνα. Η διάρκεια της νόσου είναι μεγαλύτερη, ενώ δεν εμφανίζουν συχνά θωρακικό πόνο<sup>111</sup>.

Η διαγνωστική προσέγγιση της φυματιώδους υπεζωκοτικής συλλογής περιλαμβάνει την παρακέντηση του υγρού και την εξέταση αυτού. Το υγρό είναι εξιδρώμα λεμφοκυτταρικό, συνήθως πάνω από 50%<sup>110</sup>. Η παρουσία ηωσινοφίλων στο υπεζωκοτικό υγρό πρακτικά αποκλείει τη φυματίωση εκτός αν προηγήθηκε θωρακοκέντηση. Το λεύκωμα είναι συνήθως πάνω από 5g/dl. Σημαντικό ρόλο στην μη επεμβατική διαγνωστική προσέγγιση της φυματιώδους πλευρίτιδας παίζει η ADA (απαμινάση της αδενοσίνης) και η IFN-γ(ιντερφερόνη-γ). Όλοι οι ασθενείς με ADA>70IU/L έχουν κατά 99% φυματιώδη πλευρίτιδα<sup>112-113</sup>. Διάφοροι συγγραφείς θέτουν τις τιμές ADA μεταξύ 33-70IU/L ως ενδεικτικές φυματιώδους πλευρίτιδας συνεκτιμώντας πάντα την κλινική εικόνα. Σχεδόν όλοι οι ασθενείς με φυματιώδη πλευρίτιδα έχουν την τιμή της ADA>40IU/L. Υψηλές τιμές ADA

ανευρίσκονται επίσης σε ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα και εμπύημα αλλά πάντα λαμβάνεται υπόψη η κλινική εικόνα του αρρώστου. Υπέρ της φυματιώδους πλευρίτιδας είναι και ο λόγος λεμφοκυττάρων υπεζωκοτικού υγρού προς λεμφοκύτταρα ορού μεγαλύτερος από 0,75. Η μέτρηση της IFN- $\gamma$  επίσης, η οποία παράγεται από τα CD<sub>4</sub> λεμφοκύτταρα των ασθενών με φυματιώδη πλευρίτιδα αποτελεί πολύτιμο διαγνωστικό εργαλείο<sup>114</sup>. Η μέθοδος αυτή έχει εξαιρετική ευαισθησία και ειδικότητα αλλά συγκρινόμενη με την ADA υστερεί λόγω του υψηλού της κόστους<sup>115-116</sup>.

Παρά το γεγονός ότι το υπεζωκοτικό υγρό θα πρέπει να αποστέλλεται πάντα για απλή εξέταση και καλλιέργεια για μυκοβακτηρίδια, η πιθανότητα να είναι θετική η πρώτη είναι πολύ μικρή ενώ για τους ανοσοκατασταλμένους ασθενείς, το ποσοστό ξεπερνά το 20%. Η καλλιέργεια μπορεί να είναι θετική σε μεγαλύτερο ποσοστό που μπορεί να φτάσει το 40%<sup>110</sup>. Από τις επεμβατικές διαγνωστικές εξετάσεις η βιοψία υπεζωκότα, με την ανεύρεση τυροειδοποιημένου κοκκιώματος, θέτει με βεβαιότητα >95% τη διάγνωση της φυματιώδους υπεζωκοτικής συλλογής. Τα τελευταία χρόνια ωστόσο η ADA έχει υπερισχύσει σε σύγκριση με τη βιοψία δια βελόνης τη στιγμή που έχουν την ίδια ευαισθησία και συγχρόνως η πρώτη αποτελεί μη επεμβατική μέθοδο.

### **3.2.4. Υπεζωκοτική συλλογή οφειλόμενη αυτοάνοσα νοσήματα**

Στον ερυθρηματώδη λύκο η υπεζωκοτική συλλογή απαντάται σε ποσοστό 15-45% και μάλιστα πιο συχνά σε σχέση με τα υπόλοιπα κολλαγονικά νοσήματα<sup>117</sup>. Οι περισσότεροι ασθενείς (συχνότερα γυναίκες) εμφανίζουν αρθρίτιδα ή αρθραλγίες προ της εμφανίσεως της υπεζωκοτικής συλλογής. Η κλινική εικόνα συμπεριλαμβάνει πλευριτικού τύπου άλγος. Η υπεζωκοτική συλλογή συνήθως είναι αμφοτερόπλευρη και το υπεζωκοτικό υγρό είναι εξίδρωμα και υπερέχουν τα πολυμορφοπύρρηνα ή τα μονοπύρρηνα. Σύμφωνα με τελευταίες μελέτες η ανεύρεση αυξημένων τίτλων αντιπυρηνικών αντισωμάτων(ANA) και κυττάρων λύκου(LE) στο



πλευριτικό υγρό δεν προσφέρουν περισσότερες πληροφορίες συγκρινόμενες με τις αντίστοιχες στον ορό όσον αφορά στη διαγνωστική προσέγγιση της νόσου<sup>118-119</sup>.

Στη ρευματοειδή αρθρίτιδα η υπεζωκοτική συλλογή απαντάται σε ποσοστό 8-15% στους άνδρες και 1-1,5% στις γυναίκες<sup>120</sup>. Σε αντίθεση με τον ερυθρηματώδη λύκο η υπεζωκοτική συλλογή είναι ασυμπτωματική και συνήθως ετερόπλευρη κατά 75%. Το υπεζωκοτικό υγρό είναι εξιδρώμα με χαμηλή γλυκόζη(<40mg/dl), χαμηλό pH(<7,2), χαμηλό συμπλήρωμα και αυξημένο τίτλο ρευματοειδούς παράγοντα(>1:320).

### **3.2.5. Υπεζωκοτική συλλογή οφειλόμενη σε πνευμονική εμβολή**

Η υπεζωκοτική συλλογή συνοδεύει την πνευμονική εμβολή σε ποσοστό 30-50%<sup>121</sup>. Περίπου 150000-250000 υπεζωκοτικές συλλογές οφειλόμενες σε πνευμονική εμβολή καταγράφονται κάθε χρόνο στις ΗΠΑ. Αν και η παραπάνω συλλογή στις περισσότερες σειρές αποτελεί το 5% των υπεζωκοτικών συλλογών, μια τελευταία επιδημιολογική μελέτη την κατατάσσει 4<sup>η</sup> στη σειρά<sup>122</sup>. Η κλινική εικόνα περιλαμβάνει πλευριτικό άλγος, αιμόπτυση και δύσπνοια. Η υπεζωκοτική συλλογή είναι συνήθως μικρή και καταλαμβάνει λιγότερο από 15% του ημιθωρακίου. Το πλευριτικό υγρό μπορεί να είναι είτε διίδρωμα είτε εξίδρωμα ανάλογα με το μηχανισμό παραγωγής του.

### **3.2.6. Υπεζωκοτική συλλογή οφειλόμενη σε παθήσεις του γαστρεντερικού συστήματος**

Στο 50% των ασθενών με οξεία παγκρεατίτιδα προκαλείται συνήθως αμφοτερόπλευρη υπεζωκοτική συλλογή<sup>123</sup>. Τα επίπεδα της αμυλάσης στο υπεζωκοτικό υγρό είναι μεγαλύτερα απ' ό,τι εκείνα του αίματος. Το παγκρεατικό απόστημα, η παγκρεατική ψευδοκύστη και ο παγκρεατικός ασκίτης συνοδεύονται σε μικρότερο ποσοστό από υπεζωκοτική συλλογή. Η

υπεζωκοτική συλλογή αποτελεί συνήθη εκδήλωση(80%) του υποδιαφραγματικού αποστήματος και συνοδεύει χειρουργεία κοιλιάς. Η παθογένεια της συλλογής αυτής πιθανόν σχετίζεται με τη φλεγμονή του διαφράγματος, η οποία προκαλεί αύξηση της διαπερατότητας των τριχοειδών αγγείων στο διαφραγματικό υπεζωκότα και τη συσσώρευση υγρού στην υπεζωκοτική κοιλότητα. Το ενδοηπατικό απόστημα προκαλεί με τον ίδιο μηχανισμό υπεζωκοτική συλλογή σε ποσοστό 20%. Η οισοφαγική διάτρηση επίσης συνοδεύεται στο 60% των περιπτώσεων με υπεζωκοτική συλλογή με υψηλή τιμή αμυλάσης.

### **3.2.7. Υπεζωκοτική συλλογή οφειλόμενη σε παθήσεις της καρδιάς και του περικαρδίου**

Η επίπτωση της υπεζωκοτικής συλλογής σε ασθενείς οι οποίοι έχουν υποστεί αορτοστεφανιαία παράκαμψη αυξάνει μεταξύ της πρώτης και έβδομης ημέρας και κυμαίνεται από 40-90%<sup>124</sup>. Το υπεζωκοτικό υγρό είναι συνήθως αιματηρό τις πρώτες ημέρες και έπειτα λεμφοκυτταρικό εξίδρωμα. Η βιοψία του υπεζωκότα δείχνει έντονη φλεγμονώδη διήθηση από λεμφοκύτταρα πιθανολογώντας την ανοσολογική βάση της διηθήσεως. Η συλλογή εμφανίζεται συνήθως αριστερά (40%) ή αμφοτερόπλευρα (60%)<sup>125</sup>. Το σύνδρομο Dressler ή σύνδρομο μετά μυοκαρδιακή βλάβη παριστά ένα φαινόμενο πιθανόν ανοσολογικής αιτιολογίας, το οποίο εμφανίζεται τις πρώτες εβδομάδες που ακολουθούν μια βλάβη μυοκαρδίου ή περικαρδίου και χαρακτηρίζεται από πυρετό, κυψελιδικά διηθήματα στο παρέγχυμα και περικαρδιακή και υπεζωκοτική συλλογή. Συνήθως είναι αποτέλεσμα καρδιοχειρουργικών επεμβάσεων με επίπτωση 18-30%<sup>126</sup>. Δεν έχει ωστόσο επιβεβαιωθεί η σχέση των αντιμυοκαρδιακών αντισωμάτων και του συνδρόμου Dressler στους ασθενείς που το εκδηλώνουν μετά από χειρουργείο στο περικάρδιο.

## 4. ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ STRESS

### 4.1. Γενικά

Οξειδωτικό stress ονομάζουμε την ανισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών παραγόντων. Φλεγμονώδεις καταστάσεις αλλά και εξωγενείς παράγοντες (κάπνισμα, περιβαλλοντικοί ρύποι, ακτινοβολία) αυξάνουν τα επίπεδα των ενεργών αυτών προϊόντων στον οργανισμό. Η συνεχής παραγωγή των μεταβολιτών αυτών εξισορροπείται από έναν ανάλογο ρυθμό εξουδετέρωσής τους από αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς, ενζυμικούς ή μη. Το οξειδωτικό stress εμφανίζεται όταν η ισορροπία αυτή διαταραχθεί προς όφελος των ενεργών μεταβολιτών οξυγόνου. Μη αντιρροπούμενη αύξηση των ενεργών μεταβολιτών οξυγόνου ή μείωση της αποτελεσματικότητας των αντιοξειδωτικών μηχανισμών προκαλεί αύξηση του οξειδωτικού φορτίου. Η κατάσταση αυτή ονομάζεται «οξειδωτικό stress». Πολλαπλά βιολογικά φαινόμενα όπως η φλεγμονή, το γήρας, η καρκινογένεση, η δράση και η τοξικότητα των φαρμάκων έχουν συσχετιστεί με την ύπαρξη του οξειδωτικού stress<sup>127-128-129-130</sup>.

Είναι προφανές, ότι η ιστική βλάβη αυτή καθαυτή είναι δυνατόν να οδηγήσει σε αυξημένο οξειδωτικό φορτίο. Αυτό πρακτικά σημαίνει ότι σχεδόν οποιαδήποτε νόσος μπορεί να συνοδεύεται από αύξηση του οξειδωτικού stress. Παραμένει επομένως υπό διερεύνηση το αν η αύξηση του οξειδωτικού stress που ενδεχομένως παρατηρείται σε μια πάθηση, συνδέεται με την παθογένεια της ή απλώς συνοδεύει ή επιτείνει την υποκείμενη ιστική βλάβη<sup>131</sup>. Ειδικότερα για την λιπιδική υπεροξειδωση έχει διατυπωθεί η άποψη ότι συνοδεύει την κυτταρική λύση και σπάνια αποτελεί πρώιμο αίτιο κυτταρικής βλάβης<sup>132</sup>. Παρόλα αυτά σε αρκετές παθολογικές καταστάσεις έχει αποδειχθεί ο παθογενετικός ρόλος του αυξημένου οξειδωτικού φορτίου, όπως στην αθηρωμάτωση, στην τραυματική ή

ισχαιμική βλάβη του κεντρικού νευρικού συστήματος, στη ρευματοειδή αρθρίτιδα, στη ΧΑΠ και στο άσθμα.<sup>133-134</sup>

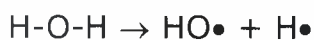
## 4.2. Οξειδωτικές ουσίες

Οι πνεύμονες αποτελούν ένα μοναδικό ιστό σε σχέση με τους υπόλοιπους γιατί εκτίθενται απευθείας σε περιβαλλοντικούς ρύπους και υψηλές τάσεις οξυγόνου. Η ανισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών παραγόντων προς όφελος του ενός ή του άλλου οδηγεί στην παθογένεια πολλών νοσημάτων του πνεύμονα. Οι βασικές οξειδωτικές ουσίες που αφορούν στον πνεύμονα είναι οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (ROS), οι ελεύθερες ρίζες αζώτου (RNS) και διάφορα πρωτεϊνικά μόρια όπως και προϊόντα λιπιδικής υπεροξειδωσης. Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου συμπεριλαμβάνουν το υπεροξειδίο( $O_2^{\bullet-}$ ), το υπεροξειδίο του υδρογόνου( $H_2O_2$ ) και τις ρίζες υδροξυλίου( $HO^{\bullet}$ ). Οι ελεύθερες ρίζες αζώτου συμπεριλαμβάνουν το μονοξειδίο του αζώτου( $NO$ ), το διοξειδίο του αζώτου( $NO_2$ ) και το υπεροξειδίο του αζώτου( $N_2O_2$ ). Άλλα επίσης μόρια που μπορούν να συμβάλουν στην αύξηση του οξειδωτικού stress είναι τα πρωτεϊνικά μόρια και τα προϊόντα λιπιδικής υπεροξειδωσης<sup>135-136</sup>.

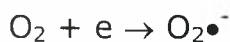
### 4.2.1. ROS (ελεύθερες ρίζες οξυγόνου)

Η πλήρης αναγωγή του οξυγόνου στα μιτοχόνδρια από την οξειδάση του κυτοχρώματος δίνει ως τελικό προϊόν  $H_2O$ . Μερικές φορές όμως το οξυγόνο κατορθώνει να αποσπάσει ηλεκτρόνια από άλλα μόρια με μη ενζυμικό τρόπο (αυτο-οξειδωση) αλλά επειδή δεν μπορεί να δεχθεί ένα ζεύγος ηλεκτρονίων, δέχεται ένα ηλεκτρόνιο κάθε φορά με αποτέλεσμα το σχηματισμό ελευθέρων ριζών. Η αναγωγή του  $O_2$  με ένα ηλεκτρόνιο δίνει ως προϊόν την ρίζα του υπεροξειδίου ( $O_2^{\bullet-}$ ). Με τη προσθήκη και δεύτερου ηλεκτρονίου σχηματίζεται το υπεροξειδίο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ). Το  $H_2O_2$  δεν είναι ρίζα. Επειδή όμως έχει την τάση να προσλαμβάνει άλλα δυο

ηλεκτρόνια προς σχηματισμό δυο μορίων ύδατος, συμπεριφέρεται ως κυτταροτοξική οξειδωτική ουσία. Μια από τις πιο χαρακτηριστικές ιδιότητές του είναι ότι, σε αντίθεση με το  $O_2^{\bullet-}$ , έχει την ικανότητα να διαπερνά τις κυτταρικές μεμβράνες και να παρουσιάζει την οξειδωτική του δράση σε σχετικά απομακρυσμένα από τον τόπο παραγωγής του σημεία, όπως παρακείμενα κυτταρικά διαμερίσματα ή γειτονικά κύτταρα. Όταν ένα τρίτο ηλεκτρόνιο προστεθεί στον δεσμό O-O του  $H_2O_2$ , ο δεσμός αυτός διασπάται σχηματίζοντας μια ρίζα υδροξυλίου ( $HO\bullet$ ). Η τελευταία αποτελεί μια από τις πιο ισχυρές οξειδωτικές ουσίες, αφού πρακτικά μπορεί να οξειδώσει οποιαδήποτε οργανική ένωση (υπεροξειδωση λιπών, διάσπαση αλύσου DNA). Η δραστηριότητα των  $O_2^{\bullet-}$  και  $H_2O_2$  συχνά εκδηλώνεται έμμεσα. Είναι γνωστό για παράδειγμα ότι αυξημένα επίπεδα  $O_2^{\bullet-}$  ή  $H_2O_2$  έχουν βλαπτική επίδραση στο DNA ή στις κυτταρικές μεμβράνες, αλλά κανένας από τους μεταβολίτες αυτούς δεν αντιδρά άμεσα με τα δομικά αυτά στοιχεία του κυττάρου. Η βλαπτική δράση τους εκδηλώνεται μέσω της παραγωγής δραστικότερων προϊόντων όπως το  $HO\bullet$ . Έτσι το  $HO\bullet$  θεωρείται ως ο πιθανότερος τελικός μεσολαβητής μέσω του οποίου οι περισσότερες ελεύθερες ρίζες ασκούν την τοξική δράση τους στους ιστούς. Ο κυριότερος μηχανισμός παραγωγής του  $HO\bullet$  είναι η αναγωγή των  $O_2^{\bullet-}$  ή  $H_2O_2$  παρουσία ιόντων σιδήρου ή χαλκού. Δευτερεύοντες μηχανισμοί μπορεί να είναι η διάσπαση του υπεροξυ-νιτρώδους ανιόντος ή η διάσπαση μορίων ύδατος μετά από επίδραση υψηλής ενέργειας ακτινοβολίας σε υδατικά διαλύματα:



Συνοπτικά, η αναγωγή του οξυγόνου κατά στάδια περιγράφεται με τις αντιδράσεις:

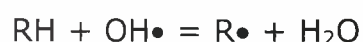


Η ομάδα λοιπόν των προϊόντων-μεταβολιτών που προέρχονται από την ατελή αναγωγή του οξυγόνου περιλαμβάνει το  $O_2^{\bullet-}$ , το  $H_2O_2$  και το  $HO\bullet$ . Με εξαίρεση το  $H_2O_2$  που παρουσιάζει σταθερότητα *in vitro*, οι υπόλοιποι

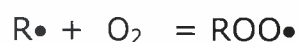
μεταβολίτες έχουν πολύ μικρή ημιπερίοδο ζωής (της τάξεως του msec ή λιγότερο), γεγονός που δείχνει και τη μεγάλη δραστηριότητά τους.

Όλες οι παραπάνω ουσίες έχουν ισχυρές οξειδωτικές ιδιότητες και επιβλαβή επίδραση στα κύτταρα. Η ομάδα αυτή περιγράφεται με διάφορους όρους στη βιβλιογραφία, όπως «ενεργοί μεταβολίτες οξυγόνου» (**Reactive Oxygen Metabolites – ROM**), «ενεργά είδη οξυγόνου» (**Reactive Oxygen Species – ROS**). Στη ίδια αυτή ομάδα συμπεριλαμβάνονται πολλές φορές και άλλες ουσίες με ανάλογες οξειδωτικές ιδιότητες. Τέτοιες είναι το «ενεργό» οξυγόνο (singlet-O<sub>2</sub>), το υποχλωριώδες οξύ (παράγωγο του ενζύμου των ουδετεροφίλων μυελοϋπεροξειδάση), το υπεροξυ-νιτρώδες ανιόν, το οξειδίο του αζώτου καθώς και οργανικές (R•), αλκόξυ- (RO•) και υπερόξυ(λο)- (ROO•) ρίζες <sup>137-138-139-140</sup>.

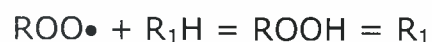
Τα ενεργά είδη οξυγόνου (ROS), όταν το αντιοξειδωτικό αμυντικό σύστημα του οργανισμού αποτύχει, επιτίθενται σε οργανικά μόρια όπως λιπίδια, πρωτεΐνες, DNA και παράγονται τα υδροϋπεροξειδία (ROOH), ένα από τα σημαντικότερα είδη των ενεργών μεταβολιτών οξυγόνου (ROM) που αναφέρθηκαν παραπάνω. Η ρίζα υδροξυλίου (HO•) αποτελεί από τα πιο επικίνδυνα μόρια των ROS. Όταν η τελευταία επιτεθεί σε ένα από τα προαναφερθέντα οργανικά μόρια (RH) τότε ξεκινά η παρακάτω αντίδραση.



Το οξειδωμένο οργανικό μόριο (R•) αντιδρά με O<sub>2</sub> και παράγεται το παρακάτω υπεροξυλική ρίζα (ROO•)



Η υπεροξυλική ρίζα, σε μία δεύτερη αντίδραση, αντιδρά με λιπίδια, πρωτεΐνες ή αμινικά οξέα (R<sub>1</sub>H) και δημιουργούνται τα υδρουπεροξειδία (ROOH), τα οποία αποτελούν μία σημαντική κατηγορία των ROS. Είναι σταθερά μόρια, αντικατοπτρίζουν το βαθμό της οξειδωτικής ιστικής βλάβης και μπορούν να μετρηθούν σε διάφορα βιολογικά υγρά<sup>141</sup>.



Τα υδρουπεροξειδία που παράγονται με την παραπάνω αντίδραση και με τη βοήθεια των ιονισμένων μετάλλων Fe και της αντιδράσεως Fenton μετατρέπονται σε ρίζες υπεροξυλίου (ROO•) και αλκοξυλίου (RO•).



Τα υδρουπεροξειδία είναι σταθερά μόρια και έχουν περιγραφεί στη βιβλιογραφία ως ένας αξιόπιστος δείκτης μέτρησης του ολικού οξειδωτικού stress. Ο συνήθης τρόπος μέτρησής τους είναι με το d-ROMs test, το οποίο είναι μια φασματοφωτομετρική μέθοδος ανίχνευσης υδροϋπεροξειδίων σε διάφορα βιολογικά υγρά<sup>142-143</sup>.

Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (ROS), αν και είναι πολύ δραστικά μόρια έχουν πολύ μικρό χρόνο ημίσειας ζωής και δεν μπορούν να ανιχνευθούν εύκολα και να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες οξειδωτικού stress. Για το λόγο αυτό επιλέγονται πιο σταθερά μόρια όπως τα υδροϋπεροξειδία που περιγράφηκαν αναλυτικά παραπάνω.

Στον ανθρώπινο οργανισμό υπάρχει μια σταθερή παραγωγή ενεργών μεταβολιτών οξυγόνου. Ο σχηματισμός τους οφείλεται σε ενδογενείς μηχανισμούς αλλά και σε περιβαλλοντικούς παράγοντες. Το κάπνισμα, οι περιβαλλοντικοί ρύποι, η ακτινοβολία, τα φάρμακα είναι συνήθεις «εξωγενείς» παράγοντες που ευνοούν άμεσα ή έμμεσα το σχηματισμό ελευθέρων ριζών στον οργανισμό<sup>144</sup>. Από τους ενδογενείς μηχανισμούς δύο είναι οι κυριότεροι:

#### **a) Ο αερόβιος μεταβολισμός.**

i) Ο ανθρώπινος μεταβολισμός έχει προσαρμοστεί με τέτοιο τρόπο στο αερόβιο περιβάλλον, ώστε χρησιμοποιεί το οξυγόνο έχοντας την μεγαλύτερη δυνατή απόδοση ενέργειας και τη μικρότερη παραγωγή τοξικών υποπροϊόντων. Αυτό επιτυγχάνεται κυρίως, με την πλήρη αναγωγή του οξυγόνου στο επίπεδο του μιτοχονδρίου, από την οξειδάση του κυτοχρώματος, αποφεύγοντας έτσι την παραγωγή ενεργών μεταβολιτών οξυγόνου.

Ωστόσο, παρά την προσαρμογή μας αυτή στο οξειδωτικό περιβάλλον, ο μεταβολισμός μας δεν φαίνεται τελικά να είναι τέλειος. Τουλάχιστον δυο σημεία στην αναπνευστική αλυσίδα έχουν βρεθεί, όπου ηλεκτρόνια μπορούν να «ξεφύγουν» και να ανάγουν παρακείμενα μόρια οξυγόνου σχηματίζοντας  $H_2O_2$ . Τα σημεία αυτά έχουν εντοπιστεί στη θέση του Complex I και της ubiquinone και αποτελούν την κύρια πηγή ενδοκυττάρου  $H_2O_2$ . Υπολογίζεται ότι αυτή η διαφυγή ηλεκτρονίων αποτελεί το 1-2% των ηλεκτρονίων που ρέουν στην αναπνευστική αλυσίδα. Έτσι τα μιτοχόνδρια είναι η κύρια πηγή τυχαίας παραγωγής ενεργών μεταβολιτών οξυγόνου<sup>145</sup>. Η κλινική σημασία αυτού του φαινομένου φαίνεται στη περίπτωση της τοξικότητας του οξυγόνου στους πνεύμονες. Σε καταστάσεις υπεροξυγόνωσης, ο ρυθμός διαρροής ηλεκτρονίων από τα μιτοχόνδρια των πνευμονοκυττάρων αυξάνεται ανάλογα με την μερική πίεση του οξυγόνου<sup>146</sup>.

ii) Το οξυγόνο δεν χρησιμοποιείται μόνο στα μιτοχόνδρια. Μικρές ποσότητες χρησιμοποιούνται και σε άλλα ενζυμικά συστήματα με πιο αντιπροσωπευτικό το κυτόχρωμα P450. Έχουν βρεθεί τουλάχιστον 8 διαφορετικά είδη κυτοχρωμάτων P450 που βρίσκονται στα μικροσωμάτια του ενδοπλασματικού δικτύου των ηπατοκυττάρων αλλά και άλλων κυττάρων. Αυτά καταλύουν αντιδράσεις μεταβολισμού ή αδρανοποίησης πολλών ενδογενών αλλά και εξωγενών ουσιών, όπως φάρμακα, τοξικές ουσίες, ορμόνες. Οι αντιδράσεις αυτές μπορεί να αποτελέσουν πηγή παραγωγής ενεργών μεταβολιτών οξυγόνου<sup>144,146</sup>.

iii) Κάποιες ουσίες, όπως οι κατεχολαμίνες ή το ασκορβικό οξύ, μπορούν να αυτό-οξειδωθούν, παρουσία ιόντων μετάλλων, αντιδρώντας απευθείας με το οξυγόνο και σχηματίζοντας  $O_2^{\bullet-}$ .

iv) Έχει βρεθεί ότι το  $O_2^{\bullet-}$  παράγεται από λεμφοκύτταρα, ινοβλάστες και το ενδοθήλιο των αγγείων. Η σημασία της παραγωγής αυτής δεν έχει



επακριβώς διευκρινιστεί, φαίνεται όμως ότι το  $O_2^{\bullet-}$ , σε ελεγχόμενες ποσότητες, μπορεί να συμμετέχει σε σημαντικές βιολογικές λειτουργίες έχοντας το ρόλο του μεταφορέα μηνυμάτων. Το ενδοθήλιο των αγγείων π.χ., παράγει  $O_2^{\bullet-}$ , που με τη σειρά του ρυθμίζει τον αγγειακό τόνο μειώνοντας τα επίπεδα του NO:  $NO^{\bullet} + O_2^{\bullet-} \rightarrow ONOO^-$ . Το υπεροξεινιτρώδες ανιόν ( $O=NOO^-$ ), αποτελεί και αυτό με τη σειρά του ενεργό μεταβολίτη οξυγόνου, που είτε προκαλεί οξείδωση σε -SH ομάδες πρωτεϊνικών μορίων ή αποδομείται σχηματίζοντας  $HO^{\bullet}$  ως υποπροϊόν<sup>145,147</sup>.

ν) Η οξειδάση της ξανθίνης σχηματίζεται σε παθολογικές καταστάσεις από μετατροπή της δεϋδρογενάσης της ξανθίνης και καταλύει την μετατροπή της ξανθίνης και της υποξανθίνης σε ουρικό οξύ σχηματίζοντας  $O_2^{\bullet-}$  ως υποπροϊόν.

### **β) Τα ενεργοποιημένα φαγοκύτταρα**

Είναι και το μεγαλύτερο ποσοστό των παραγόμενων ενεργών μεταβολιτών οξυγόνου in vivo. Η παραγωγή αυτή είναι ιδιαίτερα σημαντική γιατί επιτρέπει στα φαγοκύτταρα να σκοτώνουν τα βακτηρίδια που φαγοκυτταρώνουν<sup>129</sup>. Τα ενεργοποιημένα φαγοκύτταρα (μακροφάγα, ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα, ηωσινόφιλα) παράγουν  $O_2^{\bullet-}$  και  $H_2O_2$ . Το  $O_2^{\bullet-}$  σχηματίζεται με τη δράση του ενζύμου NADPH οξειδάση. Σε ασθενείς με χρόνια κοκκιωματώδη νόσο, το ένζυμο αυτό δεν λειτουργεί με αποτέλεσμα σοβαρές και επανειλημμένες λοιμώξεις λόγω ακριβώς της αδυναμίας των φαγοκυττάρων να ασκήσουν βακτηριοκτόνο δράση. Στα ουδετερόφιλα το ένζυμο μυελοϋπεροξειδάση χρησιμοποιεί το  $H_2O_2$  για να σχηματίσει HOCl (υποχλωριώδες οξύ) που είναι επίσης ένα ισχυρό βακτηριοκτόνο:  $H_2O_2 + Cl^- \rightarrow HOCl + OH^-$ <sup>148</sup>.

### **γ) Ο ρόλος των μεταβατικών μετάλλων στην παραγωγή ελευθέρων ριζών**

Τα μέταλλα σίδηρος και χαλκός ανήκουν στα μεταβατικά στοιχεία ή στοιχεία μεταπτώσεως του περιοδικού πίνακα. Ένα από τα χαρακτηριστικά τους είναι ο μεταβαλλόμενος αριθμός οξειδώσεώς τους:

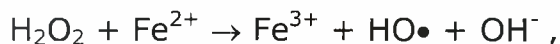
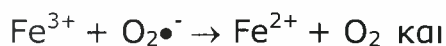


Με την ιδιότητά τους αυτή είναι ιδανικά στην επαγωγή σχηματισμού ελευθέρων ριζών και στην επαγωγή των αλυσιδωτών αντιδράσεων τους όπως περιγράφηκαν και αναλυτικά παραπάνω.

Μια σημαντική αντίδραση που υπό φυσιολογικές συνθήκες αναστέλλεται στον οργανισμό είναι η αντίδραση Fenton, που σχηματίζει HO• με τη βοήθεια ιόντων σιδήρου ή χαλκού:



Η αντίδραση Fenton μπορεί να αποτελεί τμηματική αντίδραση της αλληλουχίας:



το αποτέλεσμα της οποίας είναι:



γνωστή ως *αντίδραση Haber - Weiss*<sup>149</sup>.

Το HO• είναι το πλέον δραστικό από τα προϊόντα αναγωγής του οξυγόνου. Είναι χαρακτηριστικό ότι όταν ένα μεταβατικό μέταλλο είναι συνδεδεμένο με κάποιο βιολογικό μόριο (λιπίδια, πρωτεΐνες, DNA), τότε το HO• που θα σχηματιστεί από μια πιθανή αντίδραση Fenton θα αντιδράσει αμέσως με αυτό το μόριο στόχο, ανεξάρτητα από την παρουσία ή όχι οποιασδήποτε αντιοξειδωτικής ουσίας. Το αποτέλεσμα μιας τέτοιας αντίδρασης μπορεί να είναι η βλάβη της κυτταρικής μεμβράνης ή η διάσπαση του DNA αντίστοιχα. Είναι επομένως σημαντική η ασφαλής αποθήκευση των μετάλλων αυτών στον οργανισμό, προκειμένου να αποφευχθεί η έκθεσή τους σε οξειδωτικές ουσίες και κατ' επέκταση η συμμετοχή τους σε αντιδράσεις Fenton.

#### 4.2.2. RNS (ελεύθερες ρίζες αζώτου)

Οι ελεύθερες ρίζες αζώτου επίσης αν και είναι πολύ δραστικά οξειδωτικά μόρια με πολύ μικρό χρόνο ημίσειας ζωής οπότε και δεν χρησιμοποιούνται ως δείκτες εκτίμησης του συνολικού οξειδωτικού stress. Πηγές του νιτρικού οξειδίου (NO•) είναι τρία είδη συνθάσης: i) της cNOS (c-συνθάσης), η οποία βρίσκεται στο αναπνευστικό επιθήλιο, τα αγγεία και τις τελικές απολήξεις νευρών, ii) της iNOS(i-συνθάσης), η οποία βρίσκεται στο αναπνευστικό επιθήλιο και ενεργοποιείται από τα μακροφάγα και iii) της eNOS (e-νευρωνικής συνθάσης) η οποία βρίσκεται σε νευρικά κύτταρα και στην τραχεία. Όταν το οξείδιο του αζώτου παράγεται σε υψηλές ποσότητες τότε αντιδρά με το οξυγόνο ή το υπεροξείδιο του οξυγόνου και δημιουργούνται ενεργοί μεταβολίτες όπως το διοξείδιο του αζώτου και το υπεροξείδιο του αζώτου<sup>150</sup>.

#### 4.2.3. Πρωτεϊνικά μόρια

Οι πρωτεΐνες αποτελούν συχνό στόχο των ελευθέρων ριζών γιατί συμμετέχουν σε πολλά βιολογικά συστήματα και σε δομικές διαδικασίες του κυττάρου. Έχει παρατηρηθεί ότι οι πρωτεΐνες δεσμεύουν το 50-75% των ROS/RNS. Η έκθεση αυτή των πρωτεϊνών σε οξειδωτικές ουσίες μπορεί να προκαλέσει δομικές αλλαγές στις πρώτες όπως αναστολή της ενζυμικής δραστηριότητας, αυξημένη πρωτεολυτική τάση και αλλαγή στην ανοσιακή απάντηση. Η οξειδωτική βλάβη των πρωτεϊνών είναι σημαντική όχι μόνο λόγω όσων αναφέρθηκαν προγουμένως αλλά και λόγω της δευτερογενούς βλάβης που προκαλούν σε άλλα βιομόρια όπως το DNA. Η σημαντικότερη ωστόσο διαταραχή είναι η παρακώλυση της πρωτεολυτικής και λυσοσωματικής διαδικασίας με αποτέλεσμα τη συσσώρευση πολλών οξειδωτικών πρωτεϊνών στο κύτταρο και τη συμβολή στην παθολογία πολλών νοσημάτων<sup>151</sup>.

Οι καρβονυλικές πρωτεΐνες προκύπτουν από την οξειδωτική βλάβη σε αμινικά οξέα όπως λυσίνη(Lys), αργινίνη(Arg). Τα μόρια που παράγονται είναι σταθερά και κατάλληλα για τον προσδιορισμό οξειδωτικού stress σε παθήσεις όπως η κυστική ίνωση, όσον αφορά στις πνευμονικές παθήσεις, αλλά και στη γήρανση και σε άλλες φλεγμονώδεις καταστάσεις. Αντιπροσωπευτικές πρωτεΐνες γνωστές από τη βιβλιογραφία για την εκτίμηση τους ως έμμεσοι δείκτες οξειδωτικού stress είναι η αλβουμίνη και η γ-γλοβουλίνη<sup>152</sup>.

#### 4.2.4. Προϊόντα λιπιδικής υπεροξειδωσης

Τα προϊόντα της λιπιδικής υπεροξειδωσης αποτελούν αξιόπιστα μόρια έμμεσου ποσοτικού προσδιορισμού του συνολικού οξειδωτικού stress και μπορούν να μετρηθούν με μη επεμβατικές μεθόδους. Τα F<sub>2</sub>-ισοπροστάνια, η μαλονδιαλδεϋδη (MDA) και τα ακρολένια έχουν αποδειχθεί χρήσιμα μόρια για την εκτίμηση του οξειδωτικού stress *in vivo* και *in vitro*. Δεν λειτουργούν μόνο ως οξειδωτικά μόρια τα ίδια αλλά και ως «δευρογενείς κυτταροτοξικοί μεσολαβητές». Ιδιαίτερα το 8-ισοπροστάνιο (ένα από τα πιο αντιπροσωπευτικά προϊόντα της λιπιδικής υπεροξειδωσης) είναι μια σταθερή ένωση, ανάλογη των προσταγλανδινών, που προέρχεται από την μη ενζυμική επίδραση των ενεργών μεταβολιτών O<sub>2</sub> στο αραχιδονικό οξύ της κυτταρικής μεμβράνης. Στην πραγματικότητα πρόκειται για μια ομάδα ισομερών ενώσεων που σχηματίζονται μ' αυτόν τον τρόπο (ισοπροστάνια), αλλά το 8-ισοπροστάνιο έχει μελετηθεί περισσότερο και θεωρείται ένας πολύ αξιόπιστος δείκτης της λιπιδικής υπεροξειδωσης και κατ' επέκταση του οξειδωτικού stress<sup>153-154</sup>. Αν και η αξία των F<sub>2</sub>-ισοπροστανίων ως δείκτες εκτίμησης του συνολικού οξειδωτικού stress έχει μελετηθεί αρκετά, η τεχνική μέτρησης αυτών και των ισομερών τους στα διάφορα βιολογικά υγρά θεωρείται περίπλοκη. Αν και είναι επίσης σταθερά μόρια από τη στιγμή που απελευθερώνονται στην κυκλοφορία πολύ γρήγορα μεταβολίζονται και αποβάλλονται. Διάφοροι συγγραφείς, ωστόσο, έχουν

μετρήσει διάφορα ισομερή των F<sub>2</sub>-ισοπροστανίων είτε με χρωματογραφικές μεθόδους είτε με ανοσολογικές μεθόδους.

Μελέτες έχουν δείξει αυξημένες τιμές των F<sub>2</sub>-ισοπροστανίων στα ούρα, τον εκπνεόμενο αέρα, τα πτύελα και το BAL ασθενών με αλλεργικό βρογχικό άσθμα<sup>155-156-157</sup>, στο αίμα, τον εκπνεόμενο αέρα και το BAL ασθενών με κυστική ίνωση<sup>158-159-160</sup>, στο αίμα, το BAL και τον εκπνεόμενο αέρα ασθενών με Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια<sup>161-162-163</sup>, όπως επίσης στο BAL ασθενών με Ιδιοπαθή Πνευμονική Ίνωση<sup>164</sup>, αλλά και στο αίμα ασθενών με Πνευμονική Υπέρταση<sup>165</sup> και στον εκπνεόμενο αέρα ασθενών με Σύνδρομο Αποφρακτικής Άπνοιας στον Ύπνο<sup>166</sup>.

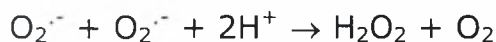
### 4.3. Αντιοξειδωτικοί παράγοντες

Ο οργανισμός διαθέτει διάφορους μηχανισμούς άμυνας έναντι των οξειδωτικών ουσιών που τελικά θα παραχθούν είτε υπό φυσιολογικές συνθήκες είτε σε παθολογικές καταστάσεις. Οι μηχανισμοί αυτοί συνοψίζονται σε τρεις κύριες κατηγορίες: τα αντιοξειδωτικά ένζυμα, τις αντιοξειδωτικές ουσίες και τις πρωτεΐνες ασφαλούς αποθήκευσης του σιδήρου και του χαλκού. Εκτός από τους παραπάνω μηχανισμούς, τα κύτταρα επιπλέον διαθέτουν συστήματα επιδιόρθωσης ή μεταβολισμού των δομικών εκείνων συστατικών τους που έχουν αλλοιωθεί από την επίδραση των ελευθέρων ριζών<sup>167</sup>.

#### α) Αντιοξειδωτικά ένζυμα

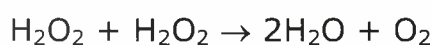
i) Η **υπεροξειδική δισμουτάση (superoxide dismutase – SOD)**. Υπάρχουν τρεις μορφές του ενζύμου με μεγάλες διαφορές μεταξύ τους ως προς την αλληλουχία των αμινοξέων τους και τις θέσεις εντόπισής τους τόσο μέσα στο κύτταρο αλλά και στους διάφορους ιστούς<sup>168</sup>. Η Cu,Zn-SOD μορφή εμπεριέχει στις ενεργές περιοχές του από ένα άτομο χαλκού και ψευδαργύρου και εντοπίζεται στο κυτταροδιάλυμα. Η Mn-SOD μορφή εντοπίζεται στα μιτοχόνδρια και εμπεριέχει ένα άτομο μαγγανίου στις θέσεις

κατάλυσης. Τέλος η EC-SOD μορφή εντοπίζεται στον εξωκυττάριο χώρο και περιέχει επίσης χαλκό και ψευδάργυρο στις θέσεις κατάλυσης, είναι όμως διαφορετική από την Cu,Zn-SOD. Όλες οι μορφές αυτές καταλύουν την αντίδραση:



Το παραγόμενο  $\text{H}_2\text{O}_2$  θα αποδομηθεί στη συνέχεια από την καταλάση ή την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης όπως περιγράφεται παρακάτω.

ii) Η **καταλάση** εντοπίζεται κυρίως στα μιτοχόνδρια και μετασχηματίζει το  $\text{H}_2\text{O}_2$  σε ύδωρ και οξυγόνο:



Σε αντίθεση με την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, η καταλάση δεν μπορεί να μεταβολίσει μόρια μεγάλου μοριακού βάρους (π.χ. υδροϋπεροξειδία των λιπιδίων) και η δραστηριότητά της αφορά κυρίως το  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

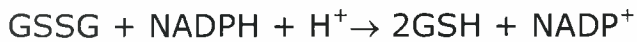
iii) Η **υπεροξειδάση της γλουταθειόνης** καταλύει την οξείδωση της γλουταθειόνης (GSH) αποδομώντας παράλληλα ένα μόριο υδροϋπεροξειδίου:



Το R μπορεί να αντιστοιχεί σε  $\text{H}\cdot$  (οπότε η αντίδραση γράφεται:  $\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{GSH} \rightarrow \text{GSSG} + 2\text{H}_2\text{O}$ ) ή σε κάποια άλλη ρίζα (π.χ. υδροϋπεροξειδίου ενός λιπιδίου).

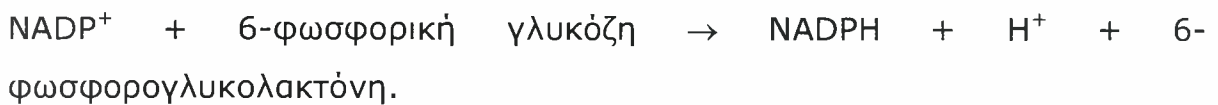
Η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης ελαττώνει επομένως το  $\text{H}_2\text{O}_2$  όπως και τα υδροϋπεροξειδία των λιπιδίων. Έτσι δρα προστατευτικά έναντι της λιπιδικής υπεροξειδωσης και αποτελεί σημαντικό ένζυμο για την διατήρηση της δομής και λειτουργίας των κυτταρικών μεμβρανών. Το ένζυμο χρησιμοποιεί σελήνιο στην θέση κατάλυσης και βρίσκεται σε όλους σχεδόν τους ιστούς τόσο στον ενδοκυττάριο όσο και στον εξωκυττάριο χώρο. Μέσα στα κύτταρα το συναντάμε στα μιτοχόνδρια και στο κυτταροδιάλυμα και αποτελεί τον κυριότερο ενδοκυττάριο μηχανισμό απομάκρυνσης του  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

iv) Η **αναγωγή της γλουταθειόνης** χρησιμοποιεί NADPH ώστε να διατηρεί το λόγο GSH/GSSG υψηλό:



Η δραστηριότητα της αναγωγής της γλουταθειόνης εξαρτάται από τα διαθέσιμα επίπεδα της GSH.

v) Η **αφυδρογονάση της 6-φωσφορικής γλυκόζης (G6PD)** διατηρεί με τη σειρά της επαρκή τα αποθέματα NADPH για την τροφοδοσία της αναγωγής της γλουταθειόνης:

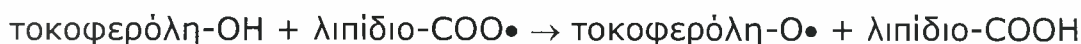


### **β) Αντιοξειδωτικές ουσίες(μη ενζυμικές)**

Οι αντιοξειδωτικές ουσίες είναι μόρια που αντιδρούν με τους ενεργούς μεταβολίτες οξυγόνου και τους αδρανοποιούν πριν εκείνοι επιδράσουν σε ζωτικά συστατικά του κυττάρου. Υπάρχουν εκατοντάδες τέτοιες ουσίες σε όλους τους οργανισμούς. Επειδή, όπως είπαμε σε προηγούμενη παράγραφο, οι οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών εξελίσσονται αλυσιδωτά, οι αντιοξειδωτικές ουσίες αναφέρονται και ως «chain-breaking antioxidants» επειδή ακριβώς διακόπτουν την αλληλουχία αυτή των αντιδράσεων και περιορίζουν το βλαπτικό τους αποτέλεσμα. Διακρίνονται σε λιπόφιλες και υδρόφιλες<sup>167</sup>. Στην πρώτη ομάδα ανήκουν λιποδιαλυτά μόρια που εντοπίζονται και ενεργούν στις κυτταρικές μεμβράνες και στα σωματίδια των λιποπρωτεϊνών. Είναι μεγάλης σημασίας για την προστασία από την λιπιδική υπεροξειδωση. Εδώ ανήκουν η α-τοκοφερόλη (βιταμίνη E), τα καροτενοειδή και τα φλαβονοειδή. Στη δεύτερη ομάδα ανήκουν υδατοδιαλυτά μόρια όπως το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C), το ουρικό οξύ, η χολερυθρίνη (η συνδεδεμένη στην αλβουμίνη), οι θειόλες.

i) **α-τοκοφερόλη (βιταμίνη E)**. Η βιταμίνη E είναι ένα μίγμα λιποδιαλυτών ουσιών: α-, β-, γ-, δ-τοκοφερόλη. Από αυτές η α-τοκοφερόλη έχει την ισχυρότερη αντιοξειδωτική δράση, γι' αυτό και όταν αναφερόμαστε στην βιταμίνη E ως αντιοξειδωτικό, συχνά χρησιμοποιούμε ως συνώνυμο της την α-τοκοφερόλη. Η α-τοκοφερόλη βρίσκεται στις κυτταρικές μεμβράνες

και στις λιποπρωτεΐνες του πλάσματος και δρα προστατευτικά έναντι της υπεροξειδωσης των λιπών. Περιέχει την ομάδα -OH στο μόριό της που αντιδρά εύκολα με τις ρίζες που σχηματίζονται κατά τις διαδοχικές αντιδράσεις της λιπιδικής υπεροξειδωσης:



Η ρίζα τοκοφερόλη-O• είναι ελάχιστα ενεργός και δεν μπορεί να επηρεάσει τις γειτονικές αλυσίδες των λιπαρών οξέων των λιπιδίων. Έτσι πρακτικά τερματίζεται στο μόριο αυτό η αλυσίδα αντιδράσεων της υπεροξειδωσης των λιπιδίων (chain-breaking antioxidant). Υπάρχουν ενδείξεις ότι οι σχηματιζόμενες ρίζες τοκοφερόλη-O• μπορούν να επανέλθουν στην αρχική μορφή της τοκοφερόλης (τοκοφερόλη-OH) με τη βοήθεια του ασκορβικού οξέος ή της γλουταθειόνης στην επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης.

Στις λιποπρωτεΐνες του πλάσματος η τοκοφερόλη δρα επίσης ως προστατευτικό μόριο και δυνατόν να επηρεάζει την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης, μιας νόσου όπου η υπεροξειδωση των λιπιδίων έχει ενοχοποιητικό ρόλο. Χαμηλά επίπεδα τοκοφερόλης στο πλάσμα έχουν συσχετιστεί με αυξημένη επίπτωση καρδιαγγειακών επεισοδίων<sup>169</sup>.

ii) **ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C)**. Είναι μια υδρόφιλη βιταμίνη με πολύ γνωστές αντιοξειδωτικές ιδιότητες. Όπως και η α-τοκοφερόλη έτσι και η βιταμίνη C δρα ως τελικός αποδέκτης ηλεκτρονίων. Η σχηματιζόμενη ρίζα (βιταμίνη C•) είναι σχετικά αδρανής, τερματίζοντας έτσι τις αλυσιδωτές αντιδράσεις των ελευθέρων ριζών. Εδώ αξίζει να σημειωθεί ότι σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις η βιταμίνη C μπορεί να δρα και ως προ-οξειδωτική ουσία. Παρουσία ιόντων σιδήρου πχ, η αναγωγή του σιδήρου από τη βιταμίνη C ευνοεί την αντίδραση Fenton:  $\text{Fe}^{3+} + \text{vit C} \rightarrow \text{Fe}^{2+} + \text{vit C}\bullet + 2\text{H}^+$

Ανάλογες ιδιότητες μπορεί, υπό προϋποθέσεις, να αποκτήσουν και άλλα αντιοξειδωτικά μόρια<sup>170</sup>.



iii) **θειόλες**. Περιέχουν στο μόριό τους την ομάδα -SH και αποτελούν ένα πολύ σημαντικό αντιοξειδωτικό μηχανισμό. Δρουν ως δότες ηλεκτρονίων αδρανοποιώντας έτσι τις ελεύθερες ρίζες. Αντιπροσωπευτικό μόριο της ομάδας αυτής είναι ένα τριπεπτίδιο (γ-Glu - Cys - Gly): η γλουταθειόνη (GSH). Η γλουταθειόνη συμμετέχει σε πολλά ενζυμικά συστήματα που ασκούν προστατευτικό ρόλο έναντι της λιπιδικής υπεροξειδωσης, όπως υπεροξειδάση της γλουταθειόνης, τρανσφεράση της γλουταθειόνης κλπ. Το υπόστρωμα των αντιδράσεων που καταλύουν τα ένζυμα αυτά περιλαμβάνει το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, υδροϋπεροξειδία λιπιδίων (L) και φωσφολιπιδίων (PL) (L-OOH, PL-OOH):  $R-OOH + 2GSH \rightarrow R-OH + H_2O + GSSG$

Εκτός από τη συμμετοχή της σε ενζυμικές αντιδράσεις η γλουταθειόνη μπορεί να δρα και ως ανεξάρτητο αντιοξειδωτικό. Η GSH αποτελεί «πηγή» -SH ομάδων για τον ενδοκυττάριο κυρίως χώρο.

Στο πλάσμα, το ρόλο του δότη -SH ομάδων έχει κυρίως η αλβουμίνη. Η αλβουμίνη παρουσιάζει επιπρόσθετες αντιοξειδωτικές ιδιότητες εξαιτίας της ικανότητας της να δεσμεύει τα ιόντα χαλκού αποτρέποντας το σχηματισμό HO• (βλ. αντίδραση Fenton). Εξάλλου αποτελεί το κύριο μέσο αδρανοποίησης του HOCl που παράγουν τα φαγοκύτταρα. Παρόλο που η αλβουμίνη ασκεί την αντιοξειδωτική δράση της ως ένα «θυσιαζόμενο» κάθε φορά μόριο, τα υψηλά επίπεδά της στο πλάσμα εξασφαλίζουν τον οργανισμό ώστε τέτοιου είδους αντιδράσεις να μην αποκτούν τελικά κλινική σημασία<sup>171</sup>.

### **γ) Πρωτεΐνες αποθήκευσης μετάλλων (Fe<sup>+2</sup>, Cu<sup>+</sup>)**

Ο οργανισμός προσπαθεί να διατηρεί τα αποθέματα Fe<sup>+2</sup> και Cu<sup>+</sup> συνδεδεμένα σε πρωτεΐνες μεταφοράς ή αποθήκευσης, αποφεύγοντας, κατά το δυνατόν, την κυκλοφορία των μετάλλων αυτών υπό μορφή ιόντων. Ο μηχανισμός αυτός αποκτά ιδιαίτερη σημασία στο εξωκυττάριο υγρό όπου τα επίπεδα των αντιοξειδωτικών ενζύμων είναι χαμηλά. Στο πλάσμα πχ, που η δεσμευτική ικανότητα της **τρανσφερίνης** είναι τριπλάσια από την απαιτούμενη για τη μεταφορά του υπάρχοντος σιδήρου, δεν ανευρίσκεται

πρακτικά σίδηρος υπό μορφή ιόντων. Ο συνδεδεμένος στην τρανσφερίνη σίδηρος δεν μπορεί να ενεργοποιήσει την υπεροξειδωση των λιπιδίων ή να επάγει τον σχηματισμό ριζών HO• (αντίδραση Fenton). Το ίδιο συμβαίνει και με τον χαλκό που στο πλάσμα βρίσκεται συνδεδεμένος στην **σερουλοπλασμίνη** ή στην **αλβουμίνη**. Η σημασία αυτού του μηχανισμού αντιοξειδωτικής άμυνας είναι έκδηλη σε καταστάσεις υπερφόρτωσης του οργανισμού με σίδηρο, που εκδηλώνονται με πολυοργανική ανεπάρκεια.

## 5. ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ STRESS ΚΑΙ ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ

Όπως αναφέραμε αναλυτικά ανωτέρω η ανισορροπία μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών παραγόντων ονομάζεται οξειδωτικό stress και σχετίζεται με την παθοφυσιολογία διαφόρων νοσημάτων του πνεύμονα. Οι υψηλές τιμές οξειδωτικού stress έχουν σχέση με την παθογένεση παθήσεων τόσο των αεραγωγών όσο και του πνευμονικού παρεγχύματος. Αυξημένες τιμές οξειδωτικού stress έχουν ανιχνευθεί στο άσθμα, τη Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια, την κυστική ίνωση και τις βρογχεκτασίες<sup>157-158-162-172</sup>. Τα κύτταρα της φλεγμονής απελευθερώνουν ελεύθερες ρίζες σε ασθενείς με παθήσεις του διαμέσου πνευμονικού ιστού όπως πνευμονική ίνωση και σαρκοείδωση<sup>173-174</sup>. Αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού stress έχουν μετρηθεί επίσης σε ασθενείς με καρκίνο πνεύμονα<sup>175</sup> και αποφρακτική άπνοια στον ύπνο<sup>166</sup>. Επιπρόσθετα, οι ελεύθερες ρίζες παίζουν ρόλο στην παθογένεση νοσημάτων όπως πρωτοπαθής πνευμονική υπέρταση<sup>176</sup> και βρογχοπνευμονική δυσπλασία<sup>177</sup>.

Οι μελέτες που ασχολούνται με το οξειδωτικό stress συγκρίνουν συνήθως δείγματα ασθενών με αντίστοιχα υγιών μαρτύρων. Στατιστικά σημαντικές διαφορές υποδηλώνουν αυξημένο οξειδωτικό stress σε σχέση με το φυσιολογικό. Υπάρχουν διάφοροι δείκτες οξειδωτικού stress που μπορούν να προσδιοριστούν στα διάφορα βιολογικά δείγματα όπως αίμα, ούρα, πτύελα, BAL και συμπύκνωμα εκπνεόμενου αέρα. Όταν θελήσουμε επομένως να ποσοτικοποιήσουμε το οξειδωτικό stress σε κάποιο νόσημα, καθορίζουμε σε ποιο βιολογικό δείγμα θα γίνουν οι μετρήσεις και ποιος θα είναι ο μετρούμενος δείκτης που θα προσδιοριστεί σ' αυτό. Ως δείκτες οξειδωτικού stress χρησιμοποιούνται ουσίες αντιπροσωπευτικές του οξειδωτικού φορτίου, που παρουσιάζουν σταθερότητα και μπορούν να προσδιοριστούν στα βιολογικά υγρά. Τέτοιοι δείκτες είναι οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και αζώτου και ουσίες που προκύπτουν από την επίδραση

των οξειδωτικών μορίων σε δομικά συστατικά του κυττάρου. Στην κατηγορία αυτή υπάγονται τα υδρουπεροξειδία, για τα οποία αναφερθήκαμε αναλυτικά παραπάνω, διάφορα πρωτεϊνικά μόρια όπως και προϊόντα της λιπιδικής υπεροξειδωσης με πιο αντιπροσωπευτικό το 8-ισοπροστανίο και τη μαλονική-διαλδεϋδη. Άλλος τρόπος να εκτιμήσουμε το οξειδωτικό stress είναι υπολογίζοντας τις αντιοξειδωτικές ουσίες όπως η SOD, η καταλάση και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης<sup>178-179</sup>.

## **5.1 Οξειδωτικό stress και παθήσεις των αεραγωγών.**

### **α) Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ).**

Ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον έχει τα τελευταία χρόνια ο ρόλος των οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών μηχανισμών στην ΧΑΠ. Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι το οξειδωτικό stress είναι αυξημένο σε ασθενείς με ΧΑΠ συγκρινόμενο με τιμές οξειδωτικού stress σε υγιείς αλλά και σε καπνιστές με την αντίστοιχη καπνιστική συνήθεια που δεν παρουσίασαν τελικά απόφραξη στους αεραγωγούς<sup>180</sup>. Παρακάτω περιγράφονται οι παράγοντες που σχετίζονται με το οξειδωτικό stress στη ΧΑΠ και συμβάλλουν στην παθογένεια αυτής όπως:

- i) Ο καπνός του τσιγάρου που περιέχει ένα μεγάλο αριθμό ελευθέρων ριζών και άλλων οξειδωτικών μορίων ( $1 \text{ puff}: 10^{14}$  ελεύθερες ρίζες)<sup>181</sup>.
- ii) Στην πνευμονική μικροκυκλοφορία προσελκύονται ουδετερόφιλα που με τη σειρά τους παράγουν και εκλύουν  $O_2^{\cdot-}$ ,  $H_2O_2$ ,  $HO\cdot$  και  $HClO$ <sup>182</sup>.
- iii) Τα ουδετερόφιλα εκλύουν επίσης πρωτεολυτικά ένζυμα όπως ελαστάση και κολλαγενάση. Η πρωτεολυτική δράση των ενζύμων αυτών φαίνεται να ευθύνεται για το εμφύσημα, δεδομένου ότι η φυσιολογική δράση των αντιπρωτεασών αναστέλλεται από τα οξειδωτικά μόρια. Έχει βρεθεί ότι οι ενεργοί μεταβολίτες οξυγόνου αναστέλλουν την δράση της  $\alpha_1$ -αντιθρυψίνης προκαλώντας οξείδωση στη μεθειονίνη που βρίσκεται στη θέση 358 του ενζύμου<sup>183</sup>.

iv) Μία άλλη πηγή παραγωγής οξειδωτικών ουσιών όπως  $O_2^{\bullet-}$  και  $H_2O_2$  είναι το ένζυμο οξειδάση της ξανθίνης. Η δραστηριότητα της οξειδάσης της ξανθίνης αυξάνεται στο BAL και στο πλάσμα καπνιστών και ασθενών με ΧΑΠ σε σχέση με τους υγιείς<sup>184</sup>.

v) Το NO επίσης έχει χρησιμοποιηθεί ως δείκτης φλεγμονής των αεραγωγών και εμμέσως ως δείκτης οξειδωτικού stress. Αυξημένα επίπεδα NO στον εκπνεόμενο αέρα έχουν αναφερθεί σε ορισμένες μελέτες αλλά οι τιμές δεν είναι τόσο υψηλές όσο στο άσθμα<sup>185-186</sup>. Επειδή το κάπνισμα αυξάνει το εκπνεόμενο NO αμέσως αμέσως το τελευταίο θεωρείται δείκτης μειωμένης διαγνωστικής αξίας για τη ΧΑΠ. Το υπεροξειδίο ωστόσο του αζώτου μπορεί να προκαλέσει μετατροπή της τυροσίνης σε νιτοτυροσίνη, η οποία έχει ανιχνευθεί σε αυξημένες τιμές στα πύελα ασθενών με ΧΑΠ και οι τιμές της παρουσιάζουν αρνητική συσχέτιση με τις τιμές της FEV<sub>1</sub> των ασθενών αυτών<sup>187</sup>.

vi) Λόγω της αυξημένης ποσότητας σιδήρου στα κυψελιδικά μακροφάγα των καπνιστών σε σχέση με τους καπνιστές, προάγεται η απελευθέρωση ελεύθερου σιδήρου στους αεραγωγούς, το οποίο έχει ως επακόλουθο την παραγωγή ROS μέσω της αντίδρασης Fenton<sup>188</sup>.

viii) Σε καπνιστές και σε ασθενείς με ΧΑΠ οι ενεργοί μεταβολίτες οξυγόνου ενεργοποιούν τους NF-κB (nuclear factor-κB) και AP-1 (activator protein-1) και προάγουν την σύνδεσή τους με τον πυρήνα του κυττάρου. Οι παράγοντες αυτοί ρυθμίζουν την έκφραση γονιδίων που ενέχονται τόσο στην φλεγμονή της ΧΑΠ όσο και σε μηχανισμούς προστασίας από τις οξειδωτικές βλάβες (παραγωγή GSH)<sup>189</sup>.

viii) Οι βρογχίτιδες σχετίζονται με την παραγωγή οξειδωτικών ουσιών μέσω της συγκέντρωσης και της ενεργοποίησης των φαγοκυττάρων. Αυξημένη απελευθέρωση  $O_2^{\bullet-}$  από ουδετερόφιλα παρατηρήθηκε σε λοιμώδους αιτιολογίας παρόξυνση της ΧΑΠ<sup>190</sup>.

Επομένως υπάρχουν σαφείς ενδείξεις σχετικά με τη συμμετοχή του οξειδωτικού stress στην παθογένεια της νόσου. Δείκτες οξειδωτικού stress

σε ασθενείς με ΧΑΠ έχουν προσδιοριστεί στο αίμα, στο BAL, στον εκπνεόμενο αέρα και στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα. Τέτοιοι δείκτες είναι σύμφωνα με τη βιβλιογραφία το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> στον εκπνεόμενο αέρα, προϊόντα λιπιδικής υπεροξειδωσης όπως το θειοβαρβιτουρικό οξύ στο αίμα και στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα, F<sub>2</sub> ισοπροστάνια (και ιδιαίτερα το 8 ισοπροστάνιο) στο αίμα και στον εκπνεόμενο αέρα, πρωτεϊνικά μόρια όπως εθάνιο και πεντάνιο στον εκπνεόμενο αέρα αλλά και προϊόντα καταστροφής του DNA όπως η δραστηριότητα της 8-υδροξυ-2-γουανοσίνης, η οποία έχει ανιχνευθεί στο περιφερικό αίμα καπνιστών και ασθενών με ΧΑΠ<sup>173-191-192-193</sup>.

Εκτός των ανωτέρω έχει μελετηθεί και η θέση των αντιοξειδωτικών παραγόντων στην παθογένεια αλλά και στη θεραπεία της νόσου<sup>194</sup>. Οι National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) και η Δανέζικη Monitoring Project for the Risk Factors for Chronic Diseases (Morgen) επισημαίνουν τη σχέση μεταξύ της διατροφικής συνήθειας και την μείωση της FEV<sub>1</sub> των ασθενών με ΧΑΠ. Η NHANES έχει αποδείξει το σημαντικό και προστατευτικό ρόλο της πρόσληψης βιταμίνης C σε ασθενείς με ΧΑΠ με την μείωση των παροξύνσεων και τη βελτίωση των χρονίων συμπτωμάτων<sup>195</sup>. Η MORGEN επίσης έχει δείξει ότι η πρόσληψη βιταμίνης C και β-καροτένιου έχει συσχετιστεί με υψηλότερες τιμές της FEV<sub>1</sub><sup>196</sup>.

## **β) Βρογχικό άσθμα**

Το οξειδωτικό stress παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια του βρογχικού άσθματος και είναι αποτέλεσμα τόσο της φλεγμονής όσο και της περιβαλλοντικής έκθεσης σε αλλεργιογόνα, σύμφωνα με τα νεότερα βιβλιογραφικά δεδομένα.

Έχει βρεθεί ότι κύτταρα, που λαμβάνονται από το BAL ασθματικών ασθενών, παρουσιάζουν αυξημένη παραγωγή O<sub>2</sub><sup>•-</sup> συγκρινόμενα με αυτά

φυσιολογικών ατόμων<sup>197</sup>. Ανάλογη αύξηση παρατηρήθηκε και μετά από πρόκληση με αλλεργιογόνο<sup>198</sup>. Αυξημένη απελευθέρωση  $O_2^{\bullet-}$  παρατηρήθηκε επίσης σε μονοκύτταρα και ουδετερόφιλα του αίματος σε ασθενείς με άσθμα.

Σε άλλες μελέτες βρέθηκε ότι ηωσινόφιλα κύτταρα, μετά από ενεργοποίηση, παράγουν αυξημένες ποσότητες οξειδωτικών μορίων, που αυξάνονται ακόμη περισσότερο μετά από πρόκληση με αλλεργιογόνο<sup>199</sup>.

Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει αρκετές μελέτες σε ασθματικούς ασθενείς που αφορούν στην αξιολόγηση διαφόρων δεικτών οξειδωτικού stress στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα. Έτσι βρέθηκε ότι τα επίπεδα του  $H_2O_2$  αυξάνουν σε ασθματικούς ασθενείς με την μεγαλύτερη αύξηση να παρατηρείται στην διάρκεια των παροξύνσεων<sup>200-201-202</sup>. Δείκτες της λιπιδικής υπεροξειδωσης, όπως τα παράγωγα της αντίδρασης με TBA και τα επίπεδα του πεντανίου και εθανίου, βρέθηκαν επίσης αυξημένα σε ασθενείς με βρογχικό άσθμα<sup>203-204</sup>. Ανάλογη αύξηση παρατηρήθηκε και στα επίπεδα των ισοπροστανίων και λευκοτριενίων στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα σε παιδιά με βρογχικό άσθμα σε σχέση με υγιή παιδιά και συσχέτιση των επιπέδων τους με την βαρύτητα της νόσου<sup>205-206-207</sup>. Το pH επίσης έχει χρησιμοποιηθεί στον εκπνεόμενο αέρα ως δείκτης φλεγμονής σε παιδιά με βρογχικό άσθμα σε σχέση με υγιή<sup>208</sup>.

Σε ασθενείς με βρογχικό άσθμα έχουν βρεθεί επίσης μεταβολές των αντιοξειδωτικών παραγόντων όπως πχ της SOD με μείωση των ανιχνευόμενων επιπέδων της στο BAL<sup>209</sup>.

Επίσης αυξημένα επίπεδα γλουταθειόνης έχουν ανιχνευθεί στα προκλητά πτύελα ασθενών με ήπιο μέτριο βρογχικό άσθμα γεγονός που αποδεικνύει τη συμμετοχή του οξειδωτικού stress στην παθογένεια της νόσου<sup>210</sup>.

Μελέτες επίσης έχουν δείξει ότι η χορήγηση από του στόματος κορτιζόνης προσφέρει βελτίωση της κλινικής εικόνας παρεμβαίνοντας στην ανισορροπία οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών παραγώγων, ενώ η εισπνεόμενη κορτιζόνη προσφέρει κλινική βελτίωση χωρίς να επηρεάζει την ανωτέρω αλυσίδα<sup>211</sup>.

### **γ) Κυστική ίνωση**

Αρκετές μελέτες έχουν αναφερθεί στο ρόλο του οξειδωτικού stress στην ινοκυστική νόσο. Οι περισσότερες συμφωνούν στο ότι υπάρχει αύξηση του οξειδωτικού stress και κατ'έπείταση και των οξειδωτικών δεικτών, όπως το 8-ισοπροσάνιο και το εθάνιο στον εκπνεόμενο αέρα<sup>212-213</sup> με παράλληλη μείωση της αποτελεσματικότητας των αντιοξειδωτικών μηχανισμών όπως της SOD<sup>214-215</sup>. Σημαντικός είναι επίσης ο ρόλος των θεραπευτικών παρεμβάσεων στην ενίσχυση της αντιοξειδωτικής άμυνας στο ELF.

### **δ) Βρογχεκτασίες**

Λίγες μελέτες έχουν ασχοληθεί με το οξειδωτικό stress σε ασθενείς με βρογχεκτασίες. Οι περισσότερες αφορούν μελέτη παραμέτρων που εκφράζουν το οξειδωτικό stress στον εκπνεόμενο αέρα. Έτσι έχουν βρεθεί αυξημένα επίπεδα H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> και CO στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα στους ασθενείς αυτούς<sup>216-217</sup>.

## **5.2. Οξειδωτικό stress και παθήσεις του διαμέσου ιστού**

### **α) Σαρκοείδωση**

Λίγες μελέτες έχουν ανακοινωθεί όσον αφορά στη σαρκοείδωση και τη συμμετοχή του οξειδωτικού stress στον παθογένεια της νόσου. Έτσι έχει βρεθεί ότι τα κυψελιδικά μακροφάγα που απομονώνονται από το BAL ασθενών με σαρκοείδωση εκλύουν μεγαλύτερες ποσότητες H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> από ό,τι



τα κυψελιδικά μακροφάγα φυσιολογικών ατόμων<sup>218</sup>. Στο BAL σαρκοειδικών ασθενών έχουν επίσης βρεθεί αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού stress όπως το 8-ισοπροστανίνο και οι τιμές του σχετίζονται επίσης με τη βαρύτητα της νόσου<sup>219</sup>. Οι αυξημένες τιμές του οξειδωτικού stress έχουν σχέση με την υποκείμενη φλεγμονώδη διεργασία αλλά όχι με την παθογένεια της νόσου.

## **β)Ιδιοπαθής Πνευμονική Ίνωση(IPF)**

Σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία το οξειδωτικό stress είναι αυξημένο στην IPF. Έτσι έχει βρεθεί αυξημένη παραγωγή ενεργών μεταβολιτών οξυγόνου από τα κυψελιδικά μακροφάγα και ουδετερόφιλα στο BAL ασθενών με IPF.

Το αυξημένο αυτό οξειδωτικό stress αντικατοπτρίζεται είτε από μειωμένες τιμές αντιοξειδωτικών δεικτών είτε από αυξημένες των οξειδωτικών δεικτών. Η μείωση των πρώτων μπορεί να προέρχεται ως ένα βαθμό από την κατανάλωση της GSH από τους ενεργούς μεταβολίτες οξυγόνου. Πιθανότατα σ' αυτό να συμβάλει και η αναστολή της σύνθεσης της στα επιθηλιακά κύτταρα που είναι οι τροφοδότες του ELF σε GSH<sup>220</sup>. Μελέτες έχουν δείξει τα χαμηλά επίπεδα της GSH στα πύελα ασθενών με IPF σε σχέση με εκείνα υγιών αλλά και τη συσχέτιση των ανωτέρω τιμών με την πρόγνωση της νόσου<sup>221</sup>. Εκτός από την GSH και άλλα αντιοξειδωτικά ένζυμα είναι επίσης μειωμένα στους πνεύμονες ασθενών με IPF, όπως η γ-γλουταμυλ-κυστεϊνική συνθετάση (γ-GCS), που ρυθμίζει την παραγωγή της GSH, η δισμουτάση το υπεροξειδίου (MnSOD) και η οξυγενάση της αίμης (OH1)<sup>222</sup>. Τα επίπεδα της τελευταίας είναι επίσης ελαττωμένα στα μακροφάγα του BAL ασθενών με IPF σε σχέση με εκείνα ασθενών με κοκκιωματώδεις νόσους όπως η σαρκοείδωση, αποδεικνύοντας τη μειωμένη αντιοξειδωτική άμυνα των πρώτων.

Στον εκπνεόμενο αέρα και BAL ασθενών με IPF βρέθηκαν αυξημένα επίπεδα δεικτών οξειδωτικού stress, όπως οι οξειδωμένες πρωτεΐνες και το 8-ισοπροστανίνο<sup>223</sup>.

### γ) Πυριτίαση και αμιάντωση

Ιn vivo μελέτες σε ποντίκια απέδειξαν ότι οι πνεύμονες στην πυριτίαση βρίσκονται σε κατάσταση αυξημένου οξειδωτικού stress και τα υψηλά επίπεδα των ROS και RNS που ανιχνεύονται οφείλονται στην απελευθέρωση οξειδωτικών ενζύμων και λιπιδικής υπεροξειδωσης<sup>224</sup>. Η οξυγενάση της αίμης επίσης, η οποία έχει αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες έχει ανευρεθεί ότι αυξάνει στη συγκεκριμένη νόσο και καταστέλλει την απελευθέρωση των ROS εμποδίζοντας έτσι την πρόοδο της νόσου<sup>225-226</sup>.

Η έκθεση επίσης στον αμιάντο προάγει την παραγωγή ελευθέρων ριζών. Μελέτη σε εργάτες εργοστασίου κατεργασίας αμιάντου απέδειξε πως τα επίπεδα του 8-ισοπροστανίου στον εκπνεόμενο αέρα των εργατών ήταν πολύ υψηλότερα από ότι των υγιών ατόμων<sup>227</sup>.

### 5.3. Οξειδωτικό stress και καρκίνος πνεύμονα

Πολλές μελέτες έχουν ασχοληθεί σχετικά με το ρόλο του οξειδωτικού stress στον καρκίνο του πνεύμονα όπως και τη σχέση του με τα χημειοθεραπευτικά φάρμακα. Οι οξειδωτικές ουσίες, επίσης, έχει αποδειχθεί ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στην καρκινογένεση τόσο για τον καρκίνο του πνεύμονα όσο και για άλλες κακοήθειες. Δείκτες οξειδωτικού stress όπως τα αλκάνια και τα μονομεθυλικά αλκάνια ήταν σε αυξημένα επίπεδα στον εκπνεόμενο αέρα ασθενών με καρκίνο πνεύμονα συγκριτικά με υγιείς μάρτυρες<sup>228</sup>. Σύμφωνα με άλλες μελέτες η φλεγμονή προάγει την αύξηση της δισμουτάσης του υπεροξειδίου (MnSOD) και τη μείωση της καταλάσης με αποτέλεσμα τη συσσώρευση οξειδωτικών ουσιών όπως το υπεροξειδίου του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) στο ενδοκυττάριο περιβάλλον, το οποίο προάγει την καταστροφή του DNA και την καρκινογένεση<sup>229</sup>.

#### **5.4. Οξειδωτικό stress και Σύνδρομο Αποφρακτικής Άπνοιας στον Ύπνο(ΣΑΑΥ)**

Αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού stress μετρημένα με τη μέθοδο D-ROMs τεστ, η οποία και θα περιγραφεί αναλυτικά παρακάτω στο ειδικό μέρος, έχουν ανιχνευθεί σε ασθενείς με ΣΑΑΥ στο αίμα σε σχέση με υγιείς μάρτυρες πιθανόν οφειλόμενο στην αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου λόγω της υποξίας<sup>230</sup>. Άλλες μελέτες επίσης ανέδειξαν αυξημένες τιμές 8-ισοπροστανίου στον εκπνεόμενο αέρα των ασθενών με ΣΑΑΥ<sup>166</sup>.

#### **5.5. Οξειδωτικό stress και βρογχοπνευμονική δυσπλασία**

Σύμφωνα με ορισμένες μελέτες υψηλές τιμές οξειδωτικών ουσιών ανευρέθησαν στο αίμα παιδιών με βρογχοπνευμονική δυσπλασία και σε νεογνά με σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας<sup>231</sup>.

#### **5.6. Οξειδωτικό stress και σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας(ARDS)**

Η οξεία πνευμονική βλάβη(ALI) αποτελεί την πιο σοβαρή μορφή της οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας(ARDS) με υψηλή θνητότητα και θνησιμότητα. Τα σύνδρομα αυτά συνοδεύονται από σοβαρή πνευμονική βλάβη, η οποία οδηγεί στην ενεργοποίηση οξείας φλεγμονώδους απάντησης με παραγωγή κυτοκινών και χυμοκινών, οι οποίες προάγουν την κινητοποίηση των ουδετεροφίλων στα πνευμονικά αγγεία. Τα κύτταρα αυτά απελευθερώνουν μεγάλη ποικιλία κυτταροτοξικών και προφλεγμονωδών ουσιών όπως ROS, RNS και κατιονικές πρωτεΐνες. Τα προϊόντα αυτά προάγουν εκ νέου την παραγωγή κυτταροτοξικών μεσολαβητών που οδηγούν σε βλάβη της κυψελιδοτριχοειδικής μεμβράνης και αναπνευστική ανεπάρκεια<sup>232</sup>.

## 5.7. Οξειδωτικό stress και πνευμονική υπέρταση

Το οξειδωτικό stress έχει εκτιμηθεί επίσης σε ασθενείς με πνευμονική υπέρταση με τη βοήθεια προϊόντων λιπιδικής υπεροξειδωσης, τα οποία μετρήθηκαν στα ούρα ασθενών και υγιών ατόμων. Οι τιμές αυτών ήταν σημαντικά υψηλότερες στους ασθενείς σε σχέση με τους υγιείς<sup>233</sup>.

# **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## **6. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

### **6.1. Πληθυσμός**

Στη μελέτη συμμετείχαν 90 ασθενείς, οι οποίοι νοσηλεύτηκαν στην Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας, με σκοπό τη διαγνωστική προσέγγιση της υπεζωκοτικής συλλογής. Στο διάστημα αυτό οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε διαγνωστική πλευροπαρακέντηση και υπέγραψαν έγγραφη συγκατάθεση για τη συμμετοχή τους στην ανωτέρω μελέτη. Δεκαέξι ασθενείς αποκλείστηκαν παρά τον πλήρη εργαστηριακό και παρακλινικό έλεγχο είτε γιατί το αίτιο της υπεζωκοτικής συλλογής δεν διευκρινίστηκε είτε γιατί υπήρχαν περισσότερες από μία πιθανές αιτίες πρόκλησης υπεζωκοτικής συλλογής. Το πρωτόκολλο της μελέτης εγκρίθηκε από την επιστημονική επιτροπή του νοσοκομείου.

### **6.2. Συλλογή δείγματος και ανάλυση**

Αμέσως μετά τη συλλογή του υπεζωκοτικού υγρού και του αίματος τα δείγματα στάλθηκαν για ανάλυση για τους παρακάτω βιοχημικούς δείκτες: γλυκόζη, ολικές πρωτεΐνες, γαλακτική δευδρογονάση (LDH) και αλβουμίνη χρησιμοποιώντας εμπορικά διαθέσιμες μεθόδους. Το υπεζωκοτικό υγρό και το αίμα υποβλήθηκε σε ανάλυση για τον ολικό αριθμό και τον τύπο των κυττάρων, καθώς και τα επίπεδα της γλυκόζης, των ολικών πρωτεϊνών και της γαλακτικής δευδρογενάσης (LDH). Η ανάλυση των βιοχημικών χαρακτηριστικών έγινε με ηλεκτροχημειοφωταύγεια, χρησιμοποιώντας εμπορικά διαθέσιμες μεθόδους και σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή (Olympus AU 600, Olympus Diagnostics GmbH, Irish Branch, Lismeehan). Ο αριθμός και ο τύπος των κυττάρων έγινε με άμεση

μικροσκόπηση. Όλα τα δείγματα εστάλησαν άμεσα για κυτταρολογική εξέταση και καλλιέργεια για αερόβια και αναερόβια βακτήρια στα εξειδικευμένα εργαστήρια του νοσοκομείου. Το υπεζωκοτικό υγρό και το αίμα αμέσως μετά την λήψη τους φυγοκεντρούνταν στις 1500 στροφές για 15 λεπτά στους 4°C. Δείγμα των ανωτέρω χρησιμοποιούνταν για μέτρηση οξειδωτικού stress αμέσως μετά τη φυγοκέντρηση.

### **6.3. Διαγνωστικά κριτήρια υπεζωκοτικών συλλογών**

Η διάγνωση των υπεζωκοτικών συλλογών βασίστηκε στην κλινική εικόνα, τον παρακλινικό έλεγχο και την ανταπόκριση στη θεραπεία. Οι υπεζωκοτικές συλλογές κατηγοριοποιήθηκαν με βάση προκαθορισμένα κριτήρια σε:

- 1. Κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές οφειλόμενες σε καρκίνο πνεύμονα:** η διάγνωση βασίστηκε στην ανάδειξη κακοήθων κυττάρων στην κυτταρολογική του υπεζωκοτικού υγρού ή την ιστολογική από βιοψία βρόγχου ή βιοψία πνεύμονα.
- 2. Φυματιώδεις υπεζωκοτικές συλλογές:** η διάγνωση βασίστηκε είτε σε θετική Gram χρώση, είτε σε θετική καλλιέργεια του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης στο υπεζωκοτικό υγρό, τα πτύελα ή τη βιοψία υπεζωκότα όπως επίσης και στην παρουσία κοκκιωμάτων στην βιοψία υπεζωκότα. Σε περιπτώσεις που δεν διενεργήθηκε βιοψία υπεζωκότα η διάγνωση βασίστηκε στα παρακάτω κριτήρια:(i) αδενοδεαμινάση πλευριτικού υγρού μεγαλύτερη από 40 U/L (ii) αποκλεισμός άλλης αιτίας υπεζωκοτικής συλλογής (iii) ανταπόκριση στην αντιφυματική αγωγή.
- 3. Άλλες κακοήθειες:** η κατηγορία αυτή συμπεριλαμβάνει υπεζωκοτικές συλλογές οι οποίες προκλήθηκαν δευτεροπαθώς σε

ασθενείς με καρκίνο ωοθηκών, μαστού, νεφρού ή και λέμφωμα. Και σε αυτή την περίπτωση αποκλείστηκαν όλες οι άλλες αιτίες πρόκλησης υπεζωκοτικής συλλογής.

4. **Παραπνευμονικές συλλογές-εμπύημα:** διαγνώστηκαν από την παρουσία πνευμονικής λοίμωξης με οξεία έναρξη, τα πνευμονικά διηθήματα στον ακτινολογικό έλεγχο, τα πυώδη πτύελα και την ανταπόκριση στην αντιβιοτική θεραπεία όπως και την ταυτοποίηση του μικροβίου στο πλευριτικό υγρό. Στην περίπτωση του εμπυήματος η όψη του πλευριτικού υγρού είναι καθαρό πύον. Κανένας από τους ασθενείς της μελέτης δεν είχε σημεία εγκυστωμένης συλλογής στον ακτινολογικό έλεγχο τη στιγμή της παρακέντησης.
5. **Άλλα εξιδρώματα** όπως εκείνα οφειλόμενα σε **ρευματοειδή αρθρίτιδα, ηωσινοφιλική πλευρίτιδα και μετατραυματική υπεζωκοτική συλλογή αλλά και οφειλόμενα σε πνευμονική εμβολή.**
6. **Συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια:** η διάγνωση βασίστηκε σε ευρήματα όπως αυξημένος καρδιοθωρακικός δείκτης ή εικόνα πνευμονικής συμφόρησης στην απλή ακτινογραφία θώρακος, συστολική ή διαστολική δυσλειτουργία δεξιών κοιλοτήτων στο υπερηχοκαρδιογράφημα, περιφερικό οίδημα ή ανταπόκριση στη θεραπεία της ΣΚΑ.
7. **Νεφρική ανεπάρκεια:** διαγνώστηκε βάση τις αυξημένες τιμές ουρίας και κρεατινίνης και τον αποκλεισμό άλλων αιτίων παραγωγής υπεζωκοτικής συλλογής.
8. **Άλλες αιτίες διιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών: νεφρωσικό σύνδρομο, ασθενείς με πρωτεϊνουρία, υπολευκωματαιμία και οίδημα, κίρρωση ήπατος,** η διάγνωση



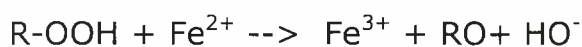
βασίστηκε στη βιοψία ήπατος σε ασθενείς με ασκίτη, άλλες αιτίες υποαλβουμιναιμίας, αποδεδειγμένης με τιμή αλβουμίνης ορού <30 g/L απουσία πρωτεϊνουρίας ή ηπατικής κίρρωσης.

Στη συγκεκριμένη μελέτη στην κατηγορία των εξιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών συμπεριλήφθηκαν οι κακοήθειες, οι φυματιώδεις, οι παραπνευμονικές, οι οφειλόμενες σε ρευματοειδή αρθρίτιδα, οι μετατραυματικές, οι ηωσινοφιλικές και οι οφειλόμενες σε πνευμονική εμβολή. Στην κατηγορία των διιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών εντάχθηκαν οι οφειλόμενες σε συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, σε νεφρική ανεπάρκεια και σε υπολευκωματιναιμία. Η αξιολόγηση των υπεζωκοτικών συλλογών ως εξιδρώματα ή διιδρώματα έγινε από έμπειρους κλινικούς ιατρούς οι οποίοι δεν γνώριζαν τους χαρακτήρες των πλευριτικών υγρών. Ο χαρακτηρισμός και η διάκριση των υπεζωκοτικών συλλογών ως εξιδρώματα και διιδρώματα ενισχύθηκε από την εφαρμογή και των κριτηρίων του Light: πρωτεΐνες πλευριτικού/πρωτεΐνες ορού >0.5, LDH πλευριτικού/LDH ορού >0.6 και η απόλυτη τιμή της LDH μεγαλύτερη από τα 2/3 του ανώτερου φυσιολογικού ορίου της LDH ορού<sup>234</sup>. Σε τέσσερις ασθενείς με διιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή που ελάμβαναν χρονίως διουρητικά ο λόγος πρωτεϊνών πλευριτικού/πρωτεΐνες ορού ήταν μεγαλύτερος από 0,5, ενώ η διαφορά αλβουμίνης (αλβουμίνη ορού-αλβουμίνη πλευριτικού) ήταν μεγαλύτερη από 1.2 υποδεικνύοντας τη διιδρωματική φύση της υπεζωκοτικής συλλογής<sup>235</sup>.

#### **6.4. Προσδιορισμός οξειδωτικού stress**

Τα δείγματα του υπεζωκοτικού υγρού αναλύθηκαν αμέσως μετά την παρακέντηση από τον ερευνητή της μελέτης, ο οποίος δεν γνώριζε την κλινική εικόνα και τον υπόλοιπο εργαστηριακό και παρακλινικό έλεγχο των ασθενών. Για τον προσδιορισμό του οξειδωτικού stress στο υπεζωκοτικό

υγρό χρησιμοποιήθηκε μια εμπορικά διαθέσιμη μέθοδος (d-ROMs test, Diacron, Grosseto, Italy), η οποία έχει χρησιμοποιηθεί σε δείγμα αίματος<sup>142-236</sup>. Πρόκειται για μια σπεκτροφωτομετρική μέθοδος, η οποία προσδιορίζει το ολικό οξειδωτικό stress μετρώντας υδροϋπεροξειδία. Τα υδροϋπεροξειδία είναι ενδιάμεσα παράγωγα οξειδωτικής βλάβης σε λιπίδια, πρωτεΐνες και νουκλεοτίδια. Αμέσως μετά την παρακέντηση το πλευριτικό υγρό φυγοκεντρείται και 20 μL αυτού εγχέεται σε 1 mL όξινου διαλύματος (pH=4.8, R1 αντιδραστήριο). Τα υδροϋπεροξειδία (ROOH) αντιδρούν με ιόντα μετάλλων μεταφοράς, που απελευθερώνονται από πρωτεΐνες και μετατρέπονται σε αλκοξύλια (RO) και υπεροξύλια (ROO) σύμφωνα με την αντίδραση Fenton.



Αυτά τα νέα παράγωγα, οι ποσότητες των οποίων είναι ανάλογες των υπεροξειδίων στο πλευριτικό υγρό, δεσμεύονται από 20 μL χρωμογόνου (N,N-διεθυλπαραφαινουλδιαμίνη, R2 αντιδραστήριο). Το ροζ χρώμα που προκύπτει από την αντίδραση προσδιορίζεται φωτομετρικά (Perkin Elmer λ16 Norwalk, Connecticut, USA) στα 505 nm. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων με τη συγκεκριμένη μέθοδο εκτιμώνται με Carratelli Units, UCarr, 1 UCarr αντιστοιχεί σε 0.8 mg/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

## 6.5. Επαναληψιμότητα

Η επαναληψιμότητα των μετρήσεων των υδροϋπεροξειδίων με τη βοήθεια του d-ROMs test ελέγχθηκε σε δύο δείγματα υπεζωκοτικού υγρού από δύο παρακεντήσεις σε δύο διαδοχικές ημέρες σε 14 ασθενείς εκ των οποίων (i) 4 ασθενείς με κακοήθη υπεζωκοτική συλλογή οφειλόμενη σε καρκίνο πνεύμονα, (ii) 4 ασθενείς με κακοήθη υπεζωκοτική συλλογή άλλη πλην των πνευμόνων, (iii) 2 ασθενείς με φυματιώδη υπεζωκοτική συλλογή και (iv) 4 ασθενείς με διιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή. Όλοι οι ασθενείς ήταν σε σταθερή κλινική κατάσταση μεταξύ των δύο παρακεντήσεων. Μια

περαιτέρω ανάλυση συμπεριλάμβανε δύο διαδοχικές μετρήσεις στο ίδιο δείγμα υπεζωκοτικού υγρού την πρώτη μέρα με σκοπό να ελέγξει την επαναληψιμότητα της μεθόδου στο ίδιο δείγμα.

## 7. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ως μέση τιμή  $\pm$  σταθερά απόκλιση. Οι συγκρίσεις των επιπέδων του οξειδωτικού stress δύο διαφορετικών ομάδων έγιναν χρησιμοποιώντας unpaired t-test. Οι συγκρίσεις μεταξύ περισσότερων από δύο ομάδες έγιναν με την one-way analysis of variance (ANOVA). Η κανονικότητα κατανομής έγινε με τη βοήθεια του Shapiro-Wilk's test. Οι συσχετίσεις μεταξύ οξειδωτικού stress και άλλων παραμέτρων έγιναν με τη βοήθεια του Pearson's correlation coefficient. Για την εκτίμηση της επαναληψιμότητας των μετρήσεων του οξειδωτικού stress στο πλευριτικό υγρό εφαρμόστηκε μία μέθοδος που περιγράφηκε από τους Bland and Altman<sup>237</sup>. Η τιμή  $p < 0.05$  θεωρήθηκε στατιστικώς σημαντική.

Για την εκτίμηση του οξειδωτικού stress ως δείκτη διάκρισης μεταξύ διιδρωμάτων από εξιδρώματα χρησιμοποιήσαμε τη ROC (receiver operator characteristics) ανάλυση εκτιμώντας την ευαισθησία και την ειδικότητα όπως και την περιοχή κάτω από την καμπύλη με 95% περιθώρια αξιοπιστίας. Για τον προσδιορισμό της βέλτιστης τιμής διαχωρισμού εξιδρωμάτων και διιδρωμάτων υπολογίστηκαν οι παρακάτω παράμετροι: ευαισθησία =  $TP/(TP+FN)$ , ειδικότητα =  $TN/(TN+FP)$ , θετική προγνωστική αξία (PPV) =  $TP/(TP+FP)$ , αρνητική προγνωστική αξία (NPV) =  $TN/(TN+FN)$  και ακρίβεια =  $(TP+TN)/(TP+TN+FP+FN)$ , όπου TP είναι ο αριθμός των αληθώς θετικών διαγνώσεων (αριθμός εξιδρωμάτων αληθώς διαγνωσμένα), TN είναι ο αριθμός των αληθώς αρνητικών διαγνώσεων (αριθμός διιδρωμάτων αληθώς διαγνωσμένα), FP είναι ο αριθμός των ψευδώς θετικών διαγνώσεων, και FN είναι ο αριθμός των ψευδώς αρνητικών διαγνώσεων. Επειδή τα εξιδρώματα και τα διιδρώματα είναι συμπληρωματικοί όροι χρησιμοποιήσαμε την παραπάνω ορολογία σε σχέση με τα εξιδρώματα.

## 8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα περιγραφικά χαρακτηριστικά των 90 ασθενών της μελέτης όπως επίσης και οι χαρακτήρες του υπεζωκοτικού υγρού παρουσιάζονται αναλυτικά κατωτέρω:

Αίτιο	Αριθμός ασθενών	%
<b>Διιδρώματα</b>	28	31.1
ΣΚΑ	12	13.3
Νεφρική ανεπάρκεια	8	8.9
Υπολευκωματιναιμία	8	8.9
<b>Εξιδρώματα</b>	62	68.9
Κακοήθειες	40	44.4
Καρκίνος πνεύμονα	22	24.4
Άλλες	18	20.0
Ωοθήκες	3	3.3
Μαστοί	4	4.4
Non-Hodgkin λέμφωμα	2	2.2
Νεφροί	4	4.4
Άγνωστα αίτια	5	5.6
Φυματίωση	8	9.0
Άλλα	14	15.5
Παραπνευμονική	6	6.7
Εωσινοφιλική πλευρίτιδα	3	3.3
Ρευματοειδής αρθρίτιδα	2	2.2
Τραύμα	3	3.3

**Πίνακας 1.** Ταξινόμηση Υπεζωκοτικών Συλλογών (n=90).

	<b>Εξιδρώματα (n=62)</b>	<b>Διιδρώματα (n=28)</b>
<b>Ηλικία (έτη)</b>	68±13 (24-88)	66±13 (24-84)
<b>Φύλο (άνδρας/γυναίκα)</b>	38/24	17/11
<b>Κύτταρα ΥΥ</b>	3100±3987 (400-26000)	600±421 (80-1400)
<b>Γλυκόζη ΥΥ(mg/dl)</b>	108±48 (4-373)	124±49 (80-354)
<b>Γλυκόζη ορού(mg/dl)</b>	124±42 (72-379)	122±32 (78-216)
<b>πρωτεΐνες ΥΥ(g/L)</b>	4.62±0.91 (2.90-7.30)	2.32±0.59 (1.40-3.40)
<b>πρωτεΐνες ορού(g/L)</b>	6.77±0.81 (3.60-8.80)	5.64±0.75 (4.40-7.30)
<b>πρωτεΐνες ΥΥ/ πρωτεΐνες ορού</b>	0.69±0.19 (0.39-2.00)	0.40±0.09 (0.26-0.61)
<b>LDH ΥΥ(U/L)</b>	476±480 (180-3000)	104±46 (55-242)
<b>LDH ορού (U/L)</b>	241±83 (111-552)	211±54 (118-326)
<b>LDH ΥΥ/LDH ορού</b>	1.96±1.83 (0.50-6.40)	0.52±0.30 (0.22-1.49)

**Πίνακας 2.** Γενικά χαρακτηριστικά υπεζωκοτικών συλλογών.

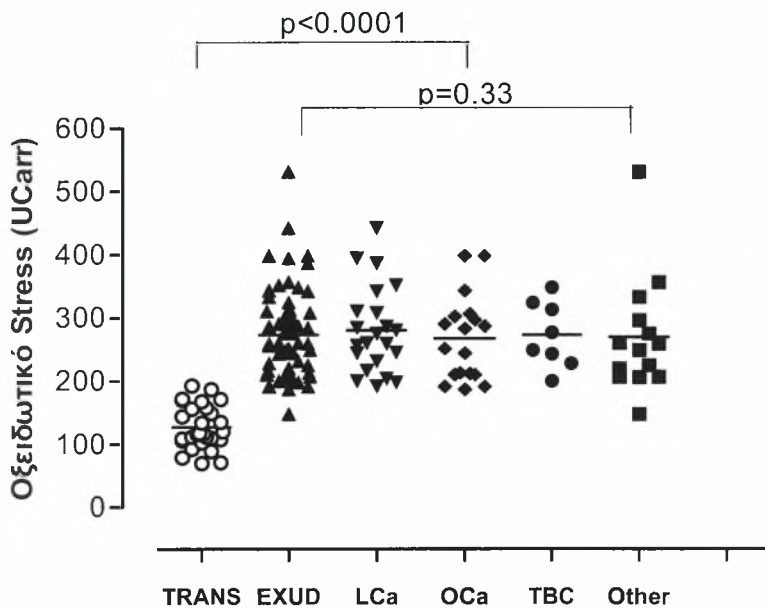
Τα στοιχεία παρουσιάζονται ως Μέση τιμή ± Σταθερά απόκλιση (SD). Το Εύρος δίνεται σε παρενθέσεις. ΥΥ= Υπεζωκοτικό Υγρό

## Διάκριση εξιδρωμάτων από διιδρώματα

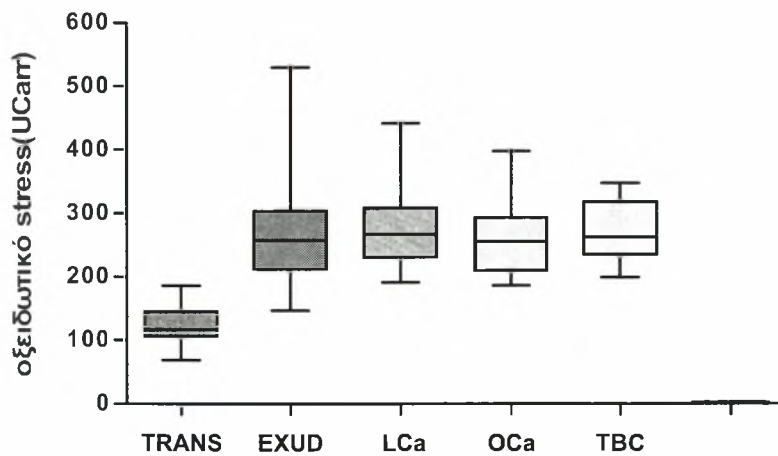
Οι τιμές του οξειδωτικού stress στο υπεζωκοτικό υγρό ήταν υψηλότερες στα εξιδρώματα σε σχέση με εκείνες των διιδρωμάτων ( $274 \pm 72$  UCarr έναντι  $126 \pm 34$  UCarr;  $p < 0.0001$ ) (**Πίνακας 3**). Όμοιες διαφορές παρατηρήθηκαν μεταξύ των διαφόρων κατηγοριών των εξιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών και των διιδρωμάτων (καρκίνος πνεύμονα  $279 \pm 68$  UCarr, άλλες κακοήθειες  $266 \pm 67$ , φυματιώδης πλευρίτιδα  $272 \pm 52$  και άλλες αιτίες  $268 \pm 93$  UCarr έναντι  $126 \pm 34$  UCarr;  $p < 0.0001$  για κάθε ζεύγος) (**Διάγραμμα 1α-1β**). Καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά δε βρέθηκε μεταξύ των τιμών οξειδωτικού stress στις διάφορες κατηγορίες εξιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών ( $p = 0.33$ ). Επιπρόσθετα καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε μεταξύ των επιπέδων του οξειδωτικού stress στις διάφορες κατηγορίες των διιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών ( $p = 0.42$ ).

Διάγνωση	Οξειδωτικό stress ΥΥ
<b>A. ΔΙΙΔΡΩΜΑΤΑ</b>	<b>126±34</b> (69-202)
<b>B. ΕΞΙΔΡΩΜΑΤΑ</b>	<b>274±72</b> (270-529)
<b>I. Φυματίωση</b>	272±52 (199-347)
<b>II. Κακοήθεια πνεύμονος</b>	279±68 (191-441)
<b>III. Άλλες κακοήθειες</b>	266±67 (187-397)
<b>V. Διάφορα</b>	268±93 (160-529)

**Πίνακας 3.** Τιμές οξειδωτικού stress στα εξιδρώματα και τα διιδρώματα(UCarr)



**Διάγραμμα 1-α.** Επίπεδα οξειδωτικού stress στον ορό ασθενών με διδρωματική υπεζωκοτική συλλογή (TRANS,  $n=28$  ○) και εξιδρωματικές υπεζωκοτικές συλλογές [Όλα (EXUD)  $n=62$  ▲, καρκίνος πνεύμονα (LCa)  $n=22$  ▼, άλλες κακοήθειες (OCa)  $n=18$  ◆, φυματίωση (TB)  $n=8$  ●, άλλα(other)  $n=14$  □]. Τα επίπεδα του οξειδωτικού stress εκφράζονται σε μονάδες Carratelli(UCarr). Κάθε σύμβολο αντιπροσωπεύει έναν ασθενή. Οι οριζόντιες γραμμές αντιστοιχούν σε μέσες τιμές. Βλέπετε κείμενο για λεπτομέρειες



**Διάγραμμα 1-β.** Επίπεδα οξειδωτικού stress στο υπεζωκοτικό υγρό ασθενών με διδρωματική και εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή. Οι οριζόντιες γραμμές αντιστοιχούν σε μέσες τιμές. Βλέπετε κείμενο για λεπτομέρειες.

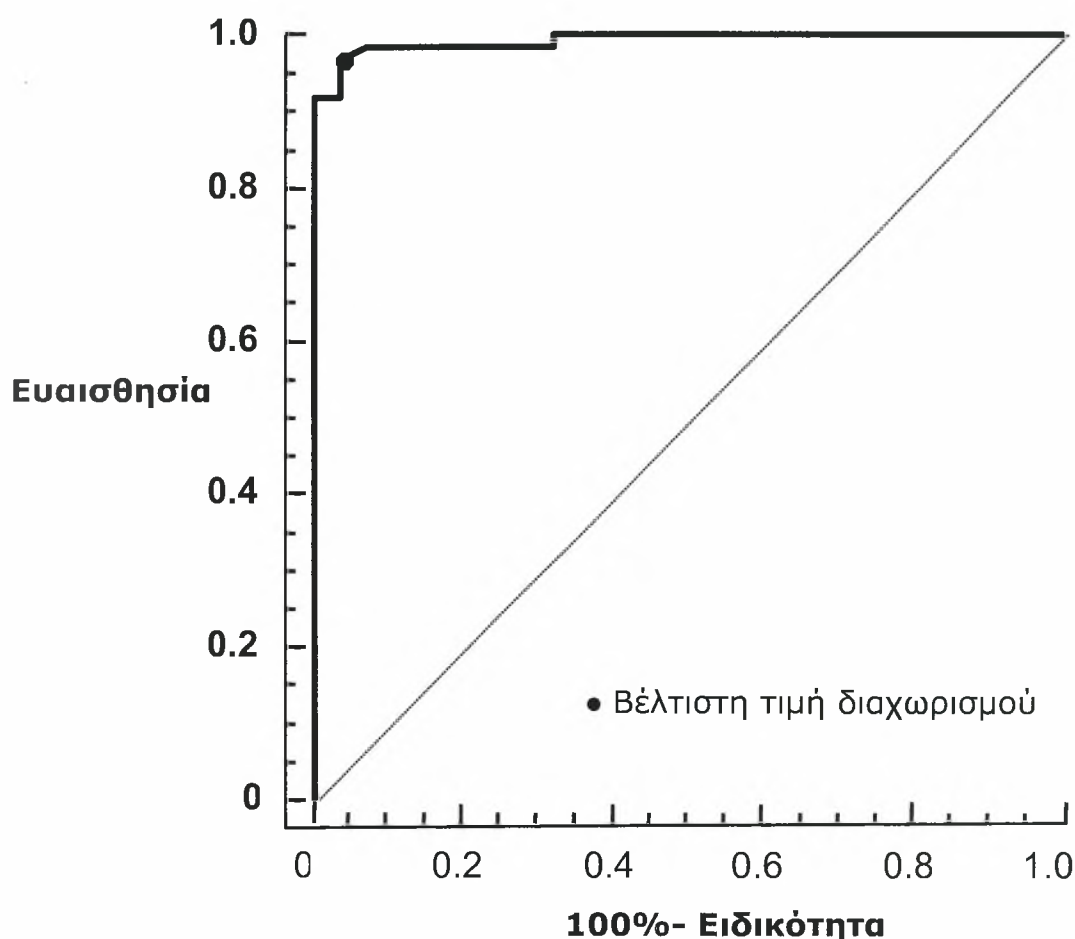


## **Συσχέτιση οξειδωτικού stress υπεζωκοτικού υγρού με τα γενικά χαρακτηριστικά αυτού**

Δεν υπήρξε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ των τιμών του οξειδωτικού stress στο υπεζωκοτικό υγρό ασθενών με εξίδρωμα και των κυττάρων ( $r=0.18$   $p=0.06$ ), της γλυκόζης πλευριτικού ( $r=0.03$   $p=0.70$ ), της γλυκόζης ορού ( $r=0.03$   $p=0.73$ ), των ολικών πρωτεϊνών πλευριτικού ( $r=0.09$   $p=0.34$ ), των ολικών πρωτεϊνών ορού ( $r=0.03$   $p=0.74$ ), της LDH ορού ( $r=0.10$   $p=0.29$ ) και του λόγου της LDH ( $r=0.22$   $p=0.02$ ). Στατιστικώς σημαντική συσχέτιση διαπιστώθηκε μεταξύ των τιμών του οξειδωτικού stress πλευριτικού υγρού ασθενών με εξίδρωμα και του λόγου των πρωτεϊνών ( $r=0.28$   $p=0.005$ ) όπως και της LDH πλευριτικού ( $r=0.33$   $p=0.008$ ).

## **Προσδιορισμός της βέλτιστης τιμής για τη διάκριση εξιδρωμάτων από διιδρώματα**

Η εφαρμογή της ROC ανάλυσης προσέφερε την καμπύλη που παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 2. Η περιοχή κάτω από την καμπύλη με 95% περιθώρια αξιοπιστίας ήταν 0.992 (0.945-0.997) αποδεικνύοντας την υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα της μεθόδου. Η βέλτιστη τιμή για τη διάκριση των εξιδρωμάτων από τα διιδρώματα ήταν η τιμή οξειδωτικού stress με τον καλύτερο συνδυασμό ευαισθησίας και ειδικότητας. Η τιμή αυτή αντιστοιχεί στο σημείο που βρίσκεται στην αριστερή άνω γωνία της ROC καμπύλης και είναι  $>186$  UCarr. Η τιμή 186 UCarr προσφέρει υψηλή ευαισθησία 96.8%, ειδικότητα 96.3%, θετική προγνωστική αξία 98.4%, αρνητική προγνωστική αξία 92.9% και ακρίβεια 96.7% για τον χαρακτηρισμό μιας υπεζωκοτικής συλλογής ως εξίδρωμα.



**Διάγραμμα 2.** Η ROC καμπύλη για τις διάφορες τιμές οξειδωτικού stress στο υπεζωκοτικό υγρό. Η βέλτιστη τιμή για τη διάκριση εξιδρωμάτων από διιδρώματα είναι το σημείο το οποίο παρέχει τον καλύτερο συνδυασμό ευαισθησίας και ειδικότητας. Στην περίπτωση μας το σημείο αυτό αντιστοιχεί σε τιμή >186 UCarr

### **Εφαρμογή της μεθόδου σε διιδρώματα μετά τη χορήγηση διουρητικών**

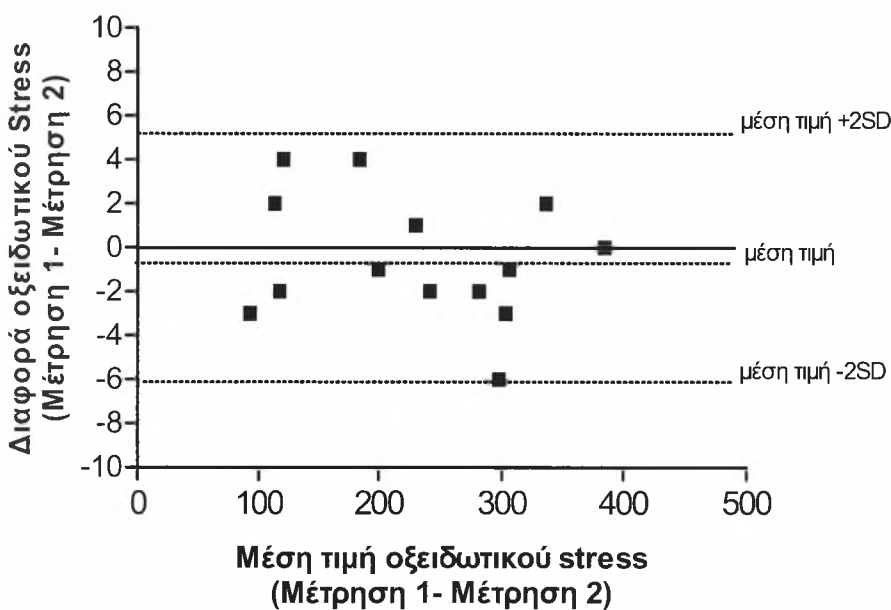
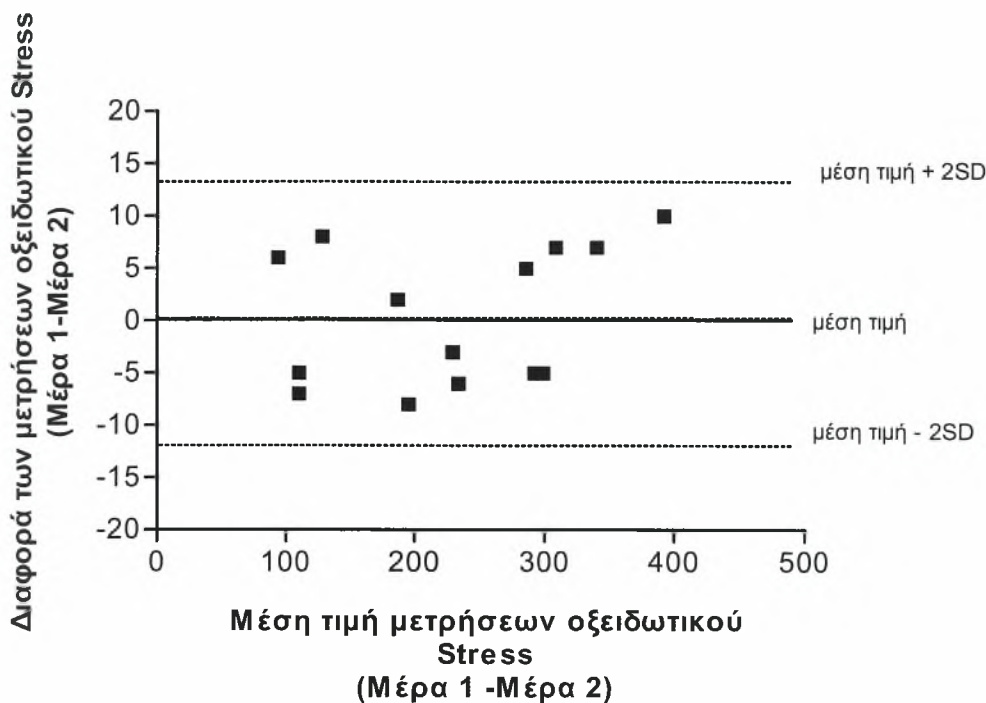
Τέσσερις από τους ασθενείς της μελέτης που έπασχαν από Συμφορητική Καρδιακή Ανεπάρκεια είχαν ήδη λάβει διουρητικά πριν την παρακέντηση οπότε το πλευριτικό υγρό εφαρμόζοντας τα κριτήρια των Light et al είχε χαρακτηρες εξιδρώματος. Στους ασθενείς αυτούς η διαφορά αλβουμίνης ορού-πλευριτικού ήταν μεγαλύτερη από 1,2 υποδεικνύοντας τη διιδρωματική φύση της πλευριτικής συλλογής. Η τιμή οξειδωτικού stress

του πλευριτικού υγρού στους προαναφερθέντες ασθενείς ήταν στα όρια του διιδρώματος ( $126 \pm 34$ , 69-148 UCarr).

### **Επαναληψιμότητα των μετρήσεων του οξειδωτικού stress**

Οι μετρήσεις του οξειδωτικού stress στο υπεζωκοτικό υγρό από δύο διαφορετικές παρακεντήσεις, οι οποίες έγιναν σε δύο διαδοχικές ημέρες προσέφεραν εξαιρετική επαναληψιμότητα. Η τιμή οξειδωτικού stress την πρώτη και δεύτερη ημέρα ήταν  $229 \pm 95$  UCarr και  $228 \pm 93$  UCarr αντίστοιχα. Η συσχέτιση των μετρήσεων του οξειδωτικού stress σε δύο διαδοχικές ημέρες ήταν στατιστικώς σημαντική ( $r=0.99$ ,  $p<0.0001$ ). Η μέση διαφορά με όρια συμφωνίας ήταν  $0.43 \pm 13.09$  (μέση τιμή  $\pm$  2σταθερή απόκλιση) και όλες οι τιμές ήταν μέσα στα όρια συμφωνίας της κλίμακας Bland and Altman (**Διάγραμμα 3α**).

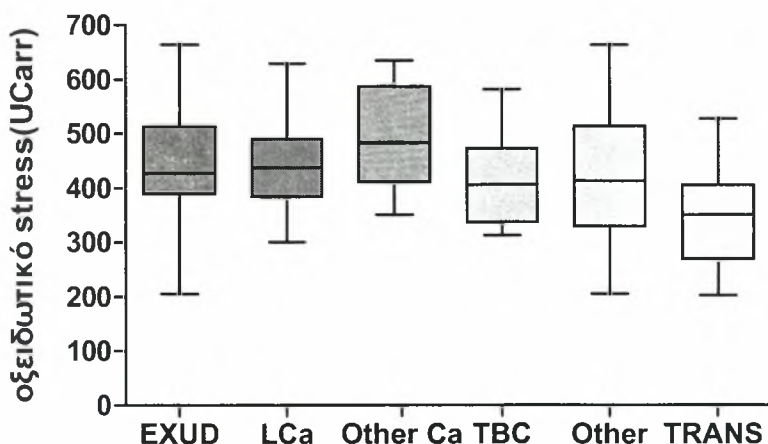
Η περαιτέρω ανάλυση δύο διαδοχικών μετρήσεων στο ίδιο δείγμα υπεζωκοτικού υγρού την πρώτη ημέρα της παρακέντησης προσέφερε επίσης εξαιρετική επαναληψιμότητα. Οι τιμές του οξειδωτικού stress στις δύο μετρήσεις ήταν  $229 \pm 94$  UCarr και  $229 \pm 93$  UCarr αντίστοιχα. Η συσχέτιση των δύο διαδοχικών μετρήσεων του οξειδωτικού stress στο ίδιο δείγμα ήταν στατιστικώς σημαντική ( $r=0.99$ ,  $p<0.0001$ ). Η μέση διαφορά με όρια συμφωνίας ήταν  $-0.50 \pm 5.69$  (μέση τιμή  $\pm$  2σταθερή απόκλιση) και όλες οι τιμές ήταν μέσα στα όρια συμφωνίας της κλίμακας Bland and Altman (**Διάγραμμα 3β**).



**Διάγραμμα 3. (α)** Η επαναληψιμότητα των μετρήσεων του οξειδωτικού stress στο υπεζωκοτικό υγρό σε δύο διαδοχικές ημέρες για 14 ασθενείς παρουσιάζεται στην κλίμακα Bland and Altman (διαφορές έναντι μέσων τιμών). **(β)** Η επαναληψιμότητα δύο διαδοχικών μετρήσεων στο ίδιο δείγμα την ίδια ημέρα(1<sup>η</sup> ημέρα) σε 14 ασθενείς παρουσιάζεται στην κλίμακα Bland and Altman. Οι τιμές οξειδωτικού stress εκφράζονται σε μονάδες Carratelli (UCarr). Οι διακεκομμένες γραμμές παρουσιάζουν την μέση τιμή και τα όρια συμφωνίας( $\pm$  2σταθερά απόκλιση).

## Τιμές οξειδωτικού stress στον ορό

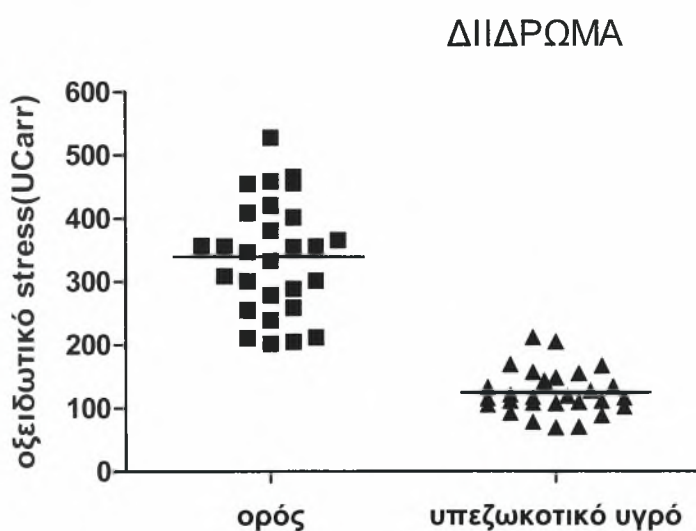
Όσον αφορά στις τιμές οξειδωτικού stress στον ορό δεν διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ εξιδρωμάτων και διιδρωμάτων ( $449 \pm 999$  έναντι  $339 \pm 89$  UCarr;  $p=0.27$ ) (**Πίνακας 4, Διάγραμμα 4-α**). Ομοίως δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των διαφόρων κατηγοριών των εξιδρωμάτων και των διιδρωμάτων (καρκίνος πνεύμονα  $445 \pm 83$  UCarr;  $p=0.45$ , άλλες κακοήθειες  $487 \pm 194$  UCarr;  $p=0.7$ , φυματιώδης πλευρίτιδα  $415 \pm 96$  UCarr;  $p=0.9$  και άλλες αιτίες  $425 \pm 122$  UCarr;  $p=0.9$  έναντι  $339 \pm 89$  UCarr). Δεν υπήρξε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των εξιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών ( $p=0.31$ ).



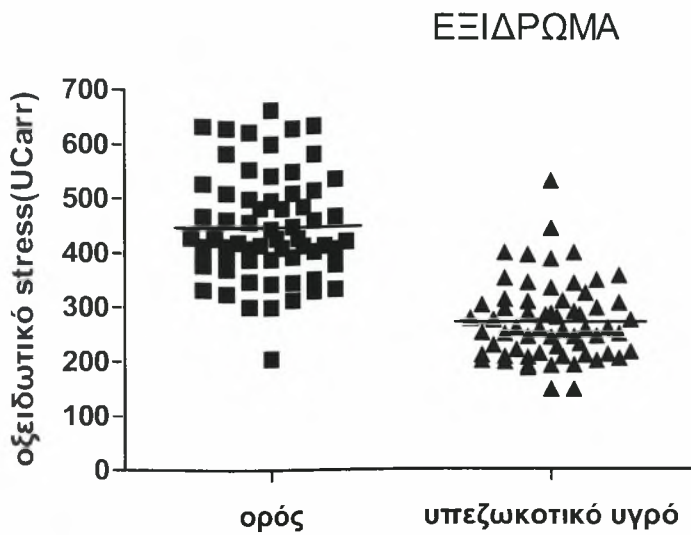
**Διάγραμμα 4-α.** Επίπεδα οξειδωτικού stress στον ορό ασθενών με διιδρωματική (TRANS) και εξιδρωματική (EXUD) υπεζωκοτική συλλογή. Οι οριζόντιες γραμμές αντιστοιχούν σε μέσες τιμές. Βλέπετε κείμενο για λεπτομέρειες.

## Συσχέτιση τιμών οξειδωτικού stress υπεζωκοτικού υγρού και ορού

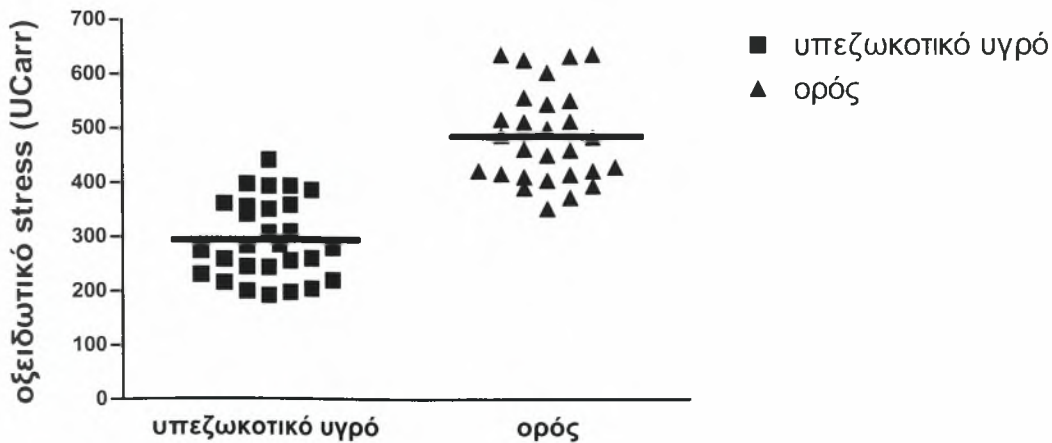
Συγκρίνοντας τις τιμές οξειδωτικού stress στο πλευριτικό υγρό και στον ορό ασθενών με διιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση  $p < 0,001$ . Δεν διαπιστώθηκε ωστόσο στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ των τιμών του οξειδωτικού stress υπεζωκοτικού υγρού και ορού στις εξιδρωματικές υπεζωκοτικές συλλογές αλλά και ξεχωριστά στις διάφορες κατηγορίες των εξιδρωμάτων (καρκίνος πνεύμονα  $484 \pm 85$ ;  $p = 0.05$ , άλλες κακοήθειες  $421 \pm 110$  UCarr;  $p = 0.05$ , φυματιώδης πλευρίτιδα  $414 \pm 87$  UCarr;  $p = 0.4$ , παραπνευμονικές συλλογές  $450 \pm 87$  UCarr;  $p = 0.4$  και άλλες αιτίες  $482 \pm 65$  UCarr;  $p = 0.14$  έναντι  $356 \pm 84$  UCarr).



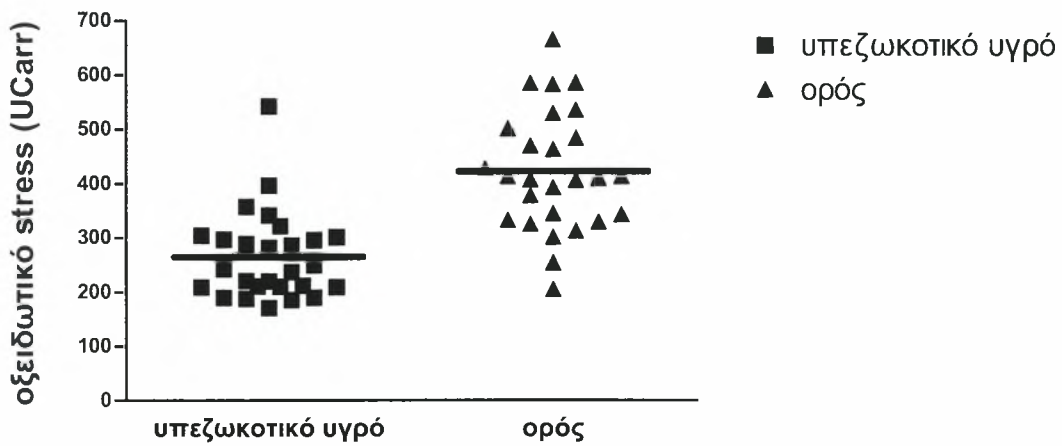
**Διάγραμμα 5.** Οξειδωτικό stress υπεζωκοτικού υγρού και ορού στα διιδρώματα



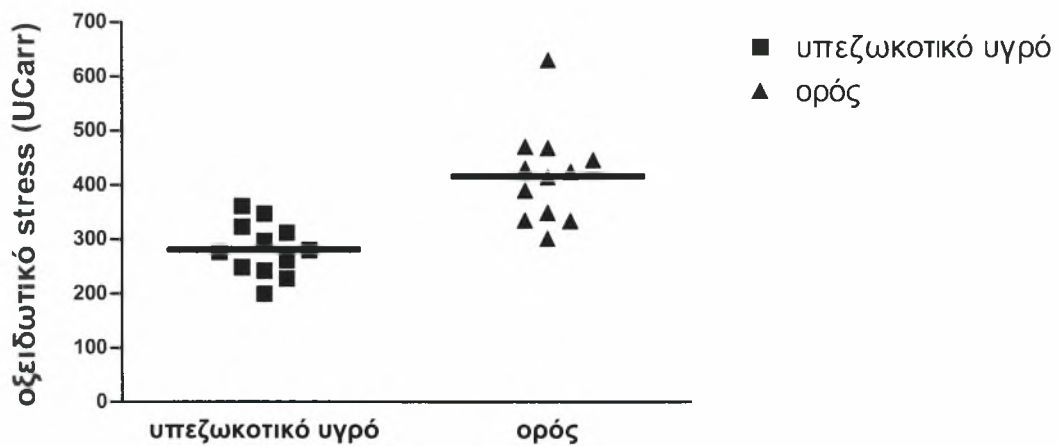
**Διάγραμμα 6.** Οξειδωτικό stress υπεζωκοτικού υγρού και ορού στα εξιδρώματα



**Διάγραμμα 7.** Οξειδωτικό stress υπεζωκοτικού υγρού και ορού στις κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές τις οφειλόμενες σε καρκίνο του πνεύμονα

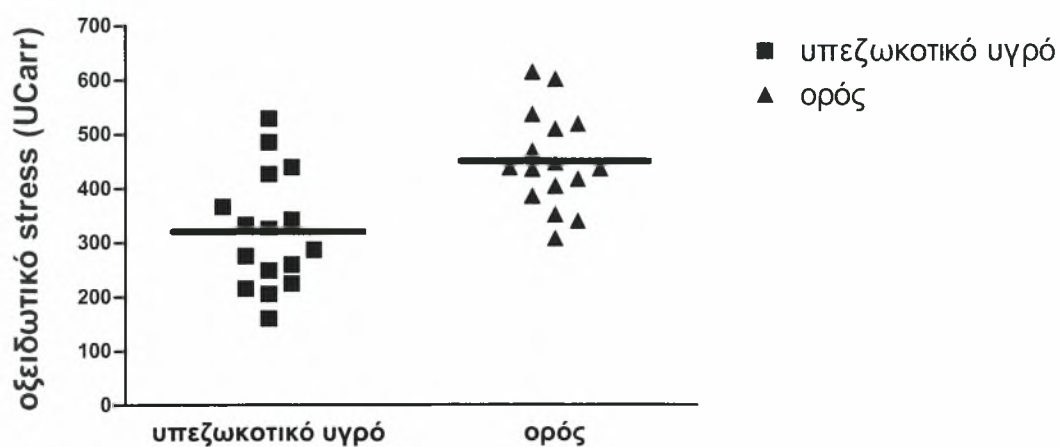


**Διάγραμμα 8.** Οξειδωτικό stress υπεζωκοτικού υγρού και ορού στις κακοήθειες υπεζωκοτικές συλλογές άλλες πλην των πνευμόνων.

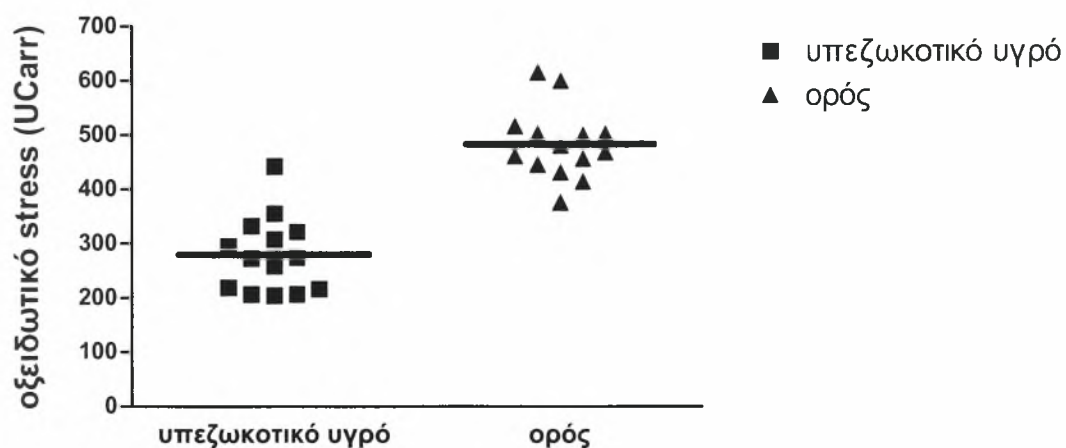


**Διάγραμμα 9.** Οξειδωτικό stress υπεζωκοτικού υγρού και ορού στις φυματιώδεις υπεζωκοτικές συλλογές





**Διάγραμμα 10.** Οξειδωτικό stress υπεζωκοτικού υγρού και ορού στις παραπνευμονικές συλλογές



**Διάγραμμα 11.** Οξειδωτικό stress υπεζωκοτικού υγρού και ορού στις λοιπές υπεζωκοτικές συλλογές.

## 9. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στη μελέτη που αποτέλεσε το αντικείμενο της παρούσας διατριβής αξιολογήθηκε το οξειδωτικό stress ως νέος βιολογικός δείκτης για τη διαφορική διάγνωση των υπεζωκοτικών συλλογών. Δείξαμε ότι οι εξιδρωματικές υπεζωκοτικές συλλογές έχουν στατιστικά σημαντικά υψηλότερες τιμές οξειδωτικού stress σε σχέση με τις διιδρωματικές. Καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε μεταξύ των τιμών του οξειδωτικού stress μεταξύ των διαφόρων κατηγοριών των εξιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών. Καμία επίσης στατιστικώς σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε στις μετρήσεις του οξειδωτικού stress στο ορό των ασθενών με διίδρωμα και εξίδρωμα. Οι τιμές του οξειδωτικού stress στο υπεζωκοτικό υγρό ήταν υψηλότερες στα εξιδρώματα σε σχέση με εκείνες των διιδρωμάτων ( $274 \pm 72$  UCarr έναντι  $126 \pm 34$  UCarr;  $p < 0.0001$ ). Η τιμή  $186$  UCarr προσφέρει υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα για τον χαρακτηρισμό μιας υπεζωκοτικής συλλογής ως εξίδρωμα.

Η υπεζωκοτική συλλογή αποτελεί συχνό διαγνωστικό πρόβλημα για τον κλινικό ιατρό γιατί το εύρος της διαφορικής διάγνωσης είναι μεγάλο και αφορά σε παθήσεις του υπεζωκότα, του πνεύμονα αλλά και εξωπνευμονικές. Το πρώτο βήμα είναι η διαφορική διάγνωση του εξιδρώματος από τα διίδρωμα, το οποίο είναι απαραίτητο για τη διαγνωστική προσέγγιση του ασθενούς. Από το 1972 έχουν προταθεί τα κριτήρια του Light: πρωτεΐνες πλευριτικού/πρωτεΐνες ορού  $> 0.5$ , LDH πλευριτικού/LDH ορού  $> 0.6$  και η απόλυτη τιμή της LDH μεγαλύτερη από τα  $2/3$  του ανώτερου φυσιολογικού ορίου της LDH ορού, τα οποία έχουν αναφερθεί ως η καλύτερη μέθοδος διαφορικής διάγνωσης εξιδρώματος από διίδρωμα. Εκτός από τα κριτήρια του Light, διάφορες μελέτες έχουν αναφερθεί στη διαγνωστική αξία και άλλων βιοχημικών δεικτών όπως η χοληστερόλη υπεζωκοτικού υγρού/χοληστερόλη ορού, η χολερυθρίνη

υπεζωκοτικού υγρού/χολερυθρίνη ορού, η διαφορά της αλβουμίνης υπεζωκοτικού υγρού από την αλβουμίνη ορού. Οι παραπάνω δείκτες δεν διαφέρουν μεταξύ τους στη διαγνωστική ακρίβεια και δεν υπερτερούν των κριτηρίων του Light.

Σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη η οποία ασχολείται με τη μέτρηση οξειδωτικού stress στο υπεζωκοτικό υγρό ανθρώπων. Οι υψηλές τιμές οξειδωτικού stress στα εξιδρώματα φαίνεται πως αντιπροσωπεύουν την αυξημένη τοπική παραγωγή ελευθέρων ριζών. Το αίτιο της τοπικής παραγωγής οξειδωτικού stress πρέπει αποδοθεί στη φύση της κάθε νόσου που προκαλεί εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή αλλά και στον τρόπο παραγωγής του υπεζωκοτικού υγρού. Ωστόσο η τοπική παραγωγή ελευθέρων ριζών δεν έχει μελετηθεί εκτενώς. Υπάρχουν αποδείξεις *in vitro* σε ζώα ότι οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και οι ελεύθερες ρίζες αζώτου έχουν σχέση με υπεζωκοτικές συλλογές οφειλόμενες στον άσβεστο<sup>238</sup>. Οι οξειδωτικές ουσίες, επίσης, έχει αποδειχθεί ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στην καρκινογένεση τόσο για τον καρκίνο του πνεύμονα όσο και για άλλες κακοήθειες<sup>239</sup>. Όπως περιγράφηκε και παραπάνω οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου (ROS) παράγονται κυρίως στα μιτοχόνδρια και διεισδύουν στο κυτταρόπλασμα όπου προκαλούν οξειδωτική βλάβη στις πρωτεΐνες, τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα και το DNA. Οι οξειδωτικές βλάβες στο DNA μπορεί να προάγουν τις μεταλλάξεις και την καρκινογένεση. Η φυματίωση σχετίζεται επίσης με αυξημένες τιμές ορισμένων δεικτών οξειδωτικού stress όπως η μαλονδουαλδεϋδη (MDA) και χαμηλές τιμές αντιοξειδωτικών παραγόντων όπως η υπεροξειδική δισμουτάση (SOD)<sup>240</sup>.

Η φλεγμονώδης-οξειδωτική βλάβη στον πνεύμονα περιλαμβάνει μια μεγάλη σειρά κυτταρικών απαντήσεων. Έτσι η λοίμωξη προάγει την έκφραση κυτταροκινών όπως ο TNF-α (tumor necrosis factor-α), ο οποίος ενεργοποιεί τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα επιθηλιακά κύτταρα και τα μακροφάγα και προάγει την κινητοποίηση των ουδετεροφίλων,

επιθηλιακών και άλλων κυττάρων ανοσιακής απάντησης. Η ενεργοποίηση και η εμφάνιση των παραπάνω μορίων προάγουν την επαγωγή των ουδετεροφίλων και την τοπική φλεγμονώδη βλάβη. Όσον αφορά στον υπεζωκότα τα μεσοθηλιακά κύτταρα είναι υπεύθυνα για την απελευθέρωση ελευθέρων ριζών στις περιπτώσεις που ο υπεζωκότας φλεγμαίνει. Όλες οι παραπάνω παθήσεις οι οποίες και επινέμονται την υπεζωκοτική κοιλότητα συμβάλλουν στην παραγωγή οξειδωτικών ουσιών εντός αυτής. Σε αντίθεση, οι διιδρωματικές υπεζωκοτικές συλλογές παράγονται λόγω της ανισορροπίας υδροστατικής και κολλοειδωσμοτικής πίεσης κάτι που δεν οδηγεί στην παραγωγή ελευθέρων ριζών. Αυτή ίσως να αποτελεί μια πιθανή εξήγηση για τις αυξημένες τιμές οξειδωτικού stress στα εξιδρώματα σε σχέση με τα διιδρώματα.

Στη συγκεκριμένη μελέτη εκτιμήσαμε έμμεσα το συνολικό οξειδωτικό stress μετρώντας τα ολικά υδροϋπεροξειδία στο πλευριτικό υγρό με μία εμπορικά διαθέσιμη μέθοδο με το όνομα d-ROMs test<sup>230-241</sup>. Η μέθοδος αν και έχει χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν για μέτρηση οξειδωτικού stress στο αίμα δεν είχε εφαρμοστεί στο υπεζωκοτικό υγρό. Χρησιμοποιώντας υπεζωκοτικό υγρό, ως δείγμα, η μέθοδος είχε ικανοποιητική σταθερότητα και αποδεκτά περιθώρια λάθους. Σε όλες τις πλευριτικές συλλογές ανιχνεύθηκαν υδροϋπεροξειδία και η συγκέντρωσή τους ήταν υψηλότερη στα εξιδρώματα σε σχέση με τα διιδρώματα. Επιπρόσθετα οι τιμές του ολικού οξειδωτικού stress είχαν εξαιρετική επαναληψιμότητα σε μετρήσεις οι οποίες έγιναν τόσο στο ίδιο δείγμα όσο και σε δείγματα λαμβανόμενα σε δύο διαδοχικές ημέρες κάτι που σημαίνει πως τα αποτελέσματα των μετρήσεων μπορούν ασφαλώς να επαναληφθούν στον κάθε ασθενή. Ένα σημαντικό μειονέκτημα της μεθόδου ήταν ότι δεν κατόρθωσε να αποδειχθεί καλός δείκτης για την διαφορική διάγνωση των εξιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών μεταξύ τους, τη στιγμή που μεταξύ των τιμών του οξειδωτικού stress των διαφόρων κατηγοριών δεν υπήρχε στατιστικώς σημαντική διαφορά. Μια πιθανή εξήγηση για το παραπάνω μπορεί να είναι το γεγονός ότι η μέθοδος υπολογίζει το ολικό οξειδωτικό stress μη

μπορώντας να διακρίνει διαφορές μεταξύ των διαφόρων παθήσεων. Περισσότερες μελέτες για την εκτίμηση ειδικότερων δεικτών οξειδωτικού stress μπορεί να προσφέρουν προς αυτή την κατεύθυνση.

Η διάκριση των εξιδρωμάτων από τα διιδρώματα βασίστηκε τόσο στην κλινική εκτίμηση όσο και στα κριτήρια του Light. Στην περίπτωση διαγνωστικής αβεβαιότητας ο ασθενής εξαιρούνταν από την μελέτη. Για τις διαγνωσμένες υπεζωκοτικές συλλογές οι οποίες συμπεριληφθήκαν στην μελέτη το οξειδωτικό stress αποδείχθηκε ένας πολύ καλός δείκτης για τη διάκριση εξιδρωμάτων από διιδρώματα. Η μέθοδος προσέφερε υψηλή ευαισθησία 96.8%, ειδικότητα 96.3%, θετική προγνωστική αξία 98.4%, αρνητική προγνωστική αξία 92.9% και ακρίβεια 96.7% για τον χαρακτηρισμό μιας υπεζωκοτικής συλλογής ως εξίδρωμα όταν η τιμή αυτού είναι  $>186$  UCarr (σύμφωνα με τη ROC ανάλυση). Ο παραπάνω συνδυασμός ευαισθησίας, ειδικότητας και ακρίβειας είναι ανώτερος από εκείνον των κριτηρίων του Light (ευαισθησία 98% και ειδικότητα 83%), σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, και συγκρίνεται με τους αντίστοιχους άλλων κριτηρίων για τη διάκριση εξιδρωμάτων από διιδρώματα<sup>242</sup>. Είναι γνωστό βέβαια πως ο πιο αξιόπιστος τρόπος σύγκρισης διαφόρων διαγνωστικών παραμέτρων είναι με την εφαρμογή της ROC ανάλυσης. Σε μία μελέτη των Burgess και συνεργατών εκτιμήθηκαν διάφοροι βιοχημικοί δείκτες διάκρισης εξιδρωμάτων από διιδρώματα όπως τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης του υπεζωκοτικού υγρού, ο λόγος χοληστερόλης υπεζωκοτικού υγρού/χοληστερόλη ορού, ο λόγος χολερυθρίνης υπεζωκοτικού υγρού/χολερυθρίνη ορού και η διαφορά αλβουμίνης υπεζωκοτικού υγρού από ορού<sup>243</sup>. Σύμφωνα με τη συγκεκριμένη μελέτη η ολική χοληστερόλη αποτελεί μια πτωχή μέθοδο διάκρισης εξιδρωμάτων από διιδρώματα τη στιγμή που τιμή  $1.55\text{mmol/L}$  προσφέρουν ευαισθησία και ειδικότητα 72% και 85% αντίστοιχα. Εκτιμήθηκε επίσης η μελέτη των Hamm και συνεργατών οι οποίοι προσδιόρισαν πως ο λόγος χοληστερόλης υπεζωκοτικού υγρού/χοληστερόλη ορού  $>0.3$  προσφέρει ευαισθησία και ειδικότητα 89% και 81% αντίστοιχα<sup>244</sup>. Όσον αφορά στον τρίτο κατά σειρά

δείκτη δηλαδή το λόγο χολερυθρίνης υπεζωκοτικού υγρού/χολερυθρίνη ορού, σύμφωνα με μία μελέτη του Meisel και συνεργατών, προσέφερε ένα συνδυασμό ευαισθησίας και ειδικότητας 96% και 83% αντίστοιχα<sup>245</sup>. Η διαφορά αλβουμίνης υπεζωκοτικού υγρού από ορού >1.2 είναι ενδεικτική διιδρωματικής υπεζωκοτικής συλλογής σύμφωνα με μελέτη του Roth και συνεργατών προσφέροντας ευαισθησία και ειδικότητα 95% και 100%<sup>246</sup>. Ωστόσο η μελέτη του Burgess τοποθετεί το ποσοστό ευαισθησίας και ειδικότητας στο 87% και 92% αντίστοιχα ξεχωρίζοντας τις διιδρωματικές υπεζωκοτικές συλλογές υπό διουρητική αγωγή, οι οποίες εκτιμήθηκαν λανθασμένα ως εξιδρωματικές. Τέλος, ένας άλλος δείκτης ο οποίος μπορεί να προσφέρει στη διάγνωση της διιδρωματικής υπεζωκοτικής συλλογής της οφειλόμενης σε καρδιακή ανεπάρκεια είναι η μέτρηση του νατριουρητικού πεπτιδίου (pro-BNP) και του NT-pro-BNP στον ορό. Τιμές <100pg/dl αποκλείουν την καρδιακή ανεπάρκεια ενώ τιμές >500pg/dl την επιβεβαιώνουν<sup>247</sup>.

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε είχε εξαιρετική επαναληψιμότητα τόσο για τις μετρήσεις δύο διαδοχικών παρακεντήσεων όσο και για τις μετρήσεις στο ίδιο δείγμα την ίδια ημέρα της παρακέντησης. Το οξειδωτικό stress, μετρούμενο με τη συγκεκριμένη μέθοδο, μπορεί να αποτελέσει έναν αξιόπιστο δείκτη για τη διάκριση εξιδρωμάτων από διιδρώματα. Η επαναληψιμότητα της συγκεκριμένης μεθόδου είναι ανάλογη με άλλους αξιόπιστους μετρούμενους δείκτες όπως το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> και το 8-ισοπροστανίνο, η μαλονδυσυαλδεύδη, το NO<sup>248,249,250</sup>.

Με την εφαρμογή των κριτηρίων του Light, το 15 με 30% των διιδρωμάτων εκτιμώνται ως εξιδρώματα και μάλιστα στην περίπτωση ασθενών που λαμβάνουν διουρητική αγωγή. Στην παρούσα μελέτη, σε τέσσερις ασθενείς με διιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή, οι οποίοι ελάμβαναν χρονίως διουρητικά λόγω συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας (4/28 ή 14%) εφαρμόσαμε εναλλακτικά κριτήρια όπως η διαφορά αλβουμίνης. Η διαφορά αλβουμίνης διόρθωσε τον λανθασμένο

χαρακτηρισμό των παραπάνω υπεζωκοτικών συλλογών ως εξιδρώματα και επιβεβαίωσε τη διιδρωματική τους φύση. Επιπρόσθετα οι παραπάνω ασθενείς ανταποκρίθηκαν στη διουρητική αγωγή. Αξιοσημείωτο είναι πως οι τιμές οξειδωτικού stress ήταν στα "όρια των διιδρωμάτων". Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν πως το οξειδωτικό stress μπορεί να είναι ικανό να αποτελέσει έναν εναλλακτικό δείκτη ασφαλούς διάκρισης εξιδρωμάτων από διιδρώματα ακόμη και σε περιπτώσεις όπως η προηγούμενη. Ωστόσο το μικρό δείγμα των τεσσάρων ασθενών δεν αποτελεί ισχυρή απόδειξη για το παραπάνω συμπέρασμα γι' αυτό περαιτέρω μελέτη προς αυτή την κατεύθυνση είναι απαραίτητη.

Όσον αφορά στις τιμές του οξειδωτικού stress ορό, τόσο στις εξιδρωματικές όσο και στις διιδρωματικές υπεζωκοτικές συλλογές, φαίνεται ότι αντικατοπτρίζει το ολικό οξειδωτικό stress, το οποίο στις πρώτες αναμένεται να είναι αυξημένο σύμφωνα με τη βιβλιογραφία ενώ στις δεύτερες μπορεί να οφείλεται είτε σε εξωγενείς παράγοντες είτε σε αίτια όπως η ισχαιμία του μυοκαρδίου ως προεξάρχον αίτιο καρδιακής ανεπάρκειας. Όσον αφορά στην πρώτη κατηγορία σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα παρατηρήθηκαν αυξημένες τιμές οξειδωτικού stress στον ορό μετρούμενο με τη μέθοδο d-ROMs σε μία μελέτη των Κατσαμπέκη και συνεργατών<sup>251</sup>. Στη μελέτη αυτή διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση των επιπέδων του οξειδωτικού stress και των επιπέδων του VEGF. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία τα καρκινικά κύτταρα παράγουν οξειδωτικές ουσίες όπως το  $H_2O_2$ , το οποίο και αποτελεί έναν από τους μεσολαβητές της αγγειογένεσης στα καρκινικά κύτταρα. Το NO επίσης βρέθηκε να προάγει την πολλαπλασιασμό και την μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων *in vitro*. Οι Nowak και συνεργάτες μελέτησαν τα επίπεδα του οξειδωτικού stress σε ασθενείς με πνευμονία και διαπίστωσαν αυξημένες τιμές προϊόντων λιπιδικής υπεροξειδωσης και μαλονδουαλδεΐδης(MDA) στον ορό σε σχέση με εκείνες σε υγιείς μάρτυρες<sup>252</sup>. Αυξημένες επίσης τιμές θειοβαρβιτουρικού οξέος(TBARs) διαπιστώθηκαν στον ορό ασθενών με πνευμονία οφειλόμενη στον

αναπνευστήρα σε μία μελέτη των Duflo και συνεργατών<sup>253</sup>. Όσον αφορά στη φυματίωση σε μία μελέτη 19 ατόμων με ενεργό φυματίωση της Kwiatkowska διαπιστώθηκαν αυξημένες τιμές θειοβαρβιτουρικού οξέος στον ορό και H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> στον εκπνεόμενο αέρα σε σχέση με τις αντίστοιχες υγιών ατόμων<sup>254-255</sup>. Βιβλιογραφικά δεδομένα αυξημένου συστηματικού οξειδωτικού stress υπάρχουν και για ασθενείς με επιβεβαιωμένη εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση σε σχέση με υγιείς μάρτυρες<sup>256</sup>. Στην εν λόγω μελέτη συγκρίθηκαν τα επίπεδα της μαλονδϋαλδεύδης και μυελοϋπεροξειδάσης(MPO), τα οποία βρέθηκαν σημαντικά υψηλότερα στην πρώτη κατηγορία. Όσον αφορά βέβαια στις διιδρωματικές υπεζωκοτικές συλλογές έχει διαπιστωθεί πως το κυριότερο αίτιο αποτελεί η καρδιακή ανεπάρκεια, η οποία κατ'επέκταση οφείλεται συνήθως σε ισχαιμία μυοκαρδίου. Σε μία μελέτη του Kralev εκτιμήθηκαν τα επίπεδα ενός προϊόντος γλυκοξειδωτικής βλάβης (της N-καρβοξυμεθυλυσίνης) στον ορό 40 ασθενών με ισχαιμία μυοκαρδίου συγκριτικά με 40 ασθενείς με αγγειακή νόσο και διαπιστώθηκαν υψηλές τιμές του μετρούμενου οξειδωτικού προϊόντος στην πρώτη κατηγορία. Σε μία επίσης πρόσφατη μελέτη διερευνήθηκε ο ρόλος των ενεργών μεταβολιτών οξυγόνου και αζώτου στη χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια, όπως επίσης υψηλότερα επίπεδα οξειδωτικού stress στον ορό έχουν συσχετιστεί με τη βαρύτητα της καρδιακής ανεπάρκειας και με χειρότερη πρόγνωση<sup>257-258-259</sup>. Έτσι δικαιολογείται λοιπόν γιατί και στην παρούσα μελέτη δεν διαπιστώθηκε διαφορά στις τιμές οξειδωτικού stress στον ορό των ασθενών με εξιδρωματικές και διιδρωματικές υπεζωκοτικές συλλογές των προαναφερθέντων αιτίων.



## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στη συγκεκριμένη μελέτη αποδείξαμε ότι το οξειδωτικό stress αποτελεί έναν αξιόπιστο δείκτη για τη διαφορική διάγνωση των εξιδρωματικών από τις διιδρωματικές υπεζωκοτικές συλλογές.

Τα συμπεράσματα της παρούσας εργασίας ήταν αναλυτικά τα εξής:

1. Οι τιμές του οξειδωτικού stress ήταν υψηλότερες στις εξιδρωματικές από τις διιδρωματικές υπεζωκοτικές συλλογές κάτι που πιθανόν να οφείλεται στην αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών στην πρώτη ομάδα.

2. Η μέθοδος προσφέρει υψηλή ευαισθησία, ειδικότητα και ακρίβεια για τον χαρακτηρισμό μιας υπεζωκοτικής συλλογής ως εξίδρωμα όταν η τιμή του οξειδωτικού stress είναι μεγαλύτερη από 186.

3. Καμία στατιστικώς σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε μεταξύ των τιμών του οξειδωτικού stress στις διάφορες κατηγορίες των εξιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών μεταξύ τους.

4. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε είχε εξαιρετική επαναληψιμότητα τόσο για τις μετρήσεις δύο διαδοχικών παρακεντήσεων όσο και για τις μετρήσεις στο ίδιο δείγμα την ίδια ημέρα της παρακέντησης.

5. Το οξειδωτικό stress, μετρούμενο με τη συγκεκριμένη μέθοδο, μπορεί να αποτελέσει έναν αξιόπιστο δείκτη για τη διάκριση εξιδρωμάτων από διιδρώματα.

6. Η μέθοδος μέτρησης οξειδωτικού stress είναι γρήγορη και αξιόπιστη και εύκολη στην κλινική πράξη.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

**Εισαγωγή:** Το οξειδωτικό stress έχει συσχετιστεί με την παθοφυσιολογία διαφόρων παθήσεων των πνευμόνων, τόσο των αεραγωγών όσο και του πνευμονικού παρεγχύματος.

**Σκοπός:** Μελετήσαμε την υπόθεση του αυξημένου οξειδωτικού stress στο υπεζωκοτικό υγρό στις εξιδρωματικές σε σχέση με τις διιδρωματικές υπεζωκοτικές συλλογές αντικατροπίζοντας την αυξημένη τοπική παραγωγή οξειδωτικών παραγόντων στα εξιδρώματα.

**Υλικό και μέθοδος:** Μελετήθηκαν 90 ασθενείς (άνδρες και γυναίκες) που νοσηλεύτηκαν στην Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας με διαγνωσμένες υπεζωκοτικές συλλογές (62 εξιδρωματικές και 28 διιδρωματικές). Από τις εξιδρωματικές υπεζωκοτικές συλλογές 40 ήταν κακοήθεις, εκ των οποίων 22 οφείλονταν σε καρκίνο πνεύμονα, 18 σε κακοήθεια άλλη πλην των πνευμόνων, 8 ήταν φυματιώδεις ενώ οι υπόλοιπες 14 οφείλονταν σε άλλα αίτια. Οι ασθενείς παρακεντήθηκαν και μετρήθηκαν ολικές πρωτεΐνες, λευκωματίνη, γαλακτική δεϋδρογενάση και γλυκόζη στο υπεζωκοτικό υγρό και στον ορό. Η μέτρηση του οξειδωτικού stress στο υπεζωκοτικό υγρό και τον ορό έγινε με μια εμπορικά διαθέσιμη μέθοδο (d-ROMs test, Diacron, Grosseto, Italy). Η επαναληψιμότητα των μετρήσεων του οξειδωτικού stress με τη βοήθεια του d-ROMs test ελέγχθηκε σε δύο δείγματα υπεζωκοτικού υγρού από δύο παρακεντήσεις σε δύο διαδοχικές ημέρες σε 14 ασθενείς. Για την εκτίμηση του οξειδωτικού stress ως δείκτη διάκρισης μεταξύ διιδρωμάτων από εξιδρώματα χρησιμοποιήσαμε τη ROC (receiver operator characteristics) ανάλυση εκτιμώντας την ευαισθησία και την ειδικότητα όπως και την περιοχή κάτω από την καμπύλη με 95% περιθώρια αξιοπιστίας.

**Αποτελέσματα:** Το οξειδωτικό stress ήταν υψηλότερο στα εξιδρώματα απ' ό τι στα διιδρώματα ( $274 \pm 72$  UCarr έναντι  $126 \pm 34$  UCarr;  $p < 0.0001$ ). Όμοιες διαφορές παρατηρήθηκαν μεταξύ των διαφόρων κατηγοριών των εξιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών και των διιδρωμάτων (καρκίνος πνεύμονα  $279 \pm 68$  UCarr, άλλες κακοήθειες  $266 \pm 67$ , φυματιώδης πλευρίτιδα  $272 \pm 52$  και άλλες αιτίες  $268 \pm 93$  UCarr έναντι  $126 \pm 34$  UCarr;  $p < 0.0001$  για κάθε ζεύγος). Η περιοχή κάτω από την καμπύλη 95% περιθώρια αξιοπιστίας ήταν 0.992 (0.945-0.997) και η μέθοδος προσέφερε ευαισθησία (96.8%), ειδικότητα (96.3%) και ακρίβεια (96.7%) για την τιμή οξειδωτικού stress 186 UCarr. Μετρήσεις οξειδωτικού stress στο ίδιο δείγμα όσο και σε δύο διαδοχικά δείγματα προσέφεραν εξαιρετική επαναληψιμότητα.

**Συμπεράσματα:** Το συμπέρασμα της παρούσας μελέτης είναι ότι οι τιμές του οξειδωτικού stress είναι υψηλότερες στα εξιδρώματα απ' ό τι στα διιδρώματα κάτι που πιθανόν να οφείλεται στην αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών στην πρώτη ομάδα. Το ολικό οξειδωτικό stress επίσης, μετρούμενο με μία εμπορικά διαθέσιμη μέθοδο, η οποία είχε πολύ καλή επαναληψιμότητα στα δείγματα που εφαρμόστηκε μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην καθημερινή κλινική πράξη ως δείκτης διάκρισης εξιδρωμάτων από διιδρώματα. Στα πλεονεκτήματα της μεθόδου πρέπει να προστεθεί το χαμηλό κόστος, η ευκολία της μέτρησης και η άμεση δυνατότητα για λήψη των αποτελεσμάτων.

## ABSTRACT

**Introduction:** Oxidative stress has been associated with various respiratory disorders.

**Purpose:** We tested the hypothesis that exudates would present higher levels of oxidative stress compared to transudates, expressing the increased local oxidative burst in the former.

**Material and Method:** We studied 90 consecutive patients with a final diagnosis of their pleural effusion were admitted in the Respiratory Department of the University Hospital of Larissa (62 exudates and 28 transudates). The exudative pleural effusions were classified as malignant ( $n=40$ ), tuberculosis ( $n=8$ ), due to other aetiologies ( $n=14$ ). Subjects were submitted to diagnostic thoracentesis and standard biochemical parameters (total protein, albumin, lactate dehydrogenase and glucose) were measured in pleural fluid and serum. Oxidative stress levels were assessed with a commercially available method (d-ROMs test; Diacron, Grosseto, Italy), that uses conventional units (UCarr). In 14 patients with different diseases a second thoracentesis was performed on the following day for the assessment of repeatability of measurements with this method. The sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and accuracy for the characterization of exudates in different cut-off levels of oxidative stress were additionally calculated.

**Results:** Oxidative stress levels were higher in exudates compared to transudates ( $274\pm 72$  UCarr vs.  $126\pm 34$  UCarr;  $p<0.0001$ ). Similar differences were noticed for each of the subgroups of the exudative

pleural effusions compared to transudates (lung cancer  $279\pm 68$  UCarr, other malignancies  $266\pm 67$ , TBC pleuritis  $272\pm 52$ , and other causes  $268\pm 93$  UCarr, vs.  $126\pm 34$  UCarr;  $p < 0.0001$  for each pair) (figure 1). No significant differences were found between the levels of oxidative stress in the subgroups of exudative pleural effusions ( $p = 0.33$ ). The method provided high sensitivity (96.8%), specificity (96.3%) and accuracy (95.6%) for the characterization of an effusion as an exudate, when a cut-off level of oxidative stress of 186 UCarr was used. The measurements of oxidative stress in the pleural fluid in two different thoracenteses performed on two consecutive days presented excellent repeatability.

**Conclusions:** The levels of oxidative stress are higher in exudative pleural effusions compared to transudates, probably due to reactive oxygen species produced in the former. Oxidative stress levels were assessed with a rapid commercially available method that was highly repeatable in the cases studied and may serve as a marker for the differentiation between exudates and transudates in clinical practice.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Misserocchi G, Agostoni E. Contents of the pleural space. *J Appl Physiol* 1971; 30:208-213
2. Sahn SA, Willcox ML, Good Jr, et al. Characteristics of normal rabbit pleural fluid: physiologic and biochemical implications. *Lung* 1979;156:63-69
3. Rolf LL, Travis DM. Pleural fluid-plasma bicarbonate gradients in oxygenotoxic and normal rats. *Am J Physiol* 1973;224:857-861
4. Albertine KH, Wiener-Kronish JP, Staub NC. The structure of the parietal pleura and its relationship to pleural liquid dynamics in sheep. *Anat Rec* 1984;208:401-409
5. Wang NS. The performed stomas connectin the pleura cavity and the lymphatics in the parietal pleura. *Am Rev Respir Dis* 1975;111:12-20
6. Ward ME, Roussos C, Macklem PT. Respiratory mechanics. In: Murray JF, Nabel JA, eds. *Textbook of respiratory Medicine*. Philadelphia:W.B. Saunders, 1994:90-138
7. Loo-Fook SJ, Rodarte JR: Pleural pressure distribution and its relationship to lung volume and interstitial pressure. *Am J Appl Physiol* 1991;70:967-978
8. Fraser & Pare: The pleura:In Fraser & Pare: *Diagnosis of diseases of the chest*, Shanders 1999, Vol 1, Chapter 6, pp 151-171
9. Staub NC, Wiener-Kronish JP, Albertine KH: Transport through the pleura: Physiology of normal liquid ans solute exchange in the parietal space. In: Chretien J. Bignon(eds). *The Pleura in Health and Disease*. N.Y.Dekker 1985;Vol 30,pp 169-193
10. Stewart PB. The rate of formation and lymphatic removal of fluid in pleural effusions. *J Clin Invest* 1963;42:258-262
11. Lechie WJH, Tothill P. Albumin turnover in pleural effusions. *Clin Sci* 1965;29:339-352
12. Wiener-Kronish JP, Broaddus VC. Interrelationship of pleural and pulmonary interstitial liquid. *Ann Rev Physiol* 1993;55:209-226
13. Light RW, Jenkinson SG, Minh V, et al. Observation on pleural pressures as fluid is withdrawn during thoracentecis. *Am Rev Respir Dis* 1980;121:799-804
14. Cheng C-S, Rodriguez RM, Perkett EA, et al. Vascular endothelial growth factor in pleural fluid. *Chest* 1999;115:760-765
15. Thichett DR, Armstrong L, Millar AB. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in inflammatory and malignant pleural effusions. *Thorax* 1999;54:707-710
16. Aiba M, Inatomi K, Homma H. Lymhatic system or hydro-oncotic forces. Which is more significant in drainage of pleural fluid? *Jpn J Med* 1984;23:27-33

17. Eid. AA, Kedissi JI, Kinasewitz GT. Hypoalbuminemia as a cause of pleural effusions. *Chest* 1999;115:1066-1069
18. Kirschner PA. Porous diaphragm syndromes. *Chest Surg Clin N Am* 1998;8:44-472
19. Allen SJ, Laine GA, Drake RE, et al. Superior vena cava pressure elevation causes pleural fluid formation in sheep. *Am J Physiol* 1988;255:H492-H495
20. Verkman AS, Matthay MA, Song Y. Aquaporin water channels and lung physiology. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000;278:L867-L879
21. Yang B, Folkesson HG, Yang J, et al. Reduced osmotic water permeability of the peritoneal barrier in aquaporin-1 knockout mice. *Am J Physiol* 1999;276:C76-C81
22. Light RW, MacGregor MI, Luchsinger PC, et al. Pleural effusions: The diagnostic separation of transudates and exudates. *Ann Intern Med* 1972;77:507-513
23. Hamm H, Brohan U, Bohmer R, et al. Cholesterol in pleural effusions: a diagnostic aid. *Chest* 1987;92:296-302
24. Valdes L, Pose A, Suarez J, et al. Cholesterol: a useful parameter for distinguishing between pleural exudates and transudates. *Chest* 1991;99:1097-1102
25. Costa M, Quiroga T, Cruz E. Measurement of pleural fluid cholesterol and lactate dehydrogenase. A simple and accurate set of indicators for separating exudates from transudates. *Chest* 1995;108:1260-1263
26. Roth BJ, O'Meara TF, Cragun WH. The serum-effusion albumin gradient in the evaluation of pleural effusions. *Chest* 1990;98:546-549
27. Meisel S, Shamiss A, Thaler M, et al. Pleural fluid to serum bilirubin concentration ratio for the separation of transudates from exudates. *Chest* 1996;98:141-144
28. Garcia-Pachon E, Padilla-Navas I, Sanchez JF, et al. Pleural fluid to serum cholinesterase ratio for the separation of transudates and exudates. *Chest* 1996;110:97-101
29. Vianna NJ. Nontuberculous bacterial empyema in patients with and without underlying diseases. *JAMA* 1971;215:427-429
30. Light RW, Girard WM, Jenkinson SG, et al. Parapneumonic effusions. *Am J Med* 1980;69:507-511
31. Berger HW, Maher G. Decreased glucose concentration in malignant pleural effusions. *Am Rev Respir Dis* 1971;103:427-429
32. Rodringuez-Panadero F, Lopez Mejias J. Low glucose and pH levels in malignant pleural effusions. *Am Rev Respir Dis* 1989;139:663-667
33. Calnan WL, Winfield BJO, Crowley MF, et al. Diagnostic value of glucose content of serous pleural effusions. *Br Med J* 1951;1:1239-1240
34. Barder LM, Mazzadi L, Deakins DO, et al. Glucose level in pleural fluid as a diagnostic aid. *Dis Chest* 1957;31:680-681

35. Light RW, Ball WC. Glucose and amylase in pleural effusions. *JAMA* 1973;225:257-260
36. Lillington WH, Hollingsworth JW. Rheumatoid pleurisy with effusion. *Arch Intern Med* 1966;275:1337-1342
37. Dodson WH, Hollingsworth JW. Pleural effusion in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 1966;275:1337-1342
38. Lankisch PG, Groge M, Becher R. Pleural effusions: a new negative prognostic parameter for acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 1994;89:1849-1851
39. Sherr HP, Light RW, Merson MH, et al. Origin of pleural fluid amylase in esophageal rupture. *Ann Intern Med* 1972;76:985-986
40. Light RW, Ball WC. Lactate dehydrogenase isoenzymes in pleural effusions. *Am Rev Resp Dis* 1973;108:660-664
41. Lossos IS, Intrator O, Berkman N, et al. Lactate dehydrogenase isoenzymes analysis for the diagnosis of pleural effusion in hemato-oncological patients. *Respir Med* 1999;93:338-341
42. Romero-Candeira S, Fernandez C, Martin C, et al. Influence of diuretics on the concentration of proteins and other components of pleural transudates in patients with heart failure. *Am J Med* 2001;110:681-686
43. Antony VB, Godbey SW, Kunkel SL, et al. Recruitment of inflammatory cells to the pleural space. Chemotactic cytokines, IL-8, and monocyte chemotactic peptide in human pleural fluids. *J Immunol* 1993;151:7216-7223
44. Martinez-Garcia MA, Cases-Viedma E, Cordero-Rodriguez PJ, et al. Diagnostic utility of eosinophils in the pleural fluid. *Eur Respir J* 2000;15:166-169
45. Romero-Candeira S, Hernandez Blasco L, Soler MJ, et al. Biochemical and cytologic characteristics of pleural effusions secondary to pulmonary embolism. *Chest* 2002;121:465-469
46. Kalomenidis I, Light RW. Pathogenesis of the eosinophilic pleural effusions. *Curr Opin Pulm Med*. 2004 Jul; 10(4):289-93. Review
47. Sadikot RT, Rogers JT, Cheng D-S, et al. Pleural fluid characteristics of patients with symptomatic pleural effusion post coronary artery bypass surgery. *Arch Intern Med* 2000;160:2665-2668
48. Yam LT. Diagnostic significance of lymphocytes in pleural effusions. *Ann Intern Med* 1967;66:972-982
49. Domagala W, Emeson EE, Kos LG. T and B lymphocyte enumeration in the diagnosis of lymphocyte-rich pleural fluids. *Acta Cytol* 1981;25:108-110
50. Hurwitz S, Leiman G, Shapiro C. Mesothelial cells in pleural fluid: TB or not TB? *S Afr Med J* 1980;57:937-939
51. Bueno CE, Clemente G, Castro BC, et al. Cytologic and bacteriologic analysis of fluid and pleural biopsy specimens with Cope's needle. *Arch Intern Med* 1990;150:1190-1194



52. Naylor B, Schmidt RW. The case for exfoliative cytology of serous effusions. *Lancet* 1964;1:711-712
53. Melamed MR. The cytological presentation of malignant lymphomas and related diseases in effusions. *Cancer* 1963;16:413-431
54. Ordonez MNG. The immunohistochemical diagnosis of mesothelioma: a comparative study of epithelioid mesothelioma and lung adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 2003;27:1031-1051
55. Villena V, Lopez-Encuentra A, Echave-Sustaeta J, et al. Diagnostic value of CA549 in pleural fluid. Comparison with CEA, CA15.3 and CA72.4. *Lung Cancer* 2003;40:289-294
56. Garcia-Pachon E, Padilla-Navas, Dosda D, et al. Elevated level of carcinoembryonic antigen in nonmalignant pleural effusions. *Chest* 1997;111:643-647
57. San Jose ME, Alvarez D, Valdes L, et al. Utility of tumor markers in the diagnosis of neoplastic pleural effusion. *Clin Chim Acta* 1997;265:193-205
58. Villena V, Lopez-Encuentra A, Echave-Sustaeta J, et al. Diagnostic value of CA72-4, carcinoembryonic antigen, CA 15-3, and CA19-9 assay in pleural fluid. *Cancer* 1996;78:736-740
59. Lee YC, Knox BS, Garrett JE, et al. Use of cytokeratin fragments 19.1 and 19.21(Cyfra21-1) in the differentiation of malignant and benign pleural effusions. *Aust N Z J Med* 1999;29:765-769
60. Light RW. Tumor markers in undiagnosed pleural effusions. *Chest* 2004;126:1721-1722
61. Valdes L, Alvarez D, San Jose E, et al. Tuberculous pleurisy: a study of 254 patients. *Arch Intern Med* 1998;158:2017-2021
62. Valdes L, San Jose E, Alvarez D, et al. Diagnosis of tuberculous pleurisy using the biologic parameters adenosine deaminase, lysozyme, and interferon gamma. *Chest* 1993;103:458-465
63. Goto M, Noguchi Y, Koyama H, et al. Diagnostic value of adenosine deaminase in tuberculous pleural effusions: a meta-analysis. *Ann Clin Biochem* 2003;40:374-381
64. Villena V, Lopez-Encuentra A, Pozo F, et al. Interferon gamma levels in pleural fluid for the diagnosis of tuberculosis. *Am J Med* 2003;115:365-370
65. Greco S, Girardi E, Masciangelo R, et al. Adenosine deaminase and interferon gamma measurements for the diagnosis of tuberculous pleurisy: a meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003;7:777-786
66. Hala JT, Schrohenloher RE, Volanakis JE. Immune complexes and other laboratory features of pleural effusions. *Ann Intern Med* 1980;92:748-752
67. Wang DY, Yang PC, Yu WL, et al. Serial antinuclear antibodies titre in pleural and pericardial fluid. *Eur Respir J* 2000;15:1106-1110
68. Staats BA, Ellefson RD, Budahn LL, et al. The lipoprotein profile of chylous and nonchylous pleural effusions. *Mayo Clin Proc* 1980;55:700-704

69. Maartens G, Bateman ED. Tuberculous pleural effusions: increased culture yield with bedside inoculation of pleural fluid and poor diagnostic value of adenosine deaminase. *Thorax* 1991;46:96-99
70. Marel M, Stastny B, Light RW. Incidence of pleural effusion in the central Bohemia region. *Chest* 1993;104:1486-1489
71. Wiener-Kronish JP, Matthay MA, Callen PW, Filly RA, Gamsu G, Staub NC. Relationship of pleural effusions to pulmonary hemodynamics in patients with congestive heart failure. *Am Rev Respir Dis.* 1985; 132(6):1253-6.
72. Wiener-Kronish JP, Broaddus VC. Interrelationship of pleural and pulmonary interstitial liquid. *Annu Rev Physiol* 1993;55:209-226
73. Broaddus VC, Wiener-Kronish JP, Staub NC. Clearance of lung edema into the pleural space of volume-loaded anesthetized sheep. *J Appl Physiol* 1990;68:2623-2630
74. Wiener-Kronish JP, Matthay MA, Gallen PW, et al. Relationship of pleural effusions of pulmonary hemodynamics in patients with congestive heart failure. *Am Rev Respir Dis* 1985;132:1253-1256
75. Porcel JM, Vives M. Distribution of pleural effusion in congestive heart failure. *South Med J* 2006;99:98-99
76. Race GA, Scheifley CH, Edwards JE. Hydrothorax in congestive heart failure. *Am J Med* 1957;22:83-89
77. Shinto RA, Light RW. The effects of diuresis upon the characteristics of pleural fluid in patients with congestive heart failure. *Am J Med* 1990;88:230-233
78. Romero-Candeira S, Fernandez C, Martin C et al. Influence of diuretics on the concentration of proteins and other components of pleural transudates in patients with heart failure. *Am J Med* 2001;110:681-686
79. Cardenas A, Kelleher T, Chopra S. Review article: hepatic hydrothorax. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004 1; 20(3):271-9. Review.
80. Huang Pm, Chang YL, et al. The morphology of diaphragmatic defects in hepatic hydrothorax: thoracoscopic finding. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005;130:141-145
81. Nomoto WC, Suga T, Nakajima K, et al. Acute hydrothorax complicating peritoneal dialysis, report of 2 cases and a review of the literature. *Clin Nephrol* 1989;9:363-367
82. Kinasewitz GT. Transudative effusions. *Eur Respir J* 1997; 10:714-718
83. Kirkpatrick JA Jr, Fleisher DS. The roentgen appearance of the chest in acute glomerulonephritis in children. *J Pediatr.* 1964 Apr;64:492-8.
84. Garcia-Pachon E, Romero S. Urinothorax: a new approach. *Curr Opin Pulm Med* 2006;12:259-263
85. Eid AA, Keddissi JI, Kinasewitz GT. Hypoalbuminemia as a cause of pleural effusions. *Chest* 1999;115:1066-1069

86. Mattison LE, Coppage L, Alderman DF, et al. Pleural effusion in the medical ICU. Prevalence, causes and clinical implications. *Chest* 1997;111:1018-1023
87. Romero Candeira S, Hernandez Blasco L, Soler MJ, et al. Biochemical and cytologic characteristics of pleural effusions secondary to pulmonary embolism. *Chest* 2002;121:465-469
88. Johnston WW. The malignant pleural effusion: a review of cytopathologic diagnoses of 584 specimens from 472 consecutive patients. *Cancer* 1995;56:905-909
89. Banerjee AK, Willets I, Robertson JF, et al. Pleural effusion in breast cancer: a review of the Nottingham experience. *Eur J Surg Oncol* 1994;2033:36
90. Lai CL, Tsai CM, Tsai TT, et al. Presence of serum anti-p53 antibodies is associated with pleural effusion and poor prognosis in lung cancer patients. *Clin Cancer Res* 1998;4:3025-3030
91. Leong SS, Lima CM, Sherman CA, et al. The 1997 International Staging System for non-small cell lung cancer: have all the issues been addressed? *Chest* 1999;115:242-248
92. Fentiman IS, Millis R, Sexton S, et al. Pleural effusion in breast cancer: a review of 105 cases. *Cancer* 1981;47:2087-2092
93. Das DK. Serous effusion in malignant lymphomas: a review. *Diagn Cytopathol* 2006;34:335-347
94. Okada F, Ando Y, Kondo Y, et al. Thoracic CT findings of adult T-cell leukemia or lymphoma. *AJR Am J Roentgenol* 2004;182:761-767
95. Kamble R, Wilson C, Fassas A, et al. Malignant pleural effusion of multiple myeloma: prognostic factors and outcome. *Leuk Lymphoma* 2005;46:1137-1142
96. Collins PO, Connolly DT, Williams TJ. Characterization of increase in vascular permeability induced by vascular permeability factor in vivo. *Br J Pharmacol* 1993;109:195-199
97. Yano S, Shinohara H, Herbst RS, et al. Production of experimental malignant pleural effusions in dependent on invasion of the pleura and expression of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor by human lung cancer cells. *Am J Pathol* 2000;157:1893-1903
98. Assi Z, Caruzo JL, Herndon J, et al. Cytologically proved malignant pleural effusions: prevalence and mechanisms. *South Med J* 1998;91:23-22
99. Light RW, Erozan YS, Ball WC. Cells in pleural fluid: their value in differential diagnosis. *Arch Intern Med* 1973;132:854-860
100. Bueno CE, Clemente G, Castro BC, et al. Cytologic and bacteriologic analysis of fluid and pleural biopsy specimens with Copes's needle. *Arch Intern Med* 1990;150:1190-1194
101. Prakash URS, Reiman HM. Comparison of needle biopsy with cytologic analysis for the evaluation of pleural effusion: analysis of 414 cases. *Mayo Clin Proc* 1985; 60:158-164

102. Halm EA, Teirstein AS. Management of community acquired pneumonia. *N Engl J Med* 2002;347:2039-2045
103. Light RW, Girard WM, Jenkinson SG, et al. Parapneumonic effusions. *Am J Med* 1980;69:507-511
104. Light RW. Management of parapneumonic effusions. *Arch Intern Med* 1981;141:1339-1341
105. Sahn SA. Diagnosis and management of parapneumonic effusion and empyema. *Clin Infect Dis* 2007;45:1480-6
106. Maskell NA, Batt S, Hedley EL, et al. The bacteriology of pleural infection by genetic and standard methods and its mortality significance. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174:817-923
107. Moudgil H, Sridhar G, Leitch AG. Reactivation disease: the commonest form of tuberculous pleural effusion in Edinburgh, 1980-1991. *Respir Med* 1994;88:301-304
108. Mehra V, Gong JH, Iyer D, et al. Immune response to recombinant mycobacterial proteins in patients with tuberculosis infection and disease. *J Infect Dis* 1996;174:431-434
109. Baumann MH, Nolan R, Petrini M, et al. Pleural tuberculosis in the United States: incidence and drug resistance. *Chest* 2007
110. Valdes L, Alvarez D, San Jose E, et al. Tuberculous pleurisy: a study of 254 patients. *Arch Intern Med* 1998;158:2017-2021
111. Luzze H, Elliott AM, Joloba ML, et al. Evaluation of suspected tuberculous pleurisy: clinical and diagnostic findings in HIV-1-positive and HIV-negative adults in Uganda. *Int J Tuberc Lung Dis* 2001;5:746-753
112. Goto m, Noguchi Y, Koyama H, et al. Diagnostic value of adenosine deaminase in tuberculous pleural effusion: a meta-analysis. *Ann Clin Biochem* 2003;40:374-381
113. Burgess LJ, Maritz FJ, Le Roux I, et al. Combined use of pleural adenosine deaminase with lymphocyte/neutrophil ratio. Increased specificity for the diagnosis of tuberculous pleuritis. *Chest* 1996;109:414-419
114. Villena V, Lopez-Encuentra A, Pozo F, et al. Interferon gamma levels in pleural fluid for the diagnosis of tuberculosis. *Am J Med* 2003;115:365-370
115. Greco S, Girardi E, Masciangelo R, et al. Adenosine deaminase and interferon gamma measurements for the diagnosis of tuberculous pleurisy: a meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2003;7:777-786
116. Sharma SK, Banga A. Pleural fluid interferon-gamma and adenosine deaminase levels in tuberculosis pleural effusion: a cost-effectiveness analysis. *J Clin Lab Anal* 2005;19:40-46
117. Man BL, Mok CC. Serositis related systemic lupus erythematosus: prevalence and outcome. *Lupus* 2005;14:822-826
118. Wang DY, Yang PC, Yu WL, et al. Serial antinuclear antibodies titre in pleural and pericardial fluid. *Eur Respir J* 2000;15:1106-1110

119. Wang DY, Yang PC, Yu WL, et al. Comparison of different diagnostic methods for lupus pleuritis and pericarditis: a prospective three-year study. *J Formos Med Assoc* 2000;99:375-380
120. Walker WC, Wright V. Rheumatoid pleuritis. *Ann Rheum Dis* 1967;26:467-474
121. Fedullo PF. Pulmonary thromboembolism. In: Mason RJ, Broaddus VC, Murray JF, et al. eds. *Textbook of respiratory medicine*, 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia:WB Saunders,2005:1425-1458
122. Marel M, Arustova M, Stansy B, et al. Incidence of pleural effusion in a well-defined region: epidemiologic study in central Bohemia. *Chest* 1993;104:1486-1489
123. Lankisch PG, Groge M, Becher R. Pleural effusions: a new negative prognostic parameter for acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 1994;89:1849-1851
124. Light RW, Rogers JT, Moyers JP, et al. Prevalence and clinical course of pleural effusions after coronary artery and cardiac surgery. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:1563-1566
125. Vargas FS, Cukier A, Hueb W, et al. Relationship between pleural effusion and pericardial involvement after myocardial revascularization. *Chest* 1994;105:1748-1752
126. Miller RH, Horneffer PJ, Gardner TJ, et al. The epidemiology of the postpericardiotomy syndrome: a common complication of cardiac surgery. *Am Heart J* 1988;116:1323-1329
127. Μανουσάκης ΓΕ. Γενική χημεία βιολογικών επιστημών. Εκδόσεις Κυριακίδη, Θεσσαλονίκη, 1983
128. McCord JM. The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med* 2000; 108: 652-659.
129. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med* 1991; 91(suppl 3c):14-22.
130. Spector A. Review: Oxidative stress and disease. *J Ocul Pharmacol Ther*, Apr 2000;16(2):193-201
131. Janssen YMW, Van Houten B, Borm PJA, et al. Cell and tissue responses to oxidative damage. *Lab Invest* 1993;69:261-274.
132. Catalá A. Lipid peroxidation of membrane phospholipids generates hydroxy-alkenals and oxidized phospholipids active in physiological and/or pathological conditions. *Chem Phys Lipids*. 2009; 157(1):1-11. Epub 2008. Review.
133. Maselli R, Grembiale RD, Pelaia G, and Cuda G. Oxidative stress and lung diseases. *Monaldi Arch Chest Dis*, 2002;57(3-4):180-1
134. MacNee W. Oxidative stress and lung inflammation in airways disease. *Eur J Pharmacol*, 2001; 429(1-3):195-207.
135. Kinnula VL, Crapo JD. Superoxide dismutases in the lung and human lung diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167:1600-1619.

136. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. Oxford: Clarendon Press;1996
137. Foote CS, Clennan EL. Properties and reactions of singlet oxygen. In: Foote CS, Valentine JS, Greenberg A, Liebman JF. Active Oxygen in Chemistry. Black Academic and Professional. London. 1995, pp. 105-141.
138. Ameta SC, Punjabi PB, Chobisa CS, et al. Singlet Molecular Oxygen. Asian Journal of Chemistry Reviews 1990; 1(2):106-124.
139. Briviba K, Klotz LO, Sies H. Toxic and signalling effects of photochemically or chemically generated singlet oxygen in biological systems. Biol Chem 1997; 378:1259-1265.
140. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. Am J Med 1991; 91(suppl 3c):31-38.
141. Farber JL. Mechanisms of cell injury by activated oxygen species. Environ Health Perspect 1994;102(Suppl 10):17-24.
142. Cesarone MR, Belcaro G, Carratelli M, et al. A simple test to monitor oxidative stress. Int Angiol 1999;18:127-130.
143. Ternay AL, Sorokin V. Redox, Radicals and Antioxidants. In: Baskin SI, H. S, eds. Oxidants, Antioxidants, and Free Radicals. Washington, DC: Taylor & Francis,1997;1-21.
144. Halliwell B, Cross CE. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. Environ Health Perspect 1994;102(Suppl 10):5-12.
145. McCord JM, Turrens JF. Mitochondrial injury by ischemia and reperfusion. Curr Topics Bioenerg 1994;17:173-195
146. Crapo JD, Tierney DF. Superoxide dismutase and pulmonary oxygen toxicity. Am J Physiol 1974;226:1401-1407.
147. Janssen YMW, Van Houten B, Borm PJA, et al. Cell and tissue responses to oxidative damage. Lab Invest 1993;69:261-274
148. Weiss SS. Tissue destruction by neutrophils. N Engl J Med 1989; 320:365-376.
149. Koppenol W.H. "The Haber-Weiss cycle-70 years later". Redox Report 2001 6(4):229-234
150. Squadrito, Giuseppe L, William A. Pryor. "Oxidative chemistry of nitric oxide: the roles of superoxide, peroxynitrite, and carbon dioxide". Free Radical Biology and Medicine 1998 25 (4-5):392-403
151. Starosta V, Rietschel E, Paul K, Baumann U, Griese M. Oxidative changes of bronchoalveolar proteins in cystic fibrosis. Chest 2006 Feb; 129(2):431-7.
152. Kettle A, Chan T, Osberg I, Senthilmohan R, Chapman A, Mocatta TJ, and Wagener J. Myeloperoxidase and Protein Oxidation in the Airways of Young Children with Cystic Fibrosis  
Am J Respir Crit Care Med 2004;170:1317-1323

153. Morrow JD, Roberts LJ. The isoprostanes. Their role as an index of oxidant stress status in human pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166:S25-S30
154. Michel F, Bonnefont-Rousselot D, Mas E, Draï J, Thérond P. Biomarkers of lipid peroxidation: analytical aspects. *Ann Biol Clin (Paris)* 2008; 66(6):605-20. Review.
155. Schock B, Young I, Brown V, Fitch P, Shields M, and Ennis M. Antioxidants and Oxidative Stress in BAL Fluid of Atopic Asthmatic Children. *Pediatr Res Mar* 2003;53:375 - 381
156. Montuschi P, Corradi M, Ciabattoni G, Nightingale J, Kharitonov S, and Barnes P. Increased 8-Isoprostane, a Marker of Oxidative Stress, in Exhaled Condensate of Asthma Patients  
*Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:216-220.
157. Deveci F, Ilhan N, Turgut T, Akpolat N, Kirkil G, and Muz MH. Glutathione and nitrite in induced sputum from patients with stable and acute asthma compared with controls. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2004;93(1):91-7
158. Montuschi P, Kharitonov S, Ciabattoni G, Corradi M, Rensen L, Geddes D, Hodson M, and Barnes P. Exhaled 8-isoprostane as a new non-invasive biomarker of oxidative stress in cystic fibrosis  
*Thorax*, Mar 2000; 55: 205 - 209.
159. Starosta V, Rietschel E, Paul K, Baumann U, Griese M. Oxidative changes of bronchoalveolar proteins in cystic fibrosis. *Chest* 2006 Feb;129(2):431-7
160. Reid DW, Misso N, Aggarwal S, Thompson PJ, Walters EH. Oxidative stress and lipid-derived inflammatory mediators during acute exacerbations of cystic fibrosis. *Respirology*. 2007 Jan;12(1):63-9.
161. Mak JC. Pathogenesis of COPD. Part II. Oxidative-antioxidative imbalance. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2008 Apr; 12(4):368-74. Review.
162. Drost EM, Skwarski KM, Sauleda J, Soler N, Roca J, Agusti A, MacNee W. Oxidative stress and airway inflammation in severe exacerbations of COPD. *Thorax*. 2005 Apr; 60(4):293-300.
163. Borrill ZL, Roy K, Singh D. Exhaled breath condensate biomarkers in COPD. *Eur Respir J*. 2008 Aug; 32(2):472-86. Review.
164. Kuwano K, Nakashima N, Inoshima I, Hagimoto N, Fujita M, Yoshimi M, Maeyama T, Hamada N, Watanabe K, and Hara N. Oxidative stress in lung epithelial cells from patients with idiopathic interstitial pneumonias. *Eur Respir J* 2003;21:232-240
165. Bowers R, Cool C, Murphy RC, Tudor RM, Hopken MW, Flores SC, Voelkel NF. Oxidative stress in severe pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004 Mar 15; 169(6):764-9. Epub 2003 Dec 30.
166. Carpagnano GE, Kharitonov SA, Resta O, Foschino-Barbaro MP, Gramiccioni E, Barnes PJ. 8-Isoprostane, a marker of oxidative stress, is increased in exhaled breath condensate of patients with obstructive sleep apnea after night and is reduced by continuous positive airway pressure therapy. *Chest* 2003;124(4):1386-92

167. Young IS, Woodside JV. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol* 2001;54:176-186
168. Vuokko L, Kinnula and James D. Crapo. Superoxide Dismutases in the Lung and Human Lung Diseases. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, Jun 2003; 167: 1600 - 1619.
169. Bast A, Haenen GRMM, Doelman CJA. Antioxidants and oxidants: State of the art. *Am J Med* 1991; 91(suppl 3c): 2-13.
170. Gey KF, Brubacher GB, Stahelin HB. Plasma levels of antioxidant vitamins in relation to ischemic heart diseases and cancer. *Am J Clin Nutr* 1987;45:1368-1377.
171. Halliwell B, Gutteridge JMC. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys* 1990;200:1-8.
172. I Horvath, S Loukides, T Wodehouse, S A Kharitonov, P J Cole, and P J Barnes. Increased levels of exhaled carbon monoxide in bronchiectasis: a new marker of oxidative stress. *Thorax*, Oct 1998; 53:867-870
173. Montuschi P, Ciabattoni G, Paredi P, Pantelidis P, du Bois RM, Kharitonov SA, Barnes PJ. 8-Isoprostane as a biomarker of oxidative stress in interstitial lung diseases. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998 Nov; 158(5 Pt 1):1524-7.
174. K. Kuwano, N. Nakashima, I. Inoshima, N. Hagimoto, M. Fujita, M. Yoshimi, T. Maeyama, N. Hamada, K. Watanabe, and N. Hara. Oxidative stress in lung epithelial cells from patients with idiopathic interstitial pneumonias. *Eur Respir J*, Feb 2003; 21:232-240
175. Michael Phillips, Renee N. Cataneo, Andrew R.C. Cummin, Anthony J. Gagliardi, Kevin Gleeson, Joel Greenberg, Roger A. Maxfield, and William N. Rom. Detection of Lung Cancer With Volatile Markers in the Breath. *Chest*, Jun 2003; 123:2115-2123.
176. Black SM, Fineman JR. Oxidative and nitrosative stress in pediatric pulmonary hypertension: roles of endothelin-1 and nitric oxide. *Vascul Pharmacol.* 2006 Nov; 45(5):308-16. Epub 2006 Aug 18. Review.
177. Saugstad OD. Bronchopulmonary dysplasia-oxidative stress and antioxidants. *Semin Neonatol.* 2003 Feb; 8(1):39-49. Review.
178. Fenech AG, Ellul-Micallef R. Selenium, glutathione peroxidase and superoxide dismutase in Maltese asthmatic patients: effect of glucocorticoid administration. *Pulm Pharmacol Ther.* 1998;11(4):301-8.
179. Beeh KM, Beier J, Haas IC, Kornmann O, Micke P, Buhl R. Glutathione deficiency of the lower respiratory tract in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J.* 2002 Jun;19(6):1119-23.
180. Mac Nee W. Oxidants/Antioxidants and COPD. *Chest* 2000;117:303S-317S
181. H van der Vaart, D S Postma, W Timens, and N H T Ten Hacken. Acute effects of cigarette smoke on inflammation and oxidative stress: a review *Thorax*, Aug 2004;59:713-721
182. W MacNee and I Rahman. Is oxidative stress central to the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease? *Trends Mol Med*, Feb 2001; 7(2):55-62.



183. William MacNee. Pulmonary and Systemic Oxidant/Antioxidant Imbalance in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Proceedings of the ATS*, Apr 2005; 2: 50 - 60.
184. Pinamonti S, Muzzoli M, Chicca MC, Papi A, Ravenna F, Fabbri LM, Ciaccia A. Xanthine oxidase activity in bronchoalveolar lavage fluid from patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Free Radic Biol Med*. 1996; 21(2):147-55.
185. Delen FM, Sippel JM, Osborne ML, Law S, Thukkani N, Holden WE. Increased exhaled nitric oxide in chronic bronchitis: comparison with asthma and COPD. *Chest*. 2000 Mar; 117(3):695-701.
186. Corradi M, Majori M, Cacciani GC, Consigli GF, de'Munari E, Pesci A. Increased exhaled nitric oxide in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*. 1999 Jul; 54(7):572-5.
187. Ichinose M, Sugiura H, Yamagata S, Koarai A, Shirato K. Increase in reactive nitrogen species production in chronic obstructive pulmonary disease airways. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000 Aug;162(2 Pt 1):701-6
188. Repine JE, Bast A, Lankhorst I. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156:341-357.
189. Adcock IM, Brown CR, Kwon OJ, Barnes PJ. Oxidative stress induces NF-kB DNA binding and inducible NOS mRNA in human epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 199:1518-1524.
190. E M Drost, K M Skwarski, J Sauleda, N Soler, J Roca, A Agusti, and W MacNee. Oxidative stress and airway inflammation in severe exacerbations of COPD. *Thorax*, Apr 2005; 60: 293 - 300.
191. Paredi P, Kharitonov SA, Leak D, Ward S, Cramer D, Barnes PJ. Exhaled ethane, a marker of lipid peroxidation, is elevated in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000 Aug; 162(2 Pt 1):369-73.
192. Paolo Montuschi, Sergei A. Kharitonov, and Peter J. Barnes. Exhaled Carbon Monoxide and Nitric Oxide in COPD. *Chest*, Aug 2001; 120: 496 - 501.
193. P.N.R. Dekhuijzen. Antioxidant properties of N-acetylcysteine: their relevance in relation to chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J*. Apr 2004; 23:629 - 636.
194. Rahman I. Antioxidant therapeutic advances in COPD. *Ther Adv Respir Dis*. 2008 Dec; 2(6):351-74. Review.
195. Schwartz J, Weiss ST. Relationship between dietary vitamin C intake and pulmonary function in the First National Health and Nutrition Examination Survey(NHANES I). *Am J Nutr* 1994; 59:110-114
196. Grievink L, Smit A, Ocke MC, van't Veer P, Kromhout D. Dietary intake of antioxidant (pro-)vitamins, respiratory symptoms and pulmonary function: the MORGEN study . *Thorax* 1998; 53Q166-171
197. Vachier I, Chanez P, Le Doucen C, et al. Enhancement of reactive oxygen species formation in stable and unstable asthmatic patients. *Eur Respir J*. 1994; 7:1585-1592.

198. RE Aldridge, T Chan, CJ van Dalen, R Senthilmohan, M Winn, P Venge, GI Town, and AJ Kettle. Eosinophil peroxidase produces hypobromous acid in the airways of stable asthmatics. *Free Radic Biol Med*. Sep 2002; 33(6):847-56
199. Evans DJ, Lindsay MA, O' Connor BJ, Barnes PJ. Priming of circulating human eosinophils following exposure to allergen challenge. *Eur Respir J* 1996; 9:703-708.
200. Horvath I, Donnely LE, Kiss A, et al. Combined use of exhaled hydrogen peroxide and nitric oxide in monitoring asthma. *Am. J. Respir Crit Care Med* 1998; 158:1042-1046.
201. Alexander Emelyanov, Gleb Fedoseev, Abuduani Abulimity, Kirill Rudinski, Alexey Fedoulov, Andrew Karabanov, and Peter J. Barnes Elevated Concentrations of Exhaled Hydrogen Peroxide in Asthmatic Patients. *Chest* Oct 2001; 120:1136-1139
202. Dohlman AW, Black HR, Royal JA. Expired breath condensate is a marker of acute airway inflammation in pediatric patients with asthma. *Am Rev Respir Dis* 1993;148:955-960
203. Paolo Paredi, Sergei A. Kharitonov, and Peter J. Barnes. Elevation of Exhaled Ethane Concentration in Asthma. *Am J Respir Crit Care Med* Oct 2000;162:1450-1454
204. L.G. Wood, P.G. Gibson, and M.L. Garg. Biomarkers of lipid peroxidation, airway inflammation and asthma. *Eur Respir J* Jan 2003; 21:177-186.
205. Montuschi P, Corradi M, Ciabattini G, Nightingale J, Kharitonov SA, Barnes PJ. Increased 8-isoprostane, a marker of oxidative stress, in exhaled condensate of asthma patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:216-220.
206. Adam Antczak, Paolo Montuschi, Sergei Kharitonov, Pawel Gorski, and Peter J. Barnes. Increased Exhaled Cysteinyl-Leukotrienes and 8-Isoprostane in Aspirin-induced Asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, Aug 2002;166:301-306
207. Bettina C. Schock, Ian S. Young, Vanessa Brown, Patrick S. Fitch, Michael D. Shields, and Madeleine Ennis. Antioxidants and Oxidative Stress in BAL Fluid of Atopic Asthmatic Children *Pediatr Res* Mar 2003; 53:375-381
208. Carpagnano GE, Barnes PJ, Francis J, Wilson N, Bush A, Kharitonov SA. Breath condensate pH in children with cystic fibrosis and asthma: a new noninvasive marker of airway inflammation? *Chest* 2004 Jun;125(6):2005-10.
209. Suzy A.A. Comhair, Weiling Xu, Sudakshina Ghosh, Frederik B.J.M. Thunnissen, Alexandru Almasan, William J. Calhoun, Allison J. Janocha, Leming Zheng, Stanley L. Hazen, and Serpil C. Erzurum Superoxide Dismutase Inactivation in Pathophysiology of Asthmatic Airway Remodeling and Reactivity. *Am J Pathol* Mar 2005;166:663- 674
210. Beier J, Beeh KM, Semmler D, Beike N, Buhl R. Increased concentrations of glutathione in induced sputum of patients with mild or moderate allergic asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2004 Apr; 92(4):459-63.
211. Varshavskii B Ia, Trubnikov GV, Galaktimpva LP, Koreniak NA, Koledzinaia IL, Oberemok AN. Oxidant-antioxidant status of patients with bronchial asthma during

- inhalation and systemic glucocorticoid therapy. *Ter Arkh.* 2003; 75(3):21-4. Russian.
212. Montuschi P, Kharitonov SA, Ciabattoni G, et al. Exhaled 8-isoprostane as a new non-invasive biomarker of oxidative stress in cystic fibrosis *Thorax* 2000;55:205-209
213. Paredi P, Kharitonov SA, Leak D, et al. Exhaled ethane is elevated in cystic fibrosis and correlates with carbon monoxide levels and airway obstruction. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:1247-1251.
214. Lands LC, Grey VL, Grenier C. Total plasma antioxidant capacity in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2000; 29:81-87.
215. Gao L, Broughman JR, Iwamoto T, Tomich JM, Venglarik CJ, Forman HJ. Synthetic chloride channel restores glutathione secretion in cystic fibrosis airway epithelia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001;281:24-30
216. Loukides S, Bouros D, Papatheodorou G, Lachanis S, Panagou P; Siafakas NM. Exhaled hydrogen peroxide in steady-state bronchiectasis *Chest* 2002; 121: 81-87.
217. Horvath I, Loukides S, Wodehouse T, Kharitonov SA, Cole PJ, Barnes PJ. Increased levels of exhaled carbon monoxide in bronchiectasis: a new marker of oxidative stress. *Thorax* 1998 Oct;53(10):867-70.
218. Baughman RP, Lower EE, Pierson G, Strohofer S. Spontaneous hydrogen peroxide release from alveolar macrophages of patients with active sarcoidosis: comparison with cigarette smokers. *J Lab Clin Med* 1988; 111:399-404.
219. Montuschi P, Ciabattoni G, Paredi P, et al. 8-isoprostane as a biomarker of oxidative stress in interstitial lung diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:1524-1527.
220. Cantin AM, Hubbard RC, Crystal RG. Glutathione deficiency in the epithelial lining fluid of the lower respiratory tract in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139:370-372.
221. Rahman I, MacNee W. Oxidative stress and regulation of glutathione in lung inflammation. *Eur Respir J* 2000; 16:534-554.
222. Kinnula VL, Fattman CL, Tan RJ, Oury TD. Oxidative stress in pulmonary fibrosis. A possible role for redox modulatory therapy. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172:417-422.
223. Psathakis K, Mermigkis D, Papatheodorou G, Loukides S, Panagou P, Polychronopoulos V, Siafakas NM, Bouros D. Exhaled markers of oxidative stress in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur J Clin Invest.* 2006 May; 36(5):362-7
224. Fubini B, Hubbard A. *Free Radic Biol Med.* Reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) generation by silica in inflammation and fibrosis. 2003 Jun 15; 34(12):1507-16. Review.
225. Sato T, Takeno M, Honma K, Yamauchi H, Saito Y, Sasaki T, Morikubo H, Nagashima Y, Takagi S, Yamanaka K, Kaneko T, Ishigatsubo Y. Heme oxygenase-1, a potential biomarker of chronic silicosis, attenuates silica-induced lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2006 Oct 15; 174(8):906-14. Epub 2006 Jul 20.

226. V Vallyathan, S Leonard, P Kuppusamy, D Pack, M Chzhan, SP Sanders, and JL Zweir. Oxidative stress in silicosis: evidence for the enhanced clearance of free radicals from whole lungs. *Mol Cell Biochem* Mar 1997; 168(1-2): 25-32
227. Pelclová D, Fenclová Z, Kacer P, Kuzma M, Navrátil T, Lebedová J. Increased 8-isoprostane, a marker of oxidative stress in exhaled breath condensate in subjects with asbestos exposure. *Ind Health* 2008 Oct;46(5):484-9
228. Michael Phillips, Renee N. Cataneo, Andrew R.C. Cummin, Anthony J. Gagliardi, Kevin Gleeson, Joel Greenberg, Roger A. Maxfield, and William N. Rom. Detection of Lung Cancer With Volatile Markers in the Breath Chest Jun 2003; 123:2115-2123.
229. James Chung-man Ho, Shuo Zheng, Suzy A. A. Comhair, Carol Farver, and Serpil C. Erzurum. Differential Expression of Manganese Superoxide Dismutase and Catalase in Lung Cancer. *Cancer Res* Dec 2001; 61:8578-8585.
230. Christou K, Markoulis N, Moulas AN, et al. Reactive oxygen metabolites (ROMs) as an index of oxidative stress in obstructive sleep apnea patients. *Sleep Breath* 2003; 7:105-110.
231. Jobe AH, Bancalari E. Bronchopulmonary dysplasia. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163:1723-1729.
232. Chung-Wai Chow, Maria Teresa Herrera Abreu, Tomoko Suzuki, and Gregory P. Downey. Oxidative Stress and Acute Lung Injury. *Am. J. Respir Cell Mol Biol* Oct 2003; 29:427 - 431.
233. Cracowski JL, Cracowski C, Bessard G, Pepin JL, Bessard J, Schwebel C, Stanke-Labesque F, Pison C. Increased lipid peroxidation in patients with pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001 Sep 15; 164(6):1038-42.
234. Light RW, Macgregor MI, Luchsinger PC, et al. Pleural effusions: the diagnostic separation of transudates and exudates. *Ann Intern Med* 1972; 77:507-513.
235. Roth BJ, O'Meara TF, Cragun WH. The serum-effusion albumin gradient in the evaluation of pleural effusions. *Chest* 1990;98:546-549.
236. Buonocore G, Perrone S, Longini M, et al. Total hydroperoxide and advanced oxidation protein products in preterm hypoxic babies. *Pediatr Res* 2000; 47:221-224.
237. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; 1:307-310.
238. Choe N, Tanaka S, Kagan E. Asbestos fibers and interleukin-1 upregulate the formation of reactive nitrogen species in rat pleural mesothelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998;19:226-236.
239. Upham BL, Wagner JG. Toxicant-induced oxidative stress in cancer. *Toxicol Sci* 2001;64:1-3.
240. Madebo T, Lindtjorn B, Aukrust P, et al. Circulating antioxidants and lipid peroxidation products in untreated tuberculosis patients in Ethiopia. *Am J Clin Nutr* 2003; 78:117-122.

241. Ternay AL, Sorokin V. Redox, Radicals and Antioxidants. In: Baskin SI, H. S, eds. Oxidants, Antioxidants, and Free Radicals. Washington, DC: Taylor & Francis, 1997;1-21.
242. Light RW. Pleural disease. 3<sup>rd</sup> ed. Baltimore:Williams&Wilkins,1995
243. Burgess LJ, Maritz FJ, Taljaard JJ. Comparative analysis of the biochemical parameters used to distinguish between pleural transudates and exudates. Chest 1995 Jun;107(6):1604-9
244. Hamm H, Brohan U, Bohmer R, Missmahl HP. Cholesterol in pleural effusions. A diagnostic aid. Chest. 1987 Aug;92(2):296-302.
245. Meisel S, Shamiss A, Thaler M, Nussinovitch N, Rosenthal T. Pleural fluid to serum bilirubin concentration ratio for the separation of transudates from exudates. Chest 1990 Jul;98(1):141-4
246. Roth BJ, O'Meara TF, Cragun WH. The serum-effusion albumin gradient in the evaluation of pleural effusions. Chest 1990 Sep;98(3):546-9
247. Pfister R, Schneider CA. Natriuretic peptides BNP and NT-pro-BNP: established laboratory markers in clinical practice or just perspectives? Clin Chim Acta 2004 Nov;349(1-2):25-38. Review.
248. Kostikas K, Papatheodorou G, Psathakis K, Panagou P, Loukides S. Oxidative stress in expired breath condensate of patients with COPD. Chest 2003 Oct;124(4):1373-80
249. Corradi M, Pignatti P, Manini P, Andreoli R, Goldoni M, Poppa M, Moscato G, Balbi B, Mutti A. Comparison between exhaled and sputum oxidative stress biomarkers in chronic airway inflammation. Eur Respir J 2004 Dec;24(6):1011-7.
250. Kostikas K, Koutsokera A, Papiris S, Gourgoulialis KI, Loukides S. Exhaled breath condensate in patients with asthma: implications for application in clinical practice. Clin Exp Allergy. 2008 Apr; 38(4):557-65. Review.
251. Katsabeki-Katsafli A, Kerenidi T, Kostikas K, Dalaveris E, Kiropoulos TS, Gogou E, Papaioannou AI, Gourgoulialis KI. Serum vascular endothelial growth factor is related to systemic oxidative stress in patients with lung cancer. Lung Cancer 2008 May; 60(2):271-6.
252. Nowak D, Zieba M, Zawiasa D, Rozniecki J, Król M. Changes of serum concentration of lipid peroxidation products in patients with pneumonia. Monaldi Arch Chest Dis 1996 Jun; 51(3):188-93.
253. Duflo F, Debon R, Goudable J, Chassard D, Allaouchiche B. Alveolar and serum oxidative stress in ventilator-associated pneumonia. Br J Anaesth 2002 Aug; 89(2):231-6.
254. Kwiatkowska S, Luczyńska M, Grzelewska-Rzymowska I, Nowak D, Zieba M. Comparison of oxidative stress markers in exhaled breath condensate and in serum of patients with tuberculosis and sarcoidosis. Pol Merkur Lekarski 2005 Jul; 19(109):37-40.
255. Lamsal M, Gautam N, Bhatta N, Toora BD, Bhattacharya SK, Baral N. Evaluation of lipid peroxidation product, nitrite and antioxidant levels in newly diagnosed and two

months follow-up patients with pulmonary tuberculosis. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2007 Jul;38(4):695-703

256. Re G, Lanzarini C, Vaona I, Pazzaglia M, Palareti G, Bassein L, Guarnieri C. Systemically circulating oxidative species in human deep venous thrombosis. *Eur J Emerg Med* 1998 Mar;5(1):9-12
257. Amir O, Paz H, Rogowski O, Barshai M, Sagiv M, Shnizer S, Reznick AZ, Amir RE. Serum oxidative stress level correlates with clinical parameters in chronic systolic heart failure patients. *Clin Cardiol* 2009 Apr; 32(4):199-203.
258. Eleuteri E, Magno F, Gnemmi I, Carbone M, Colombo M, La Rocca G, Anzalone R, Genta FT, Zummo G, Di Stefano A, Giannuzzi P. Role of oxidative and nitrosative stress biomarkers in chronic heart failure. *Front Biosci* 2009 Jan 1; 14:2230-7. Review.
259. Elevation of the glycoxidation product N (epsilon)-(carboxymethyl) lysine in patients presenting with acute myocardial infarction. *Clin Chem Lab Med* 2009;47(4):446-51