

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΠΣΕ ΙΑΤΡΙΚΗ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ

ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΧΡΟΝΙΑ ΑΠΟΦΡΑΚΤΙΚΗ
ΠΝΕΥΜΟΝΟΠΑΘΕΙΑ



ΣΠΟΥΔΑΣΤΡΙΑ: ΣΕΡΛΕΤΗ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΓΟΥΡΓΟΥΛΙΑΝΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΛΑΡΙΣΑ 2003

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΠΣΕ ΙΑΤΡΙΚΗ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ
ΠΡΩΤΗΡΑ 23/04/2003
ΑΡΙΘ. ΠΡΩΤ. 2519



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

Αριθ. Εισ.: 2854/1

Ημερ. Εισ.: 17-06-2009

Δωρεά:

Ταξιθετικός Κωδικός: ΠΤ-ΠΣΕ-ΙΒ

2003

ΣΕΡ



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000083611

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

**1. ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΓΟΥΡΓΟΥΛΙΑΝΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ
ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΗΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ**

**2. ΜΠΟΝΑΝΟΥ-ΤΖΕΔΑΚΗ ΣΟΦΙΑ
ΑΝΑΠΛΗΡΩΤΡΙΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ**

**3. ΧΑΤΖΟΓΛΟΥ ΧΡΥΣΑ
ΛΕΚΤΟΡΑΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ**

ΕΥΧΑΡΙΣΤΗΡΙΟ

Θέλω κατ' αρχήν να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα τη διπλωματική μου εργασία κύριο Γουργουλιάνη Κωνσταντίνο, Αναπληρωτή Καθηγητή Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής Λάρισας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και Διευθυντή της Πνευμονολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας για το ενδιαφέρον του, την καθοδήγηση, τις πολύτιμες συμβουλές και παρατηρήσεις του, οι οποίες με βοηθούσαν καθημερινά και σε όλη τη διάρκεια εκπόνησης της εργασίας.

Πρέπει επίσης ν' αναφερθώ στη συμβολή του κυρίου Ντόβα Ανάργυρου, Διευθυντή της Παθολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας, όπως και σ' αυτή του κυρίου Γκαμπράνη Ιωάννη, επιμελητή Β' στην ίδια Κλινική, σε ότι αφορά την πρόσβαση προς τους ασθενείς, την οποία μου παρείχαν προκειμένου να συλλέξω στοιχεία και να υποστηρίξω το θέμα της εργασίας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	ΣΕΛ.
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	4
SUMMARY	5
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	6
A: ΧΡΟΝΙΑ ΑΠΟΦΡΑΚΤΙΚΗ ΠΝΕΥΜΟΝΟΠΑΘΕΙΑ	7
Χρόνια βρογχίτιδα.....	7
Απόφραξη Αεραγωγών.....	7
Εμφύσημα.....	7
B: ΣΠΙΡΟΜΕΤΡΗΣΗ	8
Γ: ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ	11
Ρόλος του οξειδωτικού στρες, του θερμιδικού περιορισμού και της οξείδωσης των πρωτεϊνών στη χρονική έκταση της ζωής και στη διαδικασία της γήρανσης.....	12
Ρόλος των μιτοχονδρίων	13
Οξειδωτικά προερχόμενα από τα κύτταρα.....	18
Αποδείξεις τοπικού οξειδωτικού στρες στους πνεύμονες.....	19
Δείκτες του οξειδωτικού στρες.....	19
Συστηματικό οξειδωτικό στρες.....	21
Οξειδωτικό στρες και επιθηλιακός τραυματισμός των πνευμόνων.....	21
Οξειδωτικό στρες και κίνηση ουδετερόφιλων στους πνεύμονες.....	21
Οξειδωτικό στρες και ανισορροπία πρωτεϊνάσης / αντιπρωτεϊνάσης.....	21
Ανισορροπία οξειδωτικών / αντιοξειδωτικών και η ανάπτυξη απόφραξης αεραγωγών.....	21
Οξειδωτικό στρες και γονιδιακή έκφραση.....	22
Δ: ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΒΛΑΒΗ	22
Ελεύθερες ρίζες και αναπνευστικό σύστημα.....	25
Ε: ΣΧΕΣΗ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΚΑΠΝΙΣΜΑΤΟΣ	27
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	30
ΥΛΙΚΟ	31
ΜΕΘΟΔΟΣ	32
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	35
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	37
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ	39

ΠΙΝΑΚΕΣ ΚΑΙ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ	40
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	49

Περίληψη

Σκοπός της εργασίας ήταν να καθοριστεί η σχέση του οξειδωτικού στρες με την ηλικία, το κάπνισμα και την πνευμονική λειτουργία, σε 20 εξεταζόμενους καπνιστές, 18 άντρες και 2 γυναίκες, με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (Χ.Α.Π.).

Υλικό και μέθοδος. Εξετάσθηκαν 20 ασθενείς με ΧΑΠ, βαρείς καπνιστές (67,51 pys) οι οποίοι προσήλθαν και εξετάστηκαν από την 21-1-02 ως και την 17-4-02 στα εξωτερικά ιατρεία της Πνευμονολογικής κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας με μέσο όρο ηλικίας: 66,45 έτη, pys: 67,51 (pys: packs/years, αριθμός πακέτων τσιγάρων την ημέρα X έτη καπνίσματος), και μετρήθηκε το οξειδωτικό στρες με το d-ROM test το οποίο μετρά τα προϊόντα της οξείδωσης που οι ελεύθερες ρίζες έχουν παράγει στο κύτταρο. Η τιμή εκφράζεται σε μονάδες Carrateli που δίνουν το μέτρο του οξειδωτικού στρες.

Συμπερασματικά, υψηλές τιμές οξειδωτικού stress βρέθηκαν σε ασθενείς με ΧΑΠ. Το οξειδωτικό stress σχετίζεται με την ηλικία των πασχόντων. $r = 0,543$ ($p = 0,013$). Δε βρέθηκαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ ηλικίας και καπνίσματος, μεταξύ ηλικίας και FEV₁ % προβλεπόμενης τιμής, μεταξύ ηλικίας και FVC % προβλεπόμενης τιμής, μεταξύ ηλικίας και PEF % προβλεπόμενης τιμής, μεταξύ ηλικίας και (FEV₁/FVC)X100, μεταξύ ηλικίας και MEF % προβλεπόμενης τιμής, μεταξύ καπνίσματος και οξειδωτικού στρες.

Από τους 20 εξετασθέντες καπνιστές διαπιστώθηκε ότι όλοι είχαν ιστορικό χρόνιας βρογχίτιδας και έπαιρναν φάρμακα για νοσήματα του αναπνευστικού συστήματος.

Summary

The aim of this study was to determine the relation between oxidative stress on the one hand, and age, smoking, and pulmonary function on the other hand, in 20 smokers, men and women, who had chronic obstructive pulmonary disease (COPD).

Materials and method. Twenty individuals were examined in the outpatient's clinic of the Pneumonologic Department of the University Hospital of Larissa, in a period of time from 1-21-02 until 4-17-02. Mean age: 66,45 years, yrs: 67,51 (number of cigarette packs per day multiplied by the years of smoking). Oxidative stress was measured by means of the d-ROM test, which measures the products of oxidation that free radicals have generated in the cell. The value is expressed in Carrateli Units that provides the measurement of oxidative stress.

In conclusion, high values of oxidative stress were found in patients with COPD. Oxidative stress is correlated with patient's age. $r = 0,543$ ($p = 0,013$). No significant correlation has been found between age and smoking, age and % predicted value of FEV₁, age and % predicted value of PEF, age and (FEV₁/ FVC)X100, age and % predicted value of MEF, and between smoking and oxidative stress.

All of the twenty smokers had a case history of chronic bronchitis and they were treated with medication for diseases of the respiratory system.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A. Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ)

Η ΧΑΠ είναι μια κατάσταση που χαρακτηρίζεται από χρόνια, προοδευτική μείωση της ροής αέρα στους αεραγωγούς, ως αποτέλεσμα ποικίλου βαθμού παθολογικών αλλαγών από χρόνια βρογχίτιδα στους ευρείς αεραγωγούς, από βρογχιολίτιδα στους μικρούς αεραγωγούς και καταστροφή των κυψελιδικών τοιχωμάτων και διεύρυνση του κυψελιδικού αεροχώρου και εμφύσημα. Αυτά δημιουργούν μια προοδευτική κατάσταση ανικανότητας με την δύσπνοια, ως το κυρίαρχο σύμπτωμα¹.

Η Χρόνια βρογχίτιδα χαρακτηρίζεται από χρόνιο βήχα με παραγωγή πτυέλων τις περισσότερες ημέρες για τουλάχιστον 3 μήνες το χρόνο, για τουλάχιστον 2 χρόνια.

Ο όρος αναφέρεται απλά στα συμπτώματα του βήχα και της απόχρεμψης (γενικά αυτά δεν αποδίδονται σε χρόνια βρογχίτιδα όταν οφείλονται σε εντοπισμένη βλάβη στους πνεύμονες). Τα συμπτώματα είναι ενδεικτικά υπερέκρισης βλέννης. Η απλή χρόνια βρογχίτιδα δεν συνοδεύεται από δύσπνοια¹.

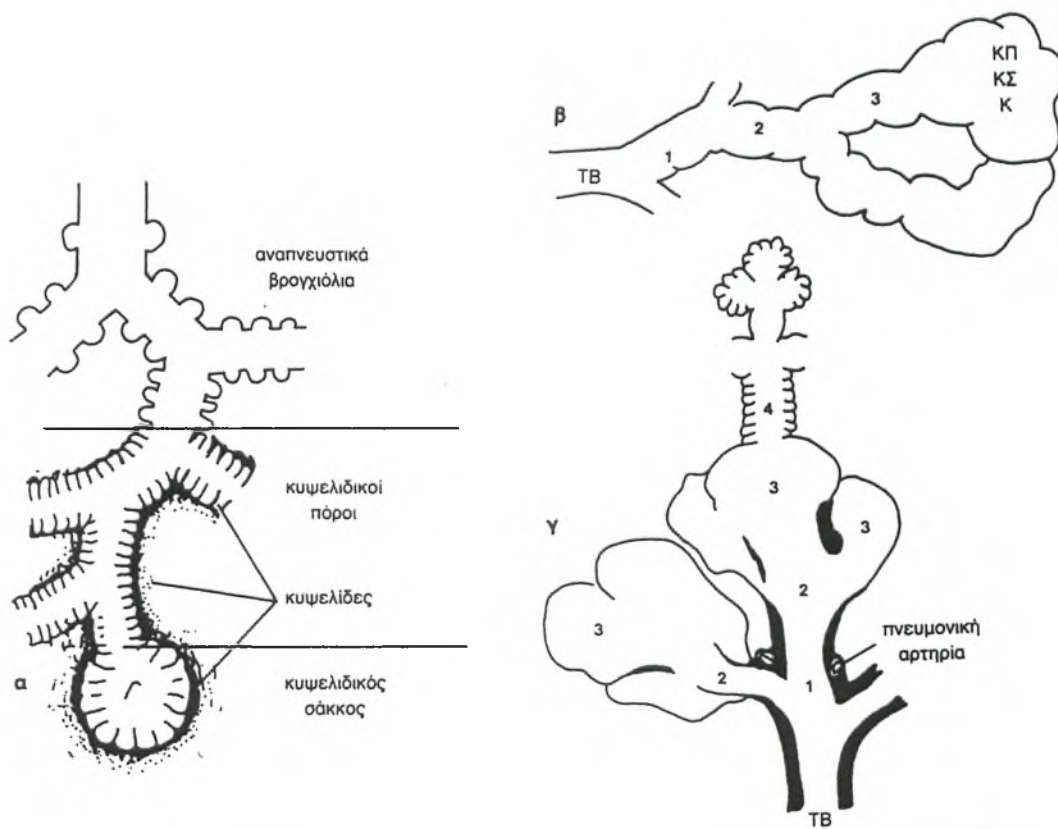
Απόφραξη αεραγωγών: *Διάχυτη στένωση των αεραγωγών που προκαλεί αυξημένη αντίσταση στη ροή του αέρα¹.*

Η έκφραση δηλώνει διαταραχή της φυσιολογικής λειτουργίας. Η απόφραξη των αεραγωγών γενικά επιβεβαιώνεται από εργαστηριακές δοκιμασίες. Η απόφραξη των αεραγωγών συνοδεύει συνήθως τη χρόνια βρογχίτιδα και γενικά είναι υπεύθυνη για τη δύσπνοια. Ορισμένα άτομα (σχεδόν πάντα καπνιστές), αναπτύσσουν απόφραξη των αεραγωγών χωρίς να έχουν ποτέ συμπτώματα χρόνιας βρογχίτιδας ή άλλη ένδειξη υπερέκρισης βλέννης.

Εμφύσημα: *Διεύρυνση των τελικών αεροχώρων των πνευμόνων πέραν του τελικού βρογχιολίου, με καταστροφή των τοιχωμάτων τους¹.*

Ο όρος υποδηλώνει παθολογοανατομική βλάβη και όχι κλινικό σύνδρομο. Η δύσπνοια που συνοδεύει τη χρόνια βρογχίτιδα δεν οφείλεται υποχρεωτικά στο εμφύσημα. Το γενικευμένο εμφύσημα συνοδεύεται πάντα από ενδείξεις απόφραξης των αεραγωγών. Στο κεντρολοβιώδες εμφύσημα η καταστροφή περιορίζεται στο κεντρικό τμήμα του λοβίου, αφήνοντας τους κυψελώδεις πόρους και τις κυψελίδες ανέπαφες. Στο πανλοβιώδες εμφύσημα υπάρχει διάταση και καταστροφή του συνόλου του λοβίου. Κατά περίπτωση, η ασθένεια εντοπίζεται είτε

πλησιέστερα στις ενδολοβιακές πτυχές, είτε αναπτύσσεται με μεγάλες κυστικές περιοχές ή πομφόλυγες.



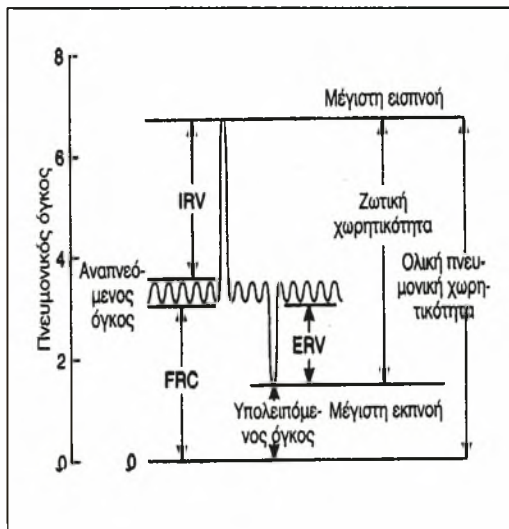
Σχήμα 1: α. Το φυσιολογικό πνευμονικό λοβίδιο. Μετά τα τελικά βρογχίδια, οι επόμενες αεροφόροι οδοί παρουσιάζουν στα τοιχώματά τους κυψελίδες. Τα αναπνευστικά βρογχίδια διακρίνονται σε πρώτης (1), δεύτερης (2) και τρίτης (3) τάξης. Τα τοιχώματα των κυψελιδικών πόρων και σάκκων είναι γεμάτα με κυψελίδες. β. Στο πανλοβιώδες εμφύσημα η καταστροφή του τοιχώματος και η διάταση αφορά όλες τις αεροφόρους οδούς μετά τα τελικά βρογχίδια. γ. Στο κεντρολοβιώδες εμφύσημα οι αλλοιώσεις περιορίζονται μόνον στα αναπνευστικά βρογχίδια (1, 2, 3^{ης} τάξης). Οι κυψελιδικοί πόροι και σάκκοι δεν προσβάλλονται.

Β. Σπιρομέτρηση

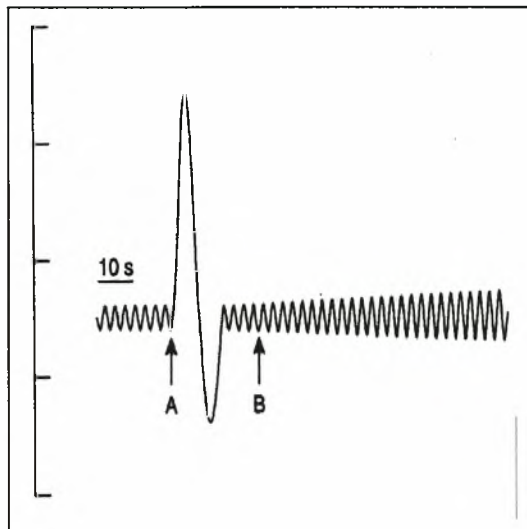
Η σπιρομέτρηση δείχνει μεταβολές στους πνευμονικούς όγκους κατά τη διάρκεια αερισμού. Ο αναπνεόμενος όγκος είναι τυπικός για ήρεμη αναπνοή. IRV, εφεδρικός εισπνεόμενος όγκος, ERV, εφεδρικός εκπνεόμενος όγκος. FRC, λειτουργική υπολειπόμενη χωρητικότητα. Καθώς η FRC και ο υπολειπόμενος όγκος δε μπορούν να

υπολογισθούν κατ' ευθείαν με σπιρομέτρηση, η μέθοδος διάλυσης αερίου έχει χρησιμοποιηθεί για να καθορίσει την FRC και να μετατρέψει αυτές τις μετρήσεις σε ολικούς πνευμονικούς όγκους.

Σχήμα 2²



Σχήμα 3²



Σχήμα 2:

IRV Inspiratory reserve volume. (Εφεδρικός εισπνεόμενος όγκος). Ο μέγιστος όγκος αέρα που μπορεί να εισπνεύσει κανείς από το τέλος μιας ήρεμης εισπνοής, μέχρι την ολική πνευμονική χωρητικότητα³.

ERV Expiratory reserve volume (Εφεδρικός εκπνεόμενος όγκος). Ο μέγιστος όγκος αέρα που μπορεί να εκπνεύσει το άτομο μετά το τέλος μιας ήρεμης εκπνοής ή πέρα από τη λειτουργικά υπολειπόμενη χωρητικότητα (FRC)³.

FRC Functional residual capacity. (Λειτουργική υπολειπόμενη χωρητικότητα). Ο όγκος του αέρα που μένει στους πνεύμονες στο τέλος μιας συνηθισμένης εκπνοής (δηλ. στο επίπεδο ηρεμίας ή στο επίπεδο του τέλους της εκπνοής)³.

FEV1 Forced expiratory volume in one second. (Ο βίαια εκπνεόμενος όγκος σε ένα δευτερόλεπτο). Ο όγκος του αέρα που αποβάλλεται σε ένα δευτερόλεπτο, κατά τη διάρκεια μιας βίαιης εκπνοής, που αρχίζει μετά από μια βαθιά εισπνοή, δηλ. με όλη τη χωρητικότητα του πνεύμονα³.

FVC Forced vital capacity. Ο όγκος του αέρα που εκπνέεται κατά τη διάρκεια μιας βίαιης εκπνοής, που έχει αρχίσει μετά από μια βαθιά εισπνοή και που τελειώνει στον υπολειπόμενο όγκο³.

MEFV Maximum expiratory flow-volume curves. Το διάγραμμα μεταξύ ροής και όγκου, κατά τη διάρκεια της διαδικασίας για τη μέτρηση μιας FVC³.

PEF Peak expiratory flow. Η μέγιστη ροή που μπορεί να παρατηρηθεί κατά τη διάρκεια μιας βίαιης εκπνοής, που αρχίζει από μια πλήρη διάταση του πνεύμονα³.

Σχήμα 3:

Σπιρομέτρηση από έναν φυσιολογικό εξεταζόμενο. Αρχικά ο εξεταζόμενος αναπνέει στο συνήθη ήρεμο ρυθμό. Στο σημείο Α εισπνέει πλήρως και εκπνέει μέγιστα. Στο σημείο Β του δόθηκε για να αναπνέει δια μέσω ενός σωλήνα μήκους 50cm.

Η πνευμονοκονίαση και οι υπόλοιπες επαγγελματικές πνευμονοπάθειες είναι πολύ ιδιότυπες νόσοι και δημιουργούν ένα σύνθετο, πολύπλοκο πρόβλημα για τους αρμόδιους υγειονομικούς φορείς⁴.

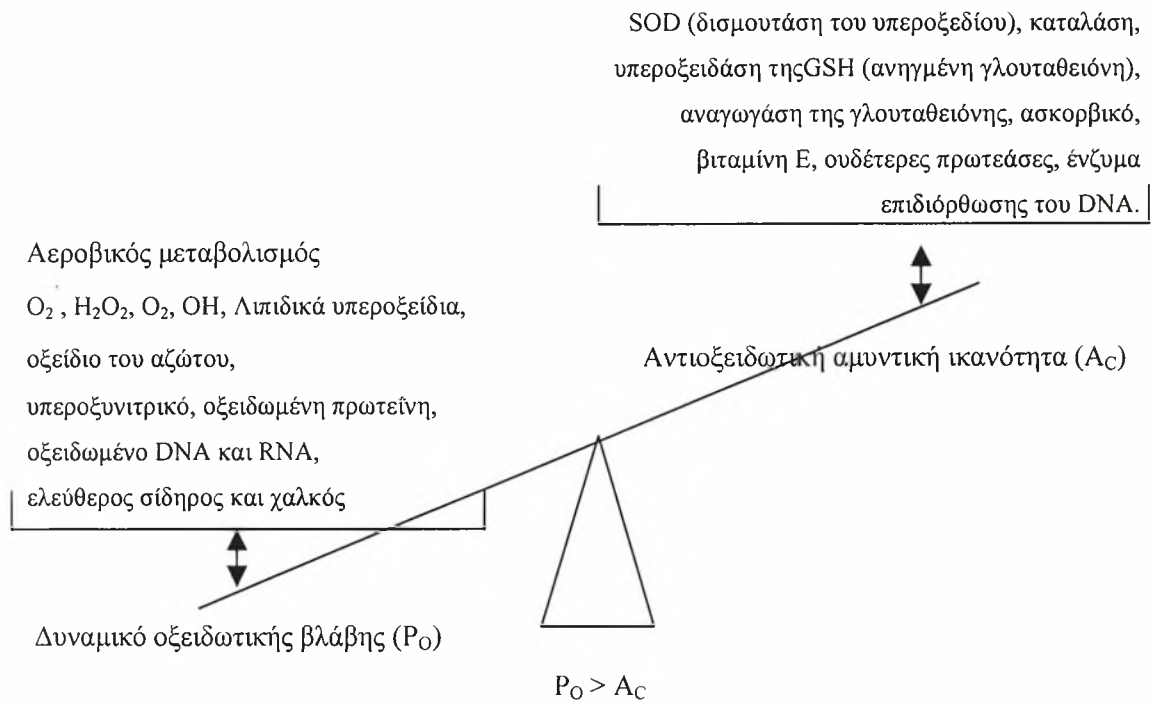
Οι λειτουργικές εξετάσεις του πνεύμονα, επίτευγμα της κλινικής και εργαστηριακής φυσιολογίας των πνευμόνων, χρησιμοποιούνται ευρύτατα στη διάγνωση και μελέτη των διάφορων πνευμονοπαθειών⁴.

Ο κλινικός και ακτινολογικός έλεγχος δε μπορεί να καθορίσει μόνος του την ανεπάρκεια των πνευμόνων. Γι' αυτό, θεωρείται απαραίτητη η συμπλήρωσή τους με τα ευρήματα που προκύπτουν από τις λειτουργικές εξετάσεις του πνεύμονα⁴.

Γ.Οξειδωτικό στρες

Το οξειδωτικό στρες προκύπτει σε έναν ιστό ή όργανο όταν αντί της κανονικής ισορροπίας μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών, υπερτερούν τα οξειδωτικά, ή όταν υστερούν τα αντιοξειδωτικά⁵ (Σχήμα 4). Οι πνεύμονες εκτίθενται σε οξειδωτικά που παράγονται είτε ενδογενώς (ελευθερώνονται από φαγοκύτταρα) ή εξωγενώς (όπως αέριοι ρυπαντές ή κάπνισμα). Επιπλέον, ενδοκυτταρικά οξειδωτικά (όπως από τη μιτοχονδριακή μεταφορά ηλεκτρονίων), ενέχονται στις φυσιολογικές κυτταρικές λειτουργίες. Τα κύτταρα προστατεύονται έναντι της οξειδωτικής πρόκλησης από καλά αναπτυγμένα ενζυμικά και μη ενζυμικά συστήματα. Το οξειδωτικό στρες πιστεύεται ότι συμβάλλει σε πολυάριθμες παθολογικές καταστάσεις περιλαμβανομένων των αθηροσκλήρωσης, αποφρακτικής πνευμονοπάθειας, γήρανσης και κόπωσης των σκελετικών μυών και του διαφράγματος⁶. Έντονη άσκηση, φλεγμονή, αποφρακτικές πνευμονοπάθειες, αυξάνουν την έκθεση του διαφράγματος στα δραστικά είδη οξυγόνου⁶. Τα στοιχεία που συλλέγονται δείχνουν ότι τα δραστικά είδη οξυγόνου τροποποιούν τις συσπάσεις του διαφράγματος, πρωτίστως σε απάντηση σε ερέθισμα χαμηλής συχνότητας⁶. Η απάντηση του διαφράγματος επηρεάζεται κυρίως

από το βαθμό του οξειδωτικού στρες, το επίπεδο της κόπωσης, την κατάσταση της γλουταθειόνης και την ηλικία⁶. Η τακτική άσκηση οδηγεί σε ρύθμιση προς τα άνω της δράσης των αντιοξειδωτικών ενζύμων στο διάφραγμα και έτσι παρέχει πρόσθετη προστασία έναντι του οξειδωτικού στρες⁶.



Σχήμα 4: Η έννοια του οξειδωτικού στρες.

Ρόλος του οξειδωτικού στρες του θερμидικού περιορισμού και της οξείδωσης των πρωτεϊνών στη διαδικασία της γήρανσης.

Η γήρανση σχετίζεται με αυξημένη γένεση ελευθέρων ριζών στους σκελετικούς μύες που μπορεί να προκαλεί οξειδωτική τροποποίηση σε μια πρωτεΐνη, σε λιπίδια, και στο DNA⁷. Η φυσική δραστηριότητα έχει πολλά καθιερωμένα οφέλη για την υγεία, αλλά η εντατική άσκηση αυξάνει τη ροή οξυγόνου στους μύς και αποκαλύπτει ενδοκυτταρικά γεγονότα που μπορεί να οδηγήσουν σε αυξημένη οξειδωτική βλάβη⁷. Το παράδοξο είναι αν η άσκηση θα ήταν συνιστώμενη στον ηλικιωμένο πληθυσμό. Ενδείξεις ερευνών δείχνουν ότι οι γηρασμένοι οργανισμοί είναι πιο ευαίσθητοι σε οξειδωτικό στρες κατά τη διάρκεια της άσκησης εξαιτίας

συνδεδεμένων με την ηλικία δοκιμών και βιοχημικών αλλαγών, που διευκολύνουν το σχηματισμό δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS). Η γήρανση επίσης αυξάνει τη συχνότητα μυικών βλαβών και η φλεγμονώδης αντίδραση μπορεί να υποβάλλει τον γηρασμένο μυ σε περαιτέρω οξειδωτικό στρες. Επιπλέον, η επισκευή του μυός και η αναγεννητική ικανότητα είναι μειωμένες σε μεγάλη ηλικία και μπορεί να ενισχύουν την όξυνση της κυτταρικής οξειδωτικής ζημιάς. Η συνύπαρξη ορισμένων παθολογικών συνθηκών συνδεδεμένων με την ηλικία μπορεί να αυξήσει πάρα πολύ τον κίνδυνο. Παρ' όλ' αυτά, οι ηλικιωμένοι που είναι φυσιολογικά ενεργοί μπορούν να επωφεληθούν από προσαρμογή μέσω της άσκησης σε κυτταρικά αντιοξειδωτικά συστήματα. Βελτιωμένη μηχανική των μυών, δύναμη, αντοχή, τους κάνουν λιγότερο ευάλωτους σε οξεία βλάβη και χρόνια φλεγμονή.

Η υπόθεση ότι ο ρυθμός της κατανάλωσης οξυγόνου και τα επακόλουθα της μοριακής οξειδωτικής βλάβης συνιστούν έναν θεμελιώδη μηχανισμό που κυβερνά τον ρυθμό γήρανσης, υποστηρίζεται από αρκετές σειρές αποδεικτικών στοιχείων: 1) Η διάρκεια της ζωής των ψυχρόαιμων ζώων και θηλαστικών με ασταθή βασικό μεταβολικό ρυθμό (BMR) παρατείνεται και η οξειδωτική βλάβη (OxD) εξασθενίζει από μια πειραματική μείωση στον μεταβολικό ρυθμό. 2) Μεταλλάξεις ενός μόνο γονιδίου στη *Drosophila* και στο *Caenorhabditis elegans* που επιμήκυναν τη διάρκεια ζωής, καταλήγουν σχεδόν με τον ίδιο τρόπο σε γενικευμένη επιβράδυνση των φυσιολογικών δραστηριοτήτων, ακόμη και μέσω διαφορετικών μηχανισμών, επηρεάζοντας μια μείωση στην OxD. 3) Ο θερμιδικός περιορισμός μειώνει την θερμοκρασία του σώματος και την OxD. 4) Αποτελέσματα ερευνών στις επιδράσεις των διαγονιδιακών υπερεκφράσεων αντιοξειδωτικών ενζύμων είναι γενικά ενθαρρυντικά, αλλά κάπως διαφορούμενα. Προτείνεται ότι η οξειδωτική βλάβη στις πρωτείνες παίζει κρίσιμο ρόλο στη γήρανση γιατί οι οξειδωμένες πρωτείνες χάνουν την καταλυτική λειτουργία και κατά προτίμηση υδρολύονται. Έχει υποτεθεί ότι η οξειδωτική βλάβη σε ειδικές πρωτείνες συνιστά έναν από τους μηχανισμούς που συνδέει το οξειδωτικό στρες/ βλάβη και τις σχετιζόμενες με τη γήρανση απώλειες σε φυσιολογικές λειτουργίες⁷.

Ρόλος των μιτοχονδρίων

Τα μιτοχόνδρια παίζουν έναν κεντρικό ρόλο στον έλεγχο της μεταβολικής δραστηριότητας και η αναπνευστική αλυσίδα είναι μια ισχυρή πηγή ROS. Οι διαθέσιμες μελέτες επιμένουν στην πιθανότητα ότι οι ρίζες οξυγόνου που παράγονται

ενδογενώς στα μιτοχόνδρια ενέχονται αιτιολογικά στον καθορισμό του ρυθμού γήρανσης σε ομοιόθερμα σπονδυλωτά. Η οξειδωτική βλάβη σε μακρομόρια των ιστών μοιάζει να αυξάνεται κατά τη διάρκεια της γήρανσης. Ο ρυθμός της παραγωγής μιτοχονδριακών ριζών οξυγόνου σε μεταμιτωτικούς ιστούς, συνδέεται αρνητικά με την διάρκεια ζωής των ζώων. Σε συμφωνία με αυτό, τα μακρόβια ζώα δείχνουν χαμηλότερα επίπεδα οξειδωτικής βλάβης στο μιτοχονδριακό τους DNA (mtDNA) σε σύγκριση με τα βραχύβια, ενώ αυτό δεν προκύπτει στο πυρηνικό (nDNA). [Ο θερμιδικός περιορισμός, ο οποίος μειώνει το ρυθμό γήρανσης, μειώνει επίσης την παραγωγή μιτοχονδριακών ριζών οξυγόνου και την οξειδωτική βλάβη στο μιτοχονδριακό DNA. Αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι κατά τη διάρκεια της εξέλιξης των ειδών με ποικίλες διάρκειες ζωής, έχουν χρησιμοποιηθεί παρόμοιοι μηχανισμοί για να επιμηκύνουν τη διάρκεια ζωής μέσω μειώσεων στο οξειδωτικό στρες, στον θερμιδικό περιορισμό⁷.

Μιτοχονδριακές μετατροπές, κυτταρική απόκριση στο οξειδωτικό στρες και ελαττωματική αποδόμηση πρωτεϊνών στη γήρανση.

Η παρακμή της αναπνευστικής λειτουργίας και η αύξηση του οξειδωτικού στρες στα μιτοχόνδρια έχουν προταθεί ως σημαντικοί παράγοντες στην γήρανση του ανθρώπου. Ένα ευρύ φάσμα μετατροπών σε ηλικιωμένα άτομα και ηλικιωμένα κύτταρα είναι παρόμοιο και συσχετίζεται με κυτταρική απόκριση σε υποθανατηφόρα δόση οξειδωτικού στρες. Αυτές οι μετατροπές και αποκρίσεις περιλαμβάνουν: 1) Μείωση της μιτοχονδριακής αναπνευστικής λειτουργίας. 2) Αύξηση στο ρυθμό παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS). 3) Συσσώρευση μεταλλάξεων στο μιτοχονδριακό DNA (mtDNA). 4) Αύξηση στα επίπεδα οξειδωτικής βλάβης στο DNA, σε πρωτεΐνες, στα λιπίδια και 5) μείωση στην ικανότητα/στα περιθώρια αποδόμησης πρωτεϊνών και άλλων μακρομορίων με οξειδωτική βλάβη. Οι αποκρίσεις στο οξειδωτικό στρες και οι αλληλεπιδράσεις στους ιστούς καταλήγουν στο βλαπτικό αποτέλεσμα των ROS στην κυτταρική λειτουργία, το οποίο κορυφώνεται στη γήρανση και σε ασθένειες. Η αύξηση στη μιτοχονδριακή παραγωγή ROS και η μείωση στην ικανότητα των κυττάρων να αντιμετωπίζουν το οξειδωτικό στρες και την ακόλουθη συσσώρευση μεταλλάξεων στο mtDNA και στις πρωτεΐνες που οξειδώνονται, παίζουν έναν σημαντικό ρόλο στην διαδικασία γήρανσης⁷.

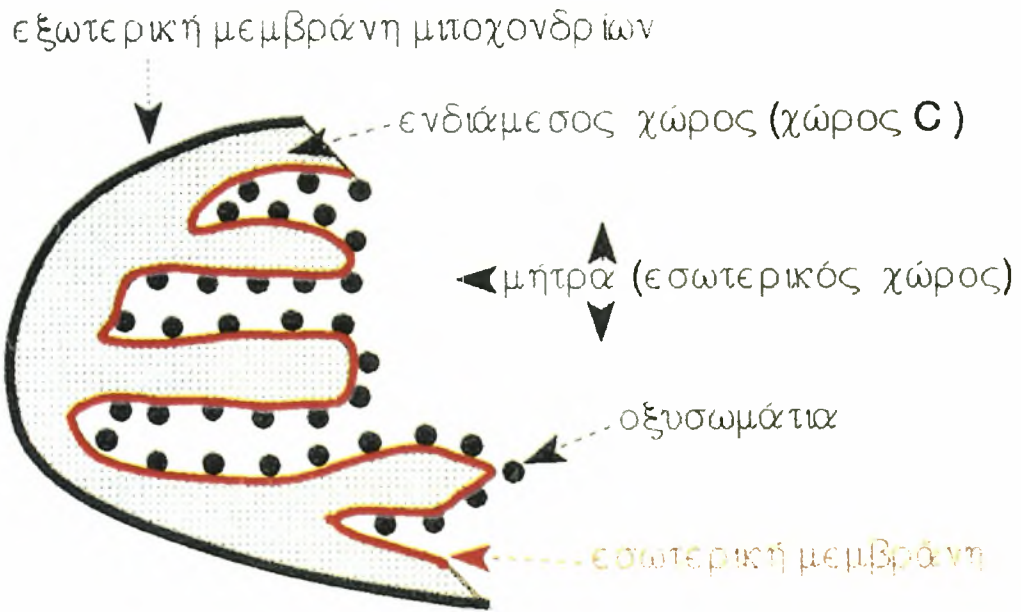
Το μιτοχονδριακό οξειδωτικό στρες παίζει καθοριστικό ρόλο στη γήρανση και την απόπτωση. Περίπου το 90% του οξυγόνου που καταναλώνεται σε έναν ευκαρυώτη χρησιμοποιείται στη μιτοχονδριακή αναπνοή, ώστε ο μεταβολικός ρυθμός ενός κυττάρου σχετίζεται με τη μιτοχονδριακή λειτουργία. Το ποσό των μιτοχονδρίων μέσα σ' ένα κύτταρο ή ιστό μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ένας έμμεσος δείκτης για τον μεταβολικό ρυθμό. Επομένως, η παραγωγή ROS μέσα σε οποιοδήποτε δοσμένο κύτταρο, είναι ουσιαστικά εξαρτώμενη από τη μιτοχονδριακή λειτουργία και από τα επίπεδα της αντιοξειδωτικής άμυνας. (Σχήμα 5α, β).

Πρώτος ο Harman πρότεινε το 1972 ότι τα μιτοχόνδρια μπορεί να είναι το βιολογικό ρολόι στη γήρανση, λαμβάνοντας υπ' όψη ότι ο ρυθμός της κατανάλωσης οξυγόνου θα μπορούσε να καθορίσει το ρυθμό συσσώρευσης της μιτοχονδριακής βλάβης που παράγεται από αντιδράσεις ελευθέρων ριζών. Αργότερα, το 1980, οι Μικουέλ και συνεργάτες πρότειναν τη μιτοχονδριακή θεωρία της κυτταρικής γήρανσης. Μιτοχόνδρια μεταμιτωτικών κυττάρων χρησιμοποιούν O₂ σε υψηλό βαθμό, απελευθερώνοντας έτσι ρίζες οξυγόνου που υπερβαίνουν τις κυτταρικές αντιοξειδωτικές άμυνες. Ο καθοριστικός ρόλος των μιτοχονδρίων στην κυτταρική γήρανση έχει υπογραμμιστεί με την μείωση της παραγωγής που επάγεται σε κύτταρα, στα οποία γίνεται μικροέγχυση μιτοχονδρίων απομονωμένων από ινοβλάστες ηλικιωμένων αρουραίων, ιδίως με την αντίστροφη σχέση που αναφέρθηκε, μεταξύ του ρυθμού της μιτοχονδριακής παραγωγής υδροπεροξειδίου και της μέγιστης διάρκειας ζωής των ειδών. Μια σημαντική αλλαγή στη σύνθεση των μιτοχονδριακών λιπιδίων είναι η συνδεδεμένη με την ηλικία μείωση που βρέθηκε στο ποσό καρδιολιπίνης που περιέχουν. Η παράλληλη ενίσχυση της λιπιδικής υπεροξειδωσης και της οξειδωτικής τροποποίησης των πρωτεϊνών στα μιτοχόνδρια, αυξάνει περαιτέρω τις μεταλλάξεις και την οξειδωτική βλάβη στο μιτοχονδριακό DNA (mtDNA) στην διαδικασία της γήρανσης. Τα αναπνευστικά ένζυμα που περιέχουν τις ελαττωματικές, κωδικοποιημένες στο mtDNA, πρωτεϊνικές υπομονάδες μπορεί να αυξήσουν την παραγωγή ROS, οι οποίες με τη σειρά τους θα επιδείνωναν την οξειδωτική βλάβη στα μιτοχόνδρια. Οι ρίζες υπεροξειδίου που παράγονται κατά τη διάρκεια της μιτοχονδριακής αναπνοής, αντιδρούν με νιτρικό οξύ μέσα στα μιτοχόνδρια για να αποδοθούν ελαττωματικά περοξυνιτρικά. Η αγωγή με ορισμένα αντιοξειδωτικά, όπως αυτά που περιέχουν θείο, βιταμίνες C και E, προστατεύει από τη σχετιζόμενη με την ηλικία οξειδωτική βλάβη στο mtDNA και από την οξείδωση της μιτοχονδριακής γλουταθειόνης⁷.

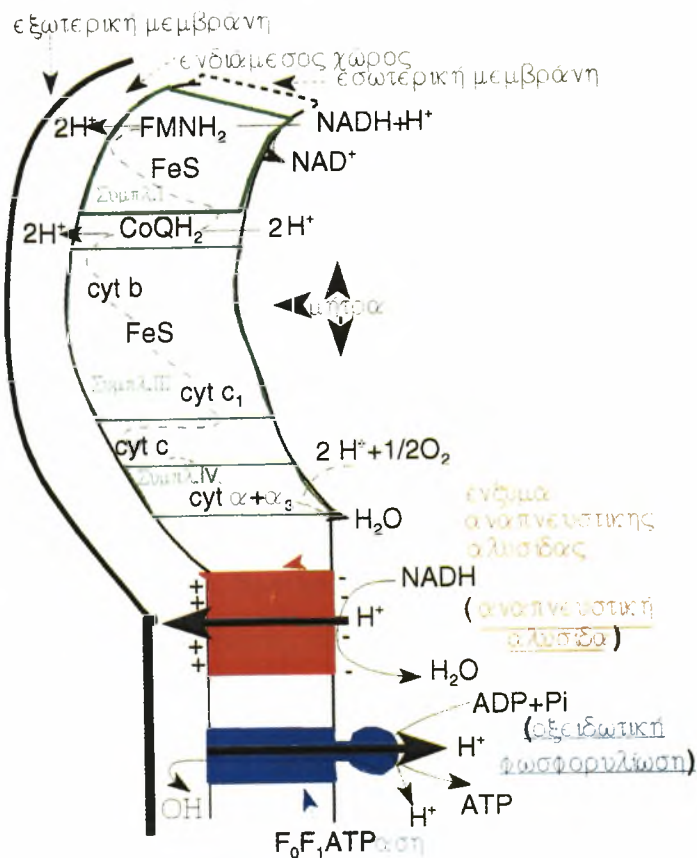
Έχει δειχθεί ότι η παραγωγή ROS μπορεί να είναι υψηλότερη στο στάδιο 4 παρά στο στάδιο 3, γιατί η συγκέντρωση O_2 αυξάνεται και το επίπεδο των ανηγμένων δοτών ενός ηλεκτρονίου στην αναπνευστική αλυσίδα, συνεπακόλουθα αυξάνεται (Boveris και Konstantinov). Παρόμοιο αποτέλεσμα λαμβάνεται όταν η δραστηριότητα της κυτοχρωμικής οξειδάσης μειώνεται, καθώς αυτό οδηγεί σε αύξηση της συγκέντρωσης οξυγόνου και σε μειωμένη/περιορισμένη κατάσταση/επίπεδο δοτών ενός ηλεκτρονίου στην αναπνευστική αλυσίδα (Soal, 1993). Σύμφωνα με τον Skoulachev (1996), αλυσίδες μεταφοράς ηλεκτρονίων μη συζευγμένες με ενισχυμένη κατανάλωση οξυγόνου και με μείωση του επιπέδου περιορισμού των δοτών ηλεκτρονίων, αναπαριστούν μια συσκευή για την πρόληψη ή τη μείωση παραγωγής ROS από τα μιτοχόνδρια.

Όσον αφορά την εμπλοκή των γονιδίων, μελέτες που έγιναν αναφέρουν τη συμμετοχή πρωτεϊνών όπως Ras2 Ras2_p σε σηματοδοτικές οδούς που ενεργοποιούνται από τις ROS με συνέπεια την αξιοσημείωτη μείωση χρόνου ζωής τους.

(α)



(β)



Σχήμα 5. α) Τα μιτοχόνδρια έχουν δύο μεμβράνες μία εξωτερική και μια εσωτερική

β) Τα οξειδοαναγωγικά ένζυμα της αναπνευστικής αλυσίδας είναι εντοπισμένα στα μιτοχόνδρια, και μάλιστα στην εσωτερική μεμβράνη τους, όπου αποτελούν το μεγαλύτερο μέρος των πρωτεϊνών της μεμβράνης αυτής. Όσον αφορά το σύμπλοκο I, το ενεργό του κέντρο βρίσκεται προς την πλευρά του εσωτερικού χώρου (μήτρας), αν και πολλές υπομονάδες του διαπερνούν την εσωτερική μεμβράνη. Η ουβικινόνη και το κυτόχρωμα b, βρίσκονται στο εσωτερικό της (εσωτερικής) μεμβράνης, ενώ το κυτόχρωμα c₁ βρίσκεται στην πλευρά της εσωτερικής μεμβράνης που γειτονεύει με τον ενδιάμεσο χώρο (χώρο C). Το κυτόχρωμα c δεν είναι συστατικό της μεμβράνης αλλά απλά ακουμπάει στην εσωτερική μεμβράνη προς την πλευρά του ενδιάμεσου χώρου. Η κυτοχρωμική οξειδάση διαπερνά τη μεμβράνη από την πλευρά του ενδιάμεσου χώρου, προς την πλευρά του εσωτερικού χώρου. Στην πλευρά του εσωτερικού χώρου βρίσκεται και το O₂ (που φθάνει εδώ χωρίς φορέα αλλά επειδή είναι διαλυτό στη λιποειδική μεμβράνη), στο οποίο μεταφέρονται τελικά τα ηλεκτρόνια. Το NADH που συμμετέχει στην αναπνευστική αλυσίδα πρέπει να βρίσκεται μέσα στα μιτοχόνδρια, γιατί το εξωμιτοχονδριακό NADH δεν μπορεί να περάσει τις μεμβράνες των μιτοχονδρίων (σχήμα 5 β).

Οξειδωτικά προερχόμενα από τα κύτταρα⁵. Η αύξηση της οξειδωτικής επιβάρυνσης που παράγεται από τον εισπνεόμενο καπνό του τσιγάρου ενισχύεται στους πνεύμονες του καπνιστή με την απελευθέρωση ριζών οξυγόνου από φλεγμονώδη λευκοκύτταρα, που είναι γνωστό ότι μεταναστεύουν στους πνεύμονες σε μεγάλους αριθμούς στους καπνιστές και τα οποία δείχτηκε ότι απελευθερώνουν αυξανόμενες ποσότητες οξειδωτικών, όπως O⁻² και H₂O₂. Το ανιόν του υπεροξειδίου O⁻² και το H₂O₂ μπορούν να παραχθούν από την οξειδάση της ξανθίνης, της οποίας η δραστηριότητα αυξάνεται στο βρογχοκυψελιδικό υγρό παροχέτευσης ασθενών με ΧΑΠ, σε σύγκριση με φυσιολογικούς, και σχετίζεται με αυξημένη παραγωγή O⁻².

Η υπεροξειδωση των λιπών, που προκύπτει από την αντίδραση ελευθέρων ριζών με πολυακόρεστες αλυσίδες λιπαρών οξέων στη μεμβράνη ή στις λιποπρωτεΐνες, είναι μια επιπλέον αλυσιδωτή αντίδραση που μπορεί να οδηγήσει σε κυτταρική βλάβη. Η απόδειξη για την παρουσία αυξημένου οξειδωτικού στρες στους καπνιστές και στους ασθενείς με Χ.Α.Π., είναι πλέον εντυπωσιακή.

Αποδείξεις τοπικού οξειδωτικού στρες στους πνεύμονες⁵. Το επιθηλιακό καλυπτήριο υγρό (Epithelial Lining Fluid) δρα ως διάμεσο μεταξύ του επιθηλίου του αεροχώρου και του εξωτερικού περιβάλλοντος και σχηματίζει μια κρίσιμη άμυνα εναντίον των οξειδωτικών. Η βλέννα παράγεται σε αυξημένα ποσά σε ασθενείς με χρόνια βρογχίτιδα και έχει αντιοξειδωτικές ικανότητες, που προκύπτουν από την αφθονία σουλφυδρικών και δισουλφιδικών τμημάτων στη δομή της, που αποτελεσματικά καθαρίζουν τα οξειδωτικά.

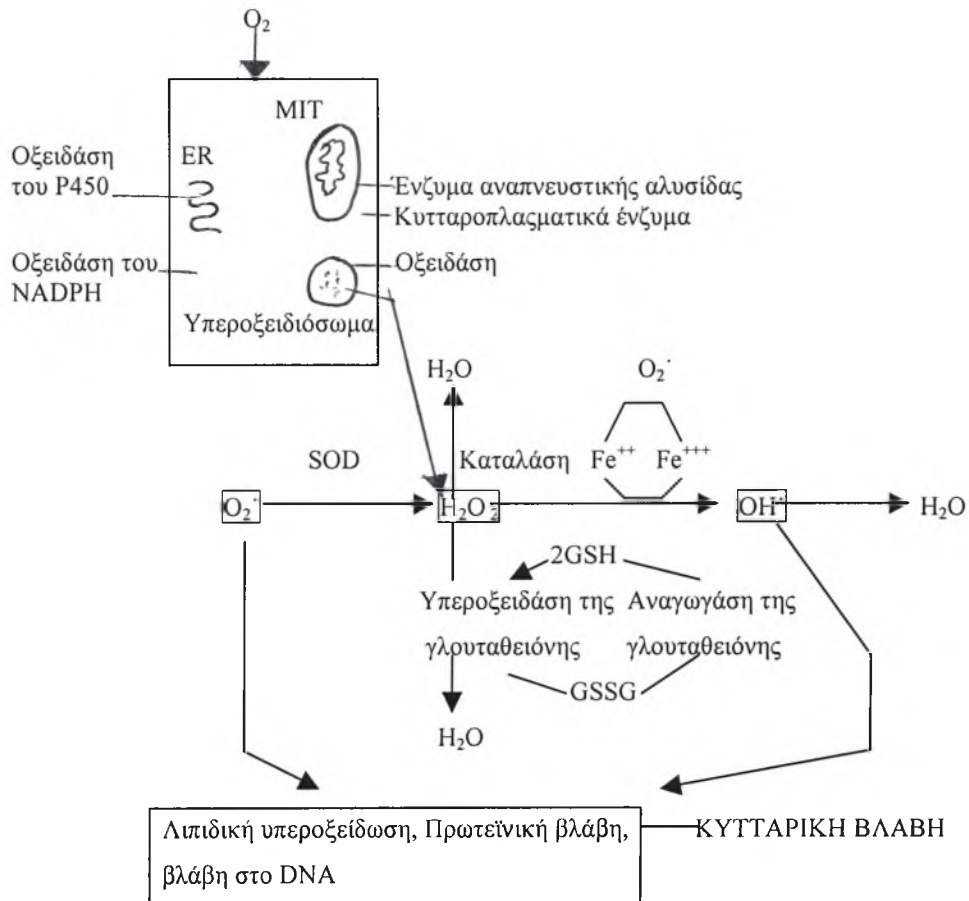
Τα είδη των αντιοξειδωτικών στο ELF περιλαμβάνουν αντιοξειδωτικά χαμηλού μοριακού βάρους, αντιοξειδωτικά ένζυμα, αντιδρώντες πρωτεΐνες και ακόρεστα λίπη. Οι συγκεντρώσεις των μη ενζυματικών αντιοξειδωτικών ποικίλουν στο ELF και μερικές είναι συγκεντρωμένες στο ELF σε σύγκριση με το πλάσμα, όπως η γλουταθειόνη και το ασκορβικό, πράγμα που ίσως δείχνει την σχετική τους σημασία.

Δείκτες του οξειδωτικού στρες⁹. Η παρουσία του οξειδωτικού στρες έχει εκτιμηθεί μετρώντας δείκτες των επιπτώσεων των ριζών στα βιομόρια του πνεύμονα, όπως λιπίδια, πρωτεΐνες στο DNA, ή μετρώντας τις αντιδράσεις στο στρες στην αυξημένη οξειδωτική επιβάρυνση. Το H₂O₂ στο αναπνευστικό σύστημα είναι απ' ευθείας μέτρο της οξειδωτικής επιβάρυνσης των πνευμόνων, και είναι παρόν σε υψηλότερα επίπεδα κατά τη διάρκεια επιδεινώσεων της ΧΑΠ. Υπάρχουν αμφιβολίες για την επαναληψιμότητα αυτού του δείκτη στο οξειδωτικό στρες, εν μέρει γιατί μπορεί να είναι παρούσες η καταλάση και οι υπεροξειδάσες⁹. Η καταλάση είναι ειδικά άφθονη στο ήπαρ και τα ερυθροκύτταρα (Sinclair και συνεργάτες, 1990)¹⁰. Οι εξαρτώμενη από σελήνιο γλουταθειόνη της υπεροξειδάσης (GSH-Px) είναι μια ομάδα κυτοπλασματικών, μιτοχονδριακών και εξωκυτταρικών ενζύμων, άφθονων στο κέντρο του πνεύμονα και στον εγκέφαλο, που είναι ικανά να μετατρέπουν λιπιδικά υδροπεροξειδία και H₂O₂ σε νερό και σταθερές αλκοόλες, οξειδώνοντας την τριπεπτιδική γλουταθειόνη στην οξειδωμένη της μορφή (GSSG)¹⁰:



Το οξείδιο του αζώτου (NO) χρησιμοποιήθηκε ως δείκτης φλεγμονής των πνευμόνων και εμμέσως ως μέτρο του οξειδωτικού στρες⁹. Αυξημένα επίπεδα NO προκύπτουν στην εκπνοή σε ορισμένες, αλλά όχι σε όλες τις μελέτες ασθενών με ΧΑΠ. Το κάπνισμα μειώνει τα επίπεδα NO στην αναπνοή και περιορίζει τη χρησιμότητά του για την ΧΑΠ. Η ουρική ισοπροσάνη F2 α-III, η οποία είναι ισομερές της

προσταγλανδίνης και σχηματίζεται από μη ενζυματική υπεροξειδωση ελευθέρων ριζών του αραχιδονικού οξέος, είναι αυξημένη σε ασθενείς με COPD⁹.



Σχήμα 7: Σχηματισμός των δραστικών ειδών οξυγόνου και αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί στα βιολογικά συστήματα. Το O_2 σε υπεροξειδίο ($O_2^{\cdot -}$) από οξειδωτικά ένζυμα στο ενδοπλασματικό δίκτυο, στα μιτοχόνδρια, στην πλασματική μεμβράνη, στα υπεροξειδισώματα και στο κυτταροδιάλυμα. Η ρίζα υπεροξειδίου ($O_2^{\cdot -}$) μετατρέπεται σε H_2O_2 με τη δισμουτάση του υπεροξειδίου και στη συνέχεια σε OH^{\cdot} με την αντίδραση Fenton, που καταλύεται από ιόντα Cu^{2+}/Fe^{2+} . Το H_2O_2 επίσης, αποδίδεται απ' ευθείας από τις υπεροξειδάσες στα υπεροξειδισώματα. Δεν δεικνύεται μια άλλη εν δυνάμει επιβλαβής δραστική μορφή, το οξυγόνο singlet. Η βλάβη που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες (υπεροξειδωση) που γίνεται στα λιπίδια, στις πρωτεΐνες και στο DNA, οδηγεί σε κυτταρική δυσλειτουργία. Το υπεροξειδίο καταλύει την αναγωγή του Fe^{3+} σε Fe^{2+} ,

ενισχύοντας τη δημιουργία OH[·] μέσω της αντίδρασης Fenton. Κύρια αντιοξειδωτικά ένζυμα είναι η SOD, η καταλάση και η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης.

Συστηματικό οξειδωτικό στρες^{11, 5}

Σε ασθενείς με οξεία επιδείνωση της ΧΑΠ παρουσιάζεται αυξημένη παραγωγή ανιόντος του υπεροξειδίου από τα ουδετερόφιλα του περιφερειακού αίματος σε σύγκριση με μετρήσεις σε σταθερούς ασθενείς. Πολυακόρεστα λίπη και λιπαρά οξέα στις κυτταρικές μεμβράνες είναι ο κύριος στόχος της επίθεσης των ελεύθερων ριζών, με αποτέλεσμα την λιπιδική υπεροξείδωση, τα προϊόντα της οποίας είναι αυξημένα στο πλάσμα ή στο βρογχοκυψελιδικό υγρό παροχέτευσης σε υγιείς καπνιστές και ασθενείς με οξείες επιδείνωσεις της ΧΑΠ, σε σύγκριση με υγιείς μη καπνιστές. Στους καπνιστές υπάρχουν επίσης αυξημένα επίπεδα F2 - ισοπροστάνης στην κυκλοφορία, που είναι επίσης ένα μέτρο της λιπιδικής υπεροξείδωσης στους καπνιστές.

Οξειδωτικό στρες και επιθηλιακός τραυματισμός των πνευμόνων⁵: το χρόνια κάπνισμα οδηγεί σε αυξημένη επιθηλιακή διαπερατότητα. Οι βλάβες στο κυψελιδικό επιθήλιο είναι: αποκόλληση κυττάρων από το επιθήλιο, μειωμένη κυτταρική προσκόλληση και αυξημένη λύση κυττάρων.

Οξειδωτικό στρες και κίνηση ουδετερόφιλων στους πνεύμονες⁵: Το μέγεθος των ουδετερόφιλων είναι μικρότερο σε ασθενείς με ΧΑΠ. Σε φυσιολογικές καταστάσεις το μέγεθος των ουδετερόφιλων προσαρμόζεται σε αυτό των πνευμονικών τριχοειδικών διαμερισμάτων. Στους καπνιστές έχει παρατηρηθεί ότι αυτή η διαδικασία αναστέλλεται. Η παρουσία αντιοξειδωτικών ουσιών αποκαθιστά την προσαρμογή των ουδετερόφιλων, πράγμα που σημαίνει ότι η αναστολή της διαδικασίας μετασχηματισμού τους επάγεται από οξειδωτικές ουσίες που υπάρχουν στον καπνό του τσιγάρου.

Οξειδωτικό στρες και ανισορροπία πρωτεΐνάσης / αντιπρωτεΐνάσης⁵: Η βάση της θεωρίας πρωτεάσης / αντιπρωτεάσης του εμφυσήματος, είναι η ανάπτυξη 'εμποδίου' ελαστάσης που αυξάνεται στους πνεύμονες και μια λειτουργική ανεπάρκεια της α-1 αντιθρυψίνης (α1AT) εξαιτίας της απενεργοποίησης από οξειδωτικά. Όμως, οι μελέτες που έγιναν σε χρόνιους καπνιστές δεν απέδωσαν οριστικά συμπεράσματα.

Ανισορροπία οξειδωτικών / αντιοξειδωτικών και η ανάπτυξη απόφραξης αεραγωγών⁹. Έχει δειχθεί μια σχέση μεταξύ κυκλοφορούντων ουδετερόφιλων, FEV1 και μεταξύ ουδετερόφιλων στο περιφερικό αίμα και ροής αέρα, περιορισμένης σε

χρόνο overtime⁹. Υπάρχει επίσης σχέση μεταξύ της απελευθέρωσης οξειδωτικών περιφερικού αίματος και μείωσης ροής αέρα σε νέους καπνιστές.

Στον γενικό πληθυσμό, υπάρχει συσχετισμός μεταξύ διατροφικής πρόσληψης της αντιοξειδωτικής βιταμίνης E και της πνευμονικής λειτουργίας, ο οποίος υποστηρίζει την υπόθεση ότι τα αντιοξειδωτικά μπορεί να παίζουν ρόλο στην προστασία κατά της ανάπτυξης ΧΑΠ⁹.

Οξειδωτικό στρες και γονιδιακή έκφραση.

Προ-φλεγμονώδη γονίδια¹¹

Πολλές μελέτες έδειξαν ότι διάφορα σηματοδοτικά μόρια της φλεγμονής, περιλαμβανομένων των IL-8⁹, TNFα, αυξάνονται στα πτύελα των ασθενών με ΧΑΠ. Μελέτες in vitro που χρησιμοποιούν μακροφάγα, βρογχικά και κυψελιδικά επιθηλιακά κύτταρα, έδειξαν ότι τα οξειδωτικά προκαλούν την απελευθέρωση μεσολαβητών, όπως IL-8, IL-1 και NO και ότι αυτά τα γεγονότα σχετίζονται με αυξημένη έκφραση γονιδίων για αυτούς τους φλεγμονώδεις παράγοντες και την αυξημένη πρόσδεση ή ενεργοποίηση του πυρηνικού παράγοντα κB(NF-κB).

Δ. Ελεύθερες ρίζες και κυτταρική βλάβη

Ένας σημαντικός μηχανισμός κυτταρικής βλάβης είναι η βλάβη που επάγεται από ελεύθερες ρίζες, ειδικά από ενεργοποιημένες οξειδωτικές βαθμίδες του O₂. Παρουσιάζεται ως το τελικό κοινό μονοπάτι κυτταρικής βλάβης σε διάφορες διαδικασίες, όπως βλάβες από χημικούς παράγοντες και ακτινοβολία, βλάβες από οξυγόνο και άλλα τοξικά αέρια, κυτταρική γήρανση και κυτταρικός θάνατος από φαγοκύτταρα, φλεγμονώδης βλάβη, καταστροφή όγκων από μακροφάγα και άλλες.

Οι ελεύθερες ρίζες είναι χημικά στοιχεία ή ενώσεις, τα οποία έχουν ένα μονήρες (ασύζευκτο) ηλεκτρόνιο σε κάποιο εξωτερικό τροχιακό. Σε τέτοια κατάσταση, η ρίζα είναι εξαιρετικά ενεργός και ασταθής, και εισέρχεται σε αντιδράσεις με ανόργανες ή οργανικές ενώσεις – πρωτεΐνες λιπίδια, υδρογονάνθρακες, ειδικά σε μόρια – κλειδιά στις μεμβράνες και νουκλεϊνικά οξέα. Επιπλέον, οι ελεύθερες ρίζες ξεκινούν αυτοκαταλυτικές αντιδράσεις με τις οποίες μόρια με τα οποία αντιδρούν μετατρέπονται σε ελεύθερες ρίζες και έτσι αναπαράγουν την αλυσίδα της βλάβης.

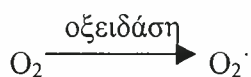
Οι ελεύθερες ρίζες μπορούν να παραχθούν μέσα στα κύτταρα (1) με απορρόφηση ακτινοβολίας (π.χ. φως, ακτινοβολία X κλπ.), (2) με ενδογενείς, συνήθως οξειδωτικές αντιδράσεις που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια φυσιολογικών διαδικασιών,

(3) με ενζυμικό μεταβολισμό εξωγενών χημικών ή φαρμάκων (π.χ. CCl_3 , προϊόν του CCl_4).

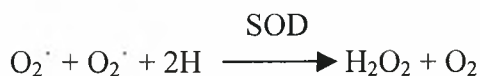
Ρίζες προερχόμενες από O_2 όπου είναι γνωστό το O_2 , φυσιολογικά υπόκειται σε μια αναγωγή με 4 ηλεκτρόνια σε H_2O που καταλύεται από την κυτοχρωμική οξειδάση. Όμως η παρουσία ενδοκυτταρικού οξυγόνου επιτρέπει επίσης την μη αναστρέψιμη παραγωγή μερικώς αναχθέντων τοξικών νεδιάμεσων ειδών O_2 . Τα τρία πιο σημαντικά είδη είναι τα ιόντα υπεροξειδίου (O_2^\cdot), υπεροξειδίου υδρογόνου και (OH^\cdot).

Αυτά μπορούν να παραχθούν από τη δραστηριότητα διάφορων οξειδωτικών ενζύμων, σε διάφορα σημεία του κυττάρου – κυτταρόπλασμα, μιτοχόνδρια, λυσοσώματα, υπεροξειδισώματα και πλασματικές μεμβράνες.

Η υπεροξειδωτική ρίζα δημιουργείται είτε απευθείας κατά τη διάρκεια οξείδωσης στα μιτοχόνδρια, ή ενζυματικής από τα κυτταροπλασματικά ένζυμα, όπως οξειδάση της ξανθίνης, κυτόχρωμα P450 και άλλες οξειδάσες.



Άπαξ παραχθεί, η O_2^\cdot μπορεί να απενεργοποιηθεί είτε αυθόρμητα, είτε πιο ραγδαία από το ένζυμο υπεροξειδική δισμουτάση (SOD), σχηματίζοντας H_2O .



Το υπεροξείδιο του υδρογόνου παράγεται είτε με μετατροπή του O_2^\cdot όπως ήδη εξηγήθηκε, ή απευθείας από οξειδάσες παρούσες στα υπεροξεισώματα που περιέχουν καταλάση. Οι ρίζες υδροκυλίου δημιουργούνται:

1) από υδρόλυση του H_2O_2 που προκαλείται από ιονίζουσα ακτινοβολία.



(2) με αλληλεπίδραση με μεταβατικά μέταλλα (FeCu) στην αντίδραση Fenton ή Haber – Weiss.

Ο σίδηρος είναι ειδικά σημαντικός σε τοξική βλάβη από οξυγόνο. Το μεγαλύτερο ποσό του σιδήρου βρίσκεται στη σιδηρι – Fe^{+++} μορφή και πρέπει να αναχθεί στη σιδηρο - Fe^{++} μορφή για να γίνει ενεργός στην αντίδραση Fenton.

Αυτή η αναγωγή μπορεί να ενισχυθεί από υπεροξείδιο και έτσι το ιόν υπεροξειδίου είναι σημαντικό στη δημιουργία OH^\cdot .

Τα κύρια αποτελέσματα αυτών των ενεργών ειδών είναι στη μεμβράνη, στα λιπίδια, στους σουλφιδρυλικούς δεσμούς των πρωτεϊνών και στα νουκλεοτίδια του

DNA. Με την παρουσία οξυγόνου, μπορούν να προκαλέσουν υπεροξειδωση των λιπιδίων εντός της κυτταρικής και οργανοδιακής μεμβράνης και να προκαλέσουν βλάβη στο Ε.Δ., στα μιτοχόνδρια και άλλα μικροσωματικά συστατικά. Μπορεί να συμβεί σύζευξη των πρωτεϊνών με το σχηματισμό δισουλφιδικών δεσμών και να προκληθεί καταστροφή στο κύτταρο, αδρανοποιώντας ένζυμα με σουλφιδρυλικούς δεσμούς.

Επιδράσεις στο DNA επάγουν μεταλλάξεις στον γενετικό κώδικα που, αν δεν επισκευαστούν, επάγουν κυτταρικές αποδιατάξεις και αναστολή αντιγραφής του DNA.

Η υπεροξειδωση των λιπιδίων είναι ένας καλά μελετημένος (αλλά όχι πάντα πρωτεύων) μηχανισμός βλάβης από ελεύθερες ρίζες.

Ξεκινάει με ρίζες υδροξυλίου που αντιδρούν με ακόρεστα λιπαρά οξέα των μεμβρανικών φωσφολιπιδίων για να δημιουργήσουν ελεύθερες ρίζες οργανικών οξέων, οι οποίες με τη σειρά τους αντιδρούν γρήγορα και οξυγόνο για να σχηματίσουν υπεροξειδία.

Τα υπεροξειδία τα ίδια δρουν έπειτα ως ελεύθερες ρίζες, ξεκινώντας μια αυτοκαταλυτική αλυσιδωτή αντίδραση, με αποτέλεσμα περαιτέρω απώλεια των ακόρεστων λιπών και εκτεταμένη μεμβρανική βλάβη.

Άπαξ και σχηματιστούν οι ελεύθερες ρίζες, πως το σώμα απαλλάσσεται από αυτές; Μπορούν να αποδομηθούν αυθόρμητα. Η ρίζα υπεροξειδίου για παράδειγμα, είναι ασταθής και διασπάται αυθόρμητα σε οξυγόνο και υπεροξειδίο του υδρογόνου.

Υπάρχουν όμως διάφορα συστήματα που συμβάλλουν στον τερματισμό ή την αδανοποίηση των αντιδράσεων των ελευθέρων ριζών.

Αυτά περιλαμβάνουν:

1. Ενδογενή ή εξωγενή αντιοξειδωτικά (π.χ. βιταμίνη Ε, ενώσεις που περιέχουν -SH όπως η κυστεΐνη της γλουταθειόνης και η D-πενικιλαμίνη, πρωτεΐνες του ορού όπως χαλκοπλασμίνη και τρανσφερίνη) που, είτε μπλοκάρουν την έναρξη του σχηματισμού των ελευθέρων ριζών, είτε αδρανοποιούν, π.χ. εκκαθαρίζουν τις ελεύθερες ρίζες.

Η τρανσφερίνη θεωρείται ότι δρα ως αντιοξειδωτική με το να δεσμεύει τον ελεύθερο σίδηρο, ο οποίος καταλύει το σχηματισμό ελευθέρων ριζών.

2. Ένζυμα: αυτά περιλαμβάνουν α) δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD) που μετατρέπει την υπεροξειδική ρίζα σε H₂O₂.

β) Καταλάση που βρίσκεται στα υπεροξειδιοσωμάτια, η οποία διασπά H₂O₂.



γ) Υπεροξειδάση της γλουταθειόνης που καταλύει την ικανότητα της ανηγμένης γλουταθειόνης (GSH) να απελευθερώσει υδρογόνο από -SH προς μια ρίζα υδροοξυλίου ή H₂O₂.



Σε πολλές παθολογικές διαδικασίες τα τελικά αποτελέσματα των ερεθισμάτων που επάγουν οι ελεύθερες ρίζες εξαρτώνται από το καθαρό ισοζύγιο ανάμεσα στο σχηματισμό και τη διάσπαση των ελευθέρων ριζών.

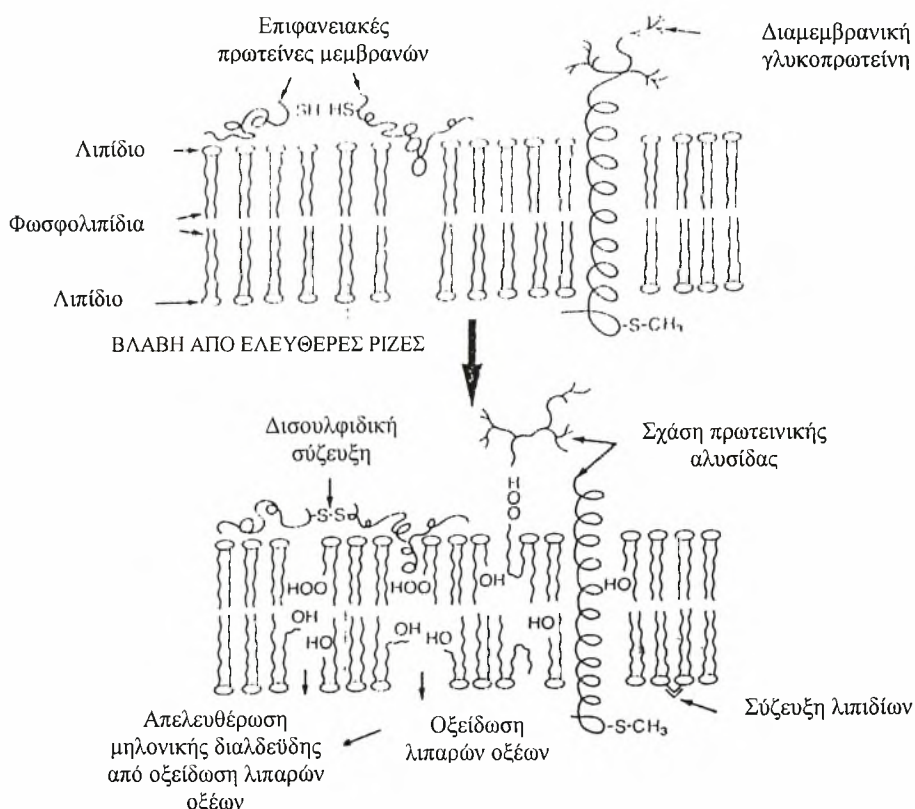
Παραδείγματα βλαβών από ελεύθερες ρίζες:

1. **Χημικές βλάβες**, π.χ. δηλητηρίαση από τετραχλωράνθρακα.
2. **Φλεγμονή**: τα λευκοκύτταρα και άλλα παράγουν τοξικούς μεταβολίτες οξυγόνου κατά τη διάρκεια της φλεγμονής, που καταστρέφουν τους ιστούς και εμπλέκουν τους χημειοτακτικούς παράγοντες.
3. **Θανάτωση μικροβίων** με φαγοκυττάρωση από λευκοκύτταρα κατά τη διάρκεια της οξειδωτικής έκρηξης στο φαγολυσόσωμα. Η θανατηφόρος βλάβη στα βακτήρια γίνεται με απελευθέρωση ελευθέρων ριζών.
4. **Η ραδιόλυση** παράγει OH[·] και H[·] που προστίθενται στις βάσεις του DNA.
5. **Τοξικότητα** O₂ και άλλων αερίων, π.χ. όζον, μεσολαβείται με ελεύθερες ρίζες.
6. **Γήρανση**: πιο συχνή παραγωγή ελευθέρων ριζών κατά τη γήρανση προκαλεί βλάβη στις μεμβράνες (περιβάλλον, μειωμένη διαθεσιμότητα, αποξειδωτική αδρανοποίηση ενζύμων, π.χ. καταλάση).

Ελεύθερες ρίζες και αναπνευστικό σύστημα

Ο πνεύμονας είναι ιδιαίτερα εκτεθειμένος σε ποικίλα εισπνεόμενα τοξικά προϊόντα των οποίων η τοξικότητα μπορεί, εν μέρει, να επαχθεί από την παραγωγή ελευθέρων ριζών¹². Το φορτίο των οξειδωτικών προκύπτει επίσης από τον πνευμονικό μεταβολισμό των ξеноβιοτικών ή από την ενεργοποίηση των φαγοκυττάρων. Οι ελεύθερες ρίζες προέρχονται κυρίως από μια ομοιοδύναμη συνεχή μείωση του μοριακού οξυγόνου. Τα μιτοχόνδρια είναι ο κύριος τόπος της ενδοκυτταρικής παραγωγής, η οποία μπορεί επίσης να προκύψει από αυτοοξειδωση μικρών μορίων ή τη λειτουργία μερικών ενζύμων¹². Για να προληφθούν τα αποτελέσματα των

ελεύθερων ριζών που παράγονται από τον κανονικό μεταβολισμό, τα κύτταρα είναι εξοπλισμένα με αντιοξειδωτικό σύστημα που αποτελείται από ένζυμα (δισμουτάση του υπεροξειδίου, καταλάση, υπεροξειδάση γλουταθειόνης) και μη ενζυματικές ουσίες όπως γλουταθειόνη, παράγοντες σχηματισμού χηλικών ενώσεων σιδήρου, βιταμίνες E και C και σερούλοπλασμίνη¹². Οι στόχοι της τοξικότητας των ελεύθερων ριζών είναι τα φωσφολιπίδια με εισαγωγή λιπιδικής υπεροξειδωσης, πρωτείνες που μπορεί να ενεργοποιούνται ή απενεργοποιούνται μέσω οξείδωσης σουλφυδρυλικών καταλοίπων¹².



Σχήμα 6: Διάφοροι μηχανισμοί ελευθέρων ριζών που προκαλούν βλάβη στις μεμβράνες (στο κάτω μέρος του σχήματος), περιλαμβάνουν δισουλφιδική σύζευξη των επιφανειακών πρωτεϊνών των μεμβρανών, σχάση της πρωτεϊνικής αλυσίδας, σύζευξη λιπιδίων και υπεροξειδωση λιπαρών οξέων. Η τελευταία, οδηγεί στην απελευθέρωση παραπροϊόντων, όπως μηλονική διαλδεύδη (τροποποιήθηκε από Freeman B. A., και Crapo V. D.: *Biology of disease: Free radicals and tissue injury*. Lab. Invest. 47:412, 1982).

Οι μηχανισμοί της γονιδιακής ρύθμισης των αντιοξειδωτικών ενζύμων είναι ακόμη πολύ λίγο κατανοητοί στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Η υπερπαραγωγή

ελεύθερων ριζών στον πνεύμονα επίσης ενέχεται σε διάφορες κλινικές εικόνες όπως οι ισχαιμία-επαναδιήθηση, έκθεση στο όζον, το σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσφορίας, η τοξικότητα που επάγεται στους πνεύμονες από ναρκωτικά, η παθογένεση της ΧΑΠ, το άσθμα, ο καρκίνος και η γήρανση¹².

Ε.Σχέση οξειδωτικού στρες και καπνίσματος

Οι καπνιστές έχουν μεγαλύτερη από την αναμενόμενη θνητότητα σε άλλες κατηγορίες νοσημάτων του αναπνευστικού συστήματος¹. Οι θάνατοι από γρίπη και πνευμονία είναι διπλάσιοι στους καπνιστές σε σύγκριση με τους μη καπνιστές. Οι θάνατοι στους καπνιστές από μη ειδικές νόσους του αναπνευστικού συστήματος, πέραν αυτών που έχουν ήδη αναφερθεί, είναι περίπου πενταπλάσιοι σε σύγκριση με τους μη καπνιστές. Έχει διαπιστωθεί σημαντική συσχέτιση συμπτωμάτων του αναπνευστικού, όπως ο βήχας με το παθητικό κάπνισμα, ιδιαίτερα σε παιδιά με γονείς καπνιστές. Μικρή και προφανώς σημαντική αύξηση της επίπτωσης του καρκίνου του πνεύμονα και της έκπτωσης της αναπνευστικής λειτουργίας έχει διαπιστωθεί σε μη καπνιστές συζύγους καπνιστών.

Οι Prior και Stone αναφέρουν ότι η αέρια φάση του καπνού περιέχει περίπου 10^{17} ρίζες ανά εισπνοή, κυρίως του αλκυλο- και υπεροξειδο- φάσεων¹³. Επιπλέον το οξείδιο του αζώτου είναι παρόν στον καπνό του τσιγάρου σε συγκεντρώσεις των 500-1000ppm. Το οξείδιο του αζώτου (NO^\cdot) αντιδρά γρήγορα με το ανιόν υπεροξειδίου ($\text{O}_2^{\cdot-}$) σχηματίζοντας περοξυνιτριτικό (ONOO^-) και με υπεροξυ- ρίζες για να δώσει αλκυλοπεροξυνιτριτικά (RONOO).

Τα οξειδωτικά στην πίσσα είναι πιο σταθερά και είναι κυρίως οργανικά, όπως η ρίζα σεμικουινόνης, που μπορεί να αντιδράσει με το οξυγόνο και να παράγει $\text{O}_2^{\cdot-}$. Η πίσσα περιέχει επίσης τη ρίζα υδροξυλίου ($\cdot\text{OH}$) και το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2). Η πίσσα του τσιγάρου που προέρχεται από τον καπνό περιέχει 10^{13} ελεύθερες ρίζες/gram και είναι επίσης ένας αποτελεσματικός παράγοντας χηλικής ένωσης με μέταλλα και μπορεί να προσδένει σίδηρο παράγοντας ημικουινόνη του Fe^{++} , η οποία μπορεί να παράγει H_2O_2 .

Οι ρίζες σύντομης διάρκειας ζωής στην αέρια φάση του καπνού μπορεί να καταστούν ακίνδυνες πολύ γρήγορα στο υγρό που επιστρώνει το επιθήλιο (ELF, epithelial lining fluid). Οι οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις όμως που συμβαίνουν στο

ELF, μπορούν εξαιτίας του καπνού να παράγουν αντιδρώσες μορφές οξυγόνου (ROs) για σημαντικό χρονικό διάστημα.

Η οξειδωτική επιβάρυνση από το κάπνισμα ενισχύεται περισσότερο στους πνεύμονες των καπνιστών με την απελευθέρωση ριζών οξυγόνου από την εισροή και ενεργοποίηση φλεγμονωδών λευκοκυττάρων, ουδετερόφιλων και μακροφάγων. Τα λευκοκύτταρα αυτά ελευθερώνουν αυξημένα ποσά οξειδωτικών όπως $O_2^{\cdot-}$ και H_2O_2 , σε σύγκριση με αυτά στους μη καπνιστές.

Συστατικά του δικτύου του συνδετικού ιστού του πνεύμονα, όπως η ελαστίνη και το κολλαγόνο, μπορεί να βλάπτονται απευθείας από τα οξειδωτικά του καπνού του τσιγάρου. Ο καπνός μπορεί επίσης να παρεμβληθεί στη σύνθεση της ελαστίνης και την επιδιόρθωσή της και μπορεί να αυξήσει την πρωτεολυτική βλάβη στον πνεύμονα και επομένως να ενισχύσει την ανάπτυξη εμφυσήματος.

Η αυξημένη επιθηλιακή διαπερατότητα είναι ένα από τα πρώτα αποτελέσματα του καπνού και μπορεί να ενισχύσει τη φλεγμονώδη διαδικασία, επιτρέποντας ευκολότερη πρόσβαση για φλεγμονώδεις και βλαπτικούς μεσολαβητές μεταξύ αίματος, διάμεσου ιστού και κυψελιδικού χώρου¹¹. Σε μελέτες *in vitro* και *in vivo*, δείχτηκε ότι η αυξημένη επιθηλιακή διαπερατότητα επάγεται από οξειδωτικά, μέσω απενεργοποίησης του κύριου πνευμονικού αντιοξειδωτικού, της γλουταθειόνης¹¹.

Κατά τη διάρκεια του καπνίσματος υπάρχει οξεία αύξηση στον αριθμό των ουδετερόφιλων που απομακρύνονται στην πνευμονική μικροκυκλοφορία. Σε μια σειρά πειραμάτων δείχτηκε ότι αυτό το φαινόμενο οφείλεται σε συστηματικό οξειδωτικό στρες που επηρεάζει την κυκλοφορία και άμεσα ή έμμεσα μέσω απελευθέρωσης κυτοκινών. Ακολουθώς, συστατικά του καπνού μπορούν να μεταβάλλουν την ουδετερόφιλη επούλωση του ενδοθηλίου με ρύθμιση προς τα άνω των ιντεγκρινών CD18. Η αυξημένη έκκριση των μορίων επούλωσης σε ζώα εκτεθειμένα στον καπνό του τσιγάρου μπορεί να είναι αποτέλεσμα των δευτερευόντων φλεγμονωδών επιδράσεων του καπνίσματος, μέσω της απελευθέρωσης των κυτοκινών, καθώς η απ' ευθείας έκθεση στον καπνό *in vitro* δεν παράγει αυξημένη έκφραση ουδετερόφιλων μορίων επούλωσης, ούτε ενισχύει την λειτουργική προσκόλληση. Γι' αυτό αρκετοί μηχανισμοί που εμπλέκουν οξειδωτικά προκαλούν ουδετερόφιλη απομάκρυνση στην πνευμονική μικροκυκλοφορία.

Στο πλάσμα των χρόνιων καπνιστών μειώνονται τα αντιοξειδωτικά ασκορβικό οξύ, βιταμίνη E, β-καροτένιο και σελήνιο¹⁴.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να καθοριστεί η σχέση του οξειδωτικού στρες με την ηλικία, το κάπνισμα και μερικές παραμέτρους της σπειρομέτρησης σε 20 εξεταζόμενους καπνιστές άνδρες και γυναίκες με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια. Τα αποτελέσματά μας συμφωνούν με προηγούμενες παρόμοιες μελέτες που έδειξαν ότι υπάρχουν συγκρίσιμα επίπεδα $H_2O_2 - E$ σε ομάδες καπνιστών και μη καπνιστών. Αυτό δείχνει ότι το κάπνισμα οδηγεί σε αλλαγές στο $H_2O_2 - E$ που επιστρέφει σε κανονικά επίπεδα σε υγιείς, μετά από μερικές ώρες. Η μέτρηση του $H_2O_2 - E$ μπορεί να βοηθήσει ώστε να δειχθεί ενισχυμένη παραγωγή ROS και μπορεί να ανιχνεύσει υψηλότερο κίνδυνο ανάπτυξης πνευμονικών ασθενειών σχετιζόμενων με το κάπνισμα. Χρειάζονται επιπλέον μελέτες για να επιβεβαιωθεί αυτό⁹.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΥΛΙΚΟ

Εξετάστηκαν 20 ασθενείς με ΧΑΠ, βαρείς καπνιστές οι οποίοι προσήλθαν στα εξωτερικά ιατρεία της Πνευμονολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και υποβλήθηκαν σε σπιρομέτρηση και μέτρηση προιόντων ελευθέρων ριζών δηλαδή ποσοτικό προσδιορισμό του οξειδωτικού στρες στον ορό του αίματος. Οι εξεταζόμενοι καπνιστές απάντησαν όλοι σε ερωτήσεις ενός πρωτοκόλλου που περιείχε: στοιχεία εξεταζομένου, επάγγελμα, έκθεση σε τοξικές ουσίες, χρόνος και είδος εργασίας, πακέτα τσιγάρων ανά χρόνο, ηλικία έναρξης καπνίσματος, οικογενειακό ιστορικό άσθματος, ατομικό αναμνηστικό, φάρμακα που έλαβε, προηγούμενες νοσηλείες, συμπτώματα αναπνευστικού, εξέταση θώρακος, σπιρομέτρηση, per os λήψη κορτικοειδών.

ΜΕΘΟΔΟΣ

Οι ενεργοί μεταβολίτες του οξυγόνου είναι μια ποικιλία ελεύθερων ριζών που χαρακτηρίζονται από τον μονό αριθμό ηλεκτρονίων που βρίσκονται στην εξώτερη τροχιά του οξυγόνου. Δεδομένης της εξαιρετικά μεγάλης χημικής τους αστάθειας, σχηματίζουν παράγωγα στο πλάσμα και τα κύτταρα, τα οποία παραμένουν χημικώς πολύ δραστικά έχουν αποτελεσματική οξειδωτική ικανότητα. Αυτά τα παράγωγα, που αντιδρούν με συγκεκριμένο χρωμοφόρο, σχηματίζουν ένα έγχρωμο συστατικό, που μπορεί να μετρηθεί φωτομετρικά με μέγιστη κορυφή απορρόφησης στα 505 nm και είναι ευθέως ανάλογο της συγκέντρωσής τους σύμφωνα με τους Lambert και Beer.

Μεθοδολογία: 20 εξεταζόμενοι καπνιστές με ΧΑΠ, προσήλθαν στα εξωτερικά ιατρεία της Πνευμονολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας.

FRAS: Αναλυτικό σύστημα ελεύθερων ριζών¹⁵

Το FRAS επιτρέπει τον καθορισμό των ελεύθερων ριζών με τη χρήση μιας σταγόνας αίματος τριχοειδούς. Η δοκιμή επιτρέπει τη μέτρηση της οξειδωτικής ικανότητας του πλάσματος σε κάθε ζώντα οργανισμό. Αυτό καθορίζεται κυρίως μέσω της διαδικασίας απελευθέρωσης ελευθέρων ριζών από το οξυγόνο. Η παραγωγή των ριζών είναι φυσιολογικό γεγονός κατά τη διάρκεια μεταβολικών διαδικασιών σε ζώντες οργανισμούς.

Το σύστημα FRAS περιλαμβάνει: 1. Το σχετικό φωτόμετρο, 2. Μια φυγόκεντρο, 3. Μια τυποποιημένη συσκευασία (κιτ) αντιδραστηρίων για 50 μονές, αναλώσιμες δοκιμές.

Διαδικασία της δοκιμής¹⁵

Συλλογή δείγματος αίματος, 20μl. Το βάζουμε στο προετοιμασμένο ρυθμιστικό. Ανακινούμε για ν' αναμιχθεί. Το εγχύουμε στην κυβέττα. Προσθέτουμε μια σταγόνα χρωμογόνου. Ανακινούμε για ν' αναμιχθεί. Φυγοκεντρούμε για 1 λεπτό. Αναλύουμε 2Χ3 λεπτά. Εκτυπώνουμε τα αποτελέσματα.

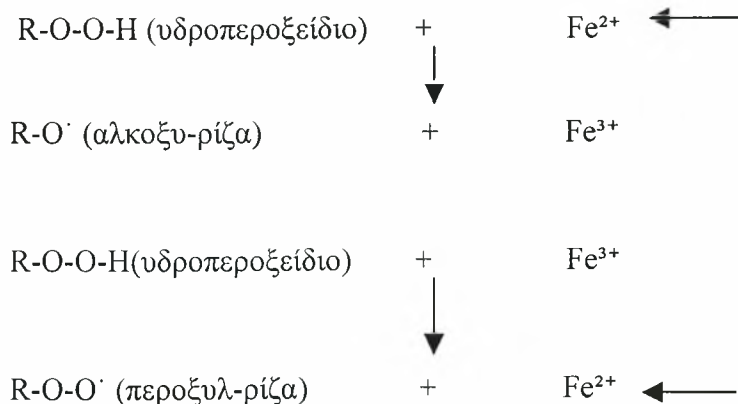
Αρχές της δοκιμής¹⁵

Οι ελεύθερες ρίζες έχουν πολύ μικρό χρόνο ημιζωής, είναι ασταθείς και αντιδρούν μόνο τοπικά όταν παράγονται, επομένως η μέτρηση στην κλινική διάγνωση δεν είναι δυνατή. Το FRAS δε μετρά ακριβώς ελεύθερες ρίζες, αλλά μετρά τα προϊόντα της οξείδωσης που οι ελεύθερες ρίζες έχουν παράγει στο κύτταρο, οξειδωτικά λιπίδια,

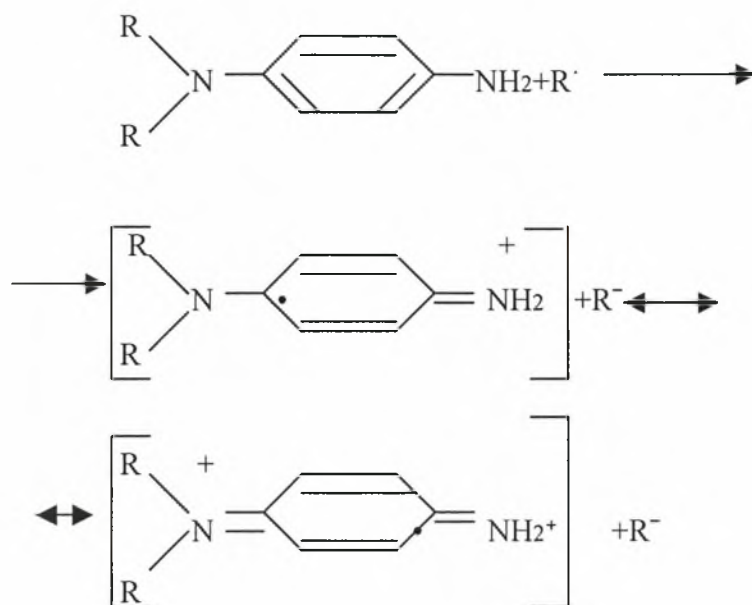
πρωτείνες, αμινοξέα κλπ. Αυτά τα προϊόντα (υδροπεροξειδία), αποβάλλονται από το κύτταρο, εισέρχονται στην κυκλοφορία του αίματος, είναι σταθερά και ανάλογα με τον αριθμό των ελεύθερων ριζών που τα παρήγαγαν. Όταν αναμιγνύουμε τη σταγόνα αίματος με το αντιδραστήριο, μεταμορφώνονται τα υδροπεροξειδία ξανά σε ελεύθερες ρίζες και παραμένουν παγιδευμένες και κοκκινίζουν το ίδιο το αντιδραστήριο. Η ένταση του χρώματος είναι ανάλογη με την ποσότητα των ελεύθερων ριζών που είναι παρούσες. Το φωτόμετρο μετρά την ένταση του χρώματος δίνοντας μια τιμή που εκφράζεται σε μονάδες Carrateli. Η μονάδα Carrateli δίνει το μέτρο του οξειδωτικού στρες. Οι φυσιολογικές τιμές είναι κάτω των 250 μονάδες Carrateli. Οι οριακές τιμές είναι μεταξύ 250 και 300. Οι τιμές οξειδωτικού στρες είναι μεταξύ 300 και 400. Οι ισχυρές τιμές οξειδωτικού στρες είναι πάνω από 400.

Η μέθοδος βασίζεται στην μεταπρωτική ικανότητα των μετάλλων να καταλύουν, από τη στιγμή που αυτά τα μέταλλα ελευθερώνονται από τις χηλικές μορφές πρωτεϊνών μεταφορέων τους και από το απόθεμα όπου βρίσκονται φυσιολογικά στο πλάσμα και στα κύτταρα, αντιδράσεις από τους σχηματισμούς ελευθέρων ριζών σύμφωνα με την αντίδραση Φέντον⁴⁰: $H_2O_2 + Fe^{2+} + Fe^{3+} + OH^{\cdot} + OH^{\cdot}$

Ή την διάδοση / αναπαραγωγή ως ακολούθως⁴⁰:



Οι ρίζες που παράγονται, των οποίων η ποσότητα είναι ευθέως ανάλογη προς την ποσότητα των περοξειδίων που είναι παρόντα στο πλάσμα, έχουν παγιδευτεί χημικά από μόρια φαινολικού παράγωγου, ως ακολούθως¹⁵:



Το οποίο τα μετατρέπει σε ιόντα, τα οποία γίνονται ρίζες δίνοντάς τους έναν χρωματισμό που μπορεί να μετρηθεί φωτομετρικά. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε συμβατικές μονάδες (Carrateli) και 1 μονάδα Carrateli είναι ίση με μια συγκέντρωση περοξειδίου του υδρογόνου 0,08mg%.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Με βάση τα στοιχεία του πρωτοκόλλου σύμφωνα με τα οποία εξετάστηκαν 20 ασθενείς με Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια, οι οποίοι ήταν 18 άνδρες και 2 γυναίκες με μέση ηλικία 66,45 χρόνια, βαρείς καπνιστές $M.O.=.67,5$ yrs, με μειωμένες τις μέσες τιμές: $FEV1=42,90$, $FVC=58,95$, $FEV1/FVC=59,00$, $MEF=21,55$, $PEF=43,65$ και αυξημένα d-ROMs , $M.O.=336$ Unit/Carrateli υπολογίστηκε η μέση τιμή των $FEV1=42,90$ που δείχνει πως οι ασθενείς με Χ.Α.Π. παρουσιάζουν μειωμένη τιμή του $FEV1$, σε κάθε κατάσταση η οποία μειώνει τη ζωτική χωρητικότητα, αλλά είναι ιδιαίτερα μειωμένος όταν υπάρχει διάχυτη απόφραξη των αεραγωγών.

Η μέση τιμή της $FVC=58,95$ είναι αρκετά μειωμένη σε απόφραξη αεραγωγών. Αν και η κύρια βλάβη είναι η μείωση της ροής του αέρα, η μείωση της ζωτικής χωρητικότητας είναι σχεδόν αναπόφευκτη. Σε αποφρακτικού τύπου πνευμονοπάθεια όταν δηλαδή περιορίζεται η ροή της εκπνοής, η σχέση $FEV1/FVC$ είναι μειωμένη γιατί δεν αποβάλλεται μεγάλο ποσοστό ζωτικής χωρητικότητας σε τόσο μικρό χρονικό διάστημα 1". Σε αυτές τις περιπτώσεις αυξάνεται ο υπολειπόμενος όγκος αέρα και η ζωτική χωρητικότητα μπορεί να είναι φυσιολογική ή μειωμένη, αλλά επειδή ο απόλυτος αριθμός του $FEV1$ θα είναι μειωμένος, γι' αυτό μειώνεται και η σχέση $FEV1/FVC$.

Ιδιαίτερα η Χ.Α.Π. διακρίνεται σε ήπια όταν ο λόγος $FEV1/FVC$ είναι μικρότερος του 70% και $FEV1$ μεγαλύτερο ή ίσο του 80% του προβλεπομένου, μέτρια όταν α) ο λόγος είναι μικρότερος του 70% , 50% μικρότερο ή ίσο του $FEV1$ μικρότερο του 80% β) όταν ο λόγος είναι μικρότερος του 70% , 30% είναι μικρότερο ή ίσο $FEV1$ μικρότερο του 30%, σοβαρή όταν ο λόγος είναι μικρότερος του 70% και $FEV1$ είναι μικρότερο του 30%. Σε νεαρά φυσιολογικά άτομα ο μέγιστος εκπνεόμενος όγκος αέρα (FEV) αποτελεί το 80% της ζωτικής χωρητικότητας. Με την πάροδο της ηλικίας ο λόγος $FEV1/FVC$ μειώνεται. Έτσι, από την ηλικία των 55 ετών και πάνω ο παραπάνω λόγος φθάνει γύρω στα 65-70%. Στους 20 ασθενείς η μειωμένη μέση τιμή του λόγου $FEV1/FVC=59,00$ δείχνει μεικτού τύπου πνευμονοπάθεια όταν $FEV1$ είναι μειωμένος και FVC είναι επίσης μειωμένος, αποφρακτικού τύπου πνευμονοπάθεια όταν $FEV1$ είναι μειωμένη ενώ η FVC μπορεί να είναι ακόμη και φυσιολογική, περιοριστικού τύπου πνευμονοπάθεια όταν FVC ιδιαίτερα μειωμένος ενώ ο $FEV1$ μπορεί να είναι λίγο μειωμένος.

Η μέση τιμή της MEF ή FEF 25-75%, των 20 εξεταζομένων είναι $MEF=21,55$ και είναι ιδιαίτερα χρήσιμη στις οριακές περιπτώσεις απόφραξης των αεραγωγών και όπου

υπάρχουν ενδείξεις μεικτής διαταραχής του αερισμού. Η μέγιστη αιχμή ροής (PEF) στους 20 ασθενείς είναι $PEF=43,65$ και αποτελεί ένδειξη μειωμένης αναπνευστικής λειτουργίας που συνδυαζόμενο με τα άλλα ευρήματα και την κλινική εξέταση οδηγεί στη διάγνωση της διαταραχής. Για την μέτρηση της κορυφαίας ροής ή αιχμής ροής ή μέγιστης ροής, χρησιμοποιούμε το ροόμετρο. Ο εξεταζόμενος εκτελεί με αυτό τρεις ή τέσσερις φορές, μέγιστη εισπνοή, εφαρμόζει τα χείλη του στο επιστόμιο και εκτελεί μέγιστη εκπνευστική προσπάθεια. Εμείς κρατούμε την καλύτερη τιμή (πίνακες 1, 2).

Δεν βρέθηκε συσχέτιση (α) μεταξύ ηλικίας και καπνίσματος, (β) μεταξύ ηλικίας και FEV_1 % προβλεπόμενης τιμής, (γ) μεταξύ ηλικίας και FVC % προβλεπόμενης τιμής, (δ) μεταξύ ηλικίας και PEF % προβλεπόμενης τιμής, (ε) μεταξύ ηλικίας και $(FEV_1 / FVC)100$, (στ) μεταξύ ηλικίας και MEF % προβλεπόμενης τιμής, (η) μεταξύ καπνίσματος και οξειδωτικού στρες (πίνακας 3 και διαγράμματα α, β, γ, δ, ε, στ και η).

Υψηλές τιμές οξειδωτικού στρες βρέθηκαν σε ασθενείς με Χ.Α.Π. Το οξειδωτικό στρες σχετίζεται με την ηλικία των πασχόντων. $r = 0,543$ ($p = 0,013$), [πίνακας 3, διαγράμματα (ζ) ηλικίας d – ROMs]. Στους καπνιστές τα αντιοξειδωτικά είναι πολύ μειωμένα και αυξάνονται τα επίπεδα των ελεύθερων ριζών.

Από τους 20 εξετασθέντες καπνιστές, άνδρες και γυναίκες, διαπιστώθηκε ότι όλοι είχαν ιστορικό χρόνιας βρογχίτιδας και έπαιρναν φάρμακα από το αναπνευστικό (πίνακας 4).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα αποτελέσματα της εργασίας μας συνηγορούν για αυξημένο H₂O₂ σε ασθενείς με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (Χ.Α.Π.) και σε καπνιστές.

Το σύστημα FRAS μέτρησε προϊόντα οξειδωσης, δηλαδή H₂O₂ που είναι ανάλογα με τον αριθμό των ελεύθερων ριζών που τα παράγαν.

Σε 20 ασθενείς, άντρες και γυναίκες, ηλικίας 42-82 ετών, το οξειδωτικό στρες κυμάνθηκε από 234 έως 496 μονάδες Carrateli.

Το οξειδωτικό στρες είναι χαρακτηριστικό στην παθογένεση της Χ.Α.Π., από τη στιγμή που καταλήγει σε απενεργοποίηση των αντιπροτεΐναισών σε επιθηλιακό τραυματισμό των πνευμόνων, υπερέκκριση βλέννας, αυξημένη εισροή ουδετερόφιλων στους πνεύμονες, ενεργοποίηση μεταγραφικού παράγοντα και γονιδιακή έκφραση προφλεγμονωδών διαμεσολαβητών. Τα αντιοξειδωτικά όχι μόνο πρέπει να προστατεύουν εναντίον των τραυματικών βλαβών των οξειδωτικών, αλλά και να μεταβάλλουν τα φλεγμονώδη φαινόμενα που έχουν κεντρικό ρόλο στην παθογένεση της Χ.Α.Π. Μετά από σπυρομέτρηση που έγινε στους 20 εξετασθέντες, βρέθηκε ο μέσος όρος FEV₁ = 42,90 που σημαίνει ότι ασθενείς με Χ.Α.Π. παρουσιάζουν αυξημένη παραγωγή οξειδωτικών στους αεραγωγούς.

Αρκετά δραστικά είδη οξυγόνου ενεργοποιούνται σε βιολογικές διαδικασίες που αφορούν την κυτταρική αναπνοή και κατά τη διάρκεια αναπνευστικής έξαρσης φαγοκυττάρων¹⁶. Η εξωγενής προσβολή από ελεύθερες ρίζες στον αναπνευστικό αγωγό μπορεί να προέρχεται από μολυσματικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες, καπνό τσιγάρου, ναρκωτικά, τοξικά συστατικά. Οι οξειδωτικές ρίζες προκαλούν ζημιά σε λιπίδια πρωτεϊνών, υδατάνθρακες, ένζυμα, νουκλεϊκά οξέα και άλλα βιολογικά συστατικά. Αυτά εξισορροπούνται από διάφορους αμυντικούς μηχανισμούς στο σώμα, των οποίων η δράση ενισχύεται από εξωγενή αντιοξειδωτική παροχή. Τα οξειδωτικά μπορεί να παίζουν έναν ρόλο σε ασθενείς με Χ.Α.Π, από τη στιγμή που η πλειοψηφία αυτών των ατόμων είναι βαρείς καπνιστές και δείχνουν αυξημένα ποσά ενεργοποιημένων φαγοκυττάρων στο αναπνευστικό τους σύστημα. Αυτό καθορίζει την απενεργοποίηση του συστήματος αντιπροτεάσης, αύξηση της παραγωγής ελαστάσης και ελάττωση της επούλωσης του συνδετικού ιστού, οδηγώντας έτσι σε δομικές αλλαγές που χαρακτηρίζουν την Χ.Α.Π.

Ο μέσος όρος της FVC είναι 58,95 στους 20 ασθενείς, που μπορεί να σημαίνει απόφραξη αεραγωγού. Αν και η κύρια βλάβη είναι η μείωση της ροής του αέρα, η μείωση της ζωτικής χωρητικότητας είναι σχεδόν πάντα αναπόφευκτη.

Ο μέσος όρος του λόγου $FEV_1 / FVC = 59$, είναι μειωμένος και δείχνει διάχυτη απόφραξη αεραγωγών.

Όταν FEV_1 και FVC είναι και τα δύο μειωμένα, δείχνουν ασθένειες περιοριστικού τύπου των πνευμόνων.

Ο FEV_1 μειώνεται σε κάθε κατάσταση η οποία μειώνει τη ζωτική χωρητικότητα, αλλά είναι ιδιαίτερα μειωμένος όταν υπάρχει διάχυτη απόφραξη των αεραγωγών¹. Η σχέση μεταξύ FEV_1 και FVC είναι πολύ χρήσιμη στην κλινική καθώς είναι, κατά ένα μέρος, ανεξάρτητη από το ύψος του σώματος και την ηλικία.

Τα ουδετερόφιλα φαίνεται ότι είναι σημαντικά στην παθογένεση της Χ.Α.Π. Προηγούμενες επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν μια σχέση μεταξύ αριθμού κυκλοφορούντων ουδετερόφιλων και του FEV_1 και πράγματι, της αλλαγής στον αριθμό περιφερικού αίματος ουδετερόφιλων και της αλλαγής της ροής αέρα με την πάροδο του χρόνου.

Είναι ευρέως αναγνωρισμένο ότι μόνο ένα ποσοστό 15-20% των καπνιστών είναι ευαίσθητοι στα αποτελέσματα του καπνίσματος, παρουσιάζουν γρήγορη μείωση FEV_1 και αναπτύσσουν ΧΑΠ⁹. Μια αιτία είναι ένας γενετικός παράγοντας⁹. Έχει δειχθεί ότι πολυμορφισμοί διαφόρων γονιδίων εμφανίζονται συχνότερα σε ασθενείς που αναπτύσσουν Χ.Α.Π., παρά σε μη καπνιστές. Κάποιοι από τους πολυμορφισμούς αυτούς, όπως η σχέση μεταξύ TNF-α πολυμορφισμού (TNF2), ο οποίος μπορεί να σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα TNF-α σε απάντηση της φλεγμονής και στην ανάπτυξη χρόνιας βρογχίτιδας⁹. Με τις συνέπειες του καπνίσματος σχετίζεται ένας πολυμορφισμός που βρίσκεται στο γονίδιο για τη μικροσωματική υδρολάση του εποξειδίου, που είναι ένα ένζυμο του μεταβολισμού ενεργών εποξειδίων που είναι παρόντες στον καπνό του τσιγάρου. Το ποσοστό των ατόμων με χαμηλές μικροσωματικές υδρολάσες του εποξειδίου (ομοζυγώτες) ήταν σημαντικά υψηλότερο σε ασθενείς με ΧΑΠ και σε μια υποομάδα με εμφύσημα (Χ.Α.Π., 22% εμφύσημα, 19%), σε σύγκριση με άτομα ελέγχου (6%)⁹. Πιθανόν, κάποιοι πολυμορφισμοί σε γονίδια αντιοξειδωτικών ενζύμων, μπορεί να επιτρέπουν σε κάποια άτομα να αναγνωρίζονται ως ευαίσθητα στα αποτελέσματα του καπνού του τσιγάρου.

Η μόλυνση του αέρα, ως αφορμή για εξάρσεις της Χ.Α.Π. έχει αναγνωριστεί εδώ και πάνω από 50 χρόνια και οδήγησε σε ανάπτυξη ποιοτικών προτύπων για τον αέρα σε πολλές χώρες που μείωσαν τα επίπεδα των ρυπαντών του αέρα που προέρχονται από την καύση ορυκτών καυσίμων, όπως ο μαύρος καπνός και το διοξείδιο του θείου¹⁷. Πάντως η πρόσφατη δραματική αύξηση στην κίνηση των αυτοκινήτων παράγει μια σχετική αύξηση των επιπέδων των νεότερων ρυπαντών, όπως το όζον και μικροσκοπικών ρυπαντών <10 μικρομέτρων σε διάμετρο. Πολυάριθμες επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν σχέσεις μεταξύ των επιπέδων των αέριων ρυπαντών και αρνητικών επιδράσεων στην υγεία, όπως οι εξάρσεις ασθενειών των αεραγωγών ή και θανάτων ακόμη από αναπνευστικά και καρδιαγγειακά αίτια. Η αποσαφήνιση των μηχανισμών των επιβλαβών επιδράσεων αυτών των ρυπαντών πρέπει να επιτρέψει βελτιωμένη εκτίμηση του κινδύνου για ασθενείς με ασθένειες των αεραγωγών που είναι ευαίσθητοι στις επιδράσεις αυτών των αέριων ρυπαντών.

Συμπέρασμα.

Τα αποτελέσματα της εργασίας μας έδειξαν ότι υπάρχει μεγάλη συσχέτιση μεταξύ ηλικίας και οξειδωτικού στρες σε ασθενείς με Χ.Α.Π. Τα αποτελέσματα της εργασίας μας επιβεβαιώνουν προηγούμενες μελέτες⁹.

Πίνακας 1

Αποτελέσματα σπιρομέτρησης (fev1,fvc,pef,fev1/fvc, mef,) και μέτρησης οξειδωτικού στρες με το d-ROM test σε ασθενείς,σε σχέση με το φύλο ,την ηλικία και το κάπνισμα.

φύλο	Ηλικία έτη	Κάπνισμα pys	fev1 % προβλ. τιμής	fvc% προβλ τιμής	pef % προβλ τιμής	fev1/ fvc επί 100	Mef % προβλ τιμής	d-ROMs Carrateli
A	42	31,25	76	83	79	76	52	276
A	47	80	25	38	29	55	14	268
A	52	96	21	49	34	35	11	330
A	52	20	23	34	49	56	9	234
A	58	92	14	30	12	49	5	218
A	63	55	58	95	67	47	20	346
A	66	66	27	45	40	47	11	392
A	67	46	45	59	52	59	14	272
Θ	67	15	32	55	33	48	13	384
A	69	162	69	82	43	64	38	284
A	69	100	44	49	30	69	28	264
A	69	30	34	45	42	77	20	352
Θ	71	45	40	56	37	59	16	400
A	72	100	61	96	42	49	26	392
A	74	85,5	61	69	60	72	34	296
A	75	93	25	37	37	70	7	496
A	77	60	54	57	63	72	35	292
A	78	86	41	62	42	50	16	484
A	79	60	51	50	52	76	40	380
A	82	27,5	57	88	30	50	22	352

Ανάλυση όρων

Φύλο: Άρρεν=A Θήλυ=Θ

Ηλικία σε έτη

Κάπνισμα : σε pack/years δηλαδή αριθμός πακέτων τσιγάρων την ημέρα επί έτη καπνίσματος

fev1: ο βίαια εκπνεόμενος όγκος σε ένα δευτερόλεπτο (σε ποσοστό επί τοις εκατό της προβλεπόμενης τιμής).

fvc: ο όγκος του αέρα που εκπνέεται κατά τη διάρκεια μιας βίαιης εκπνοής που έχει αρχίσει μετά από μια βαθιά εισπνοή και που τελειώνει στον υπολειπόμενο όγκο(σε ποσοστό επί τοις εκατό της προβλεπόμενης τιμής).

pef: η μέγιστη ροή που παρατηρείται κατά τη διάρκεια βίαιης εκπνοής που αρχίζει από μια πλήρη διάταση του πνεύμονα (σε ποσοστό επί τοις εκατό της προβλεπόμενης τιμής).

fev1/ fvc: ο λόγος fev1/ fvc (επί εκατό)

mef: σχέση ροής όγκου (σε ποσοστό επί τοις εκατό της προβλεπόμενης τιμής).

d-ROMs: τιμή οξειδωτικών σε τιμές Carrateli.

Πίνακας 2

Αποτελέσματα αναπνευστικής λειτουργίας, % προβλεπόμενες τιμές (δηλαδή σε σχέση με τη φυλή το φύλο, την ηλικία, το ύψος· φυσιολογικές τιμές κυμαίνονται περίπου μεταξύ 80 – 100%· τιμές κάτω από 80% δείχνουν απόφραξη ή περιορισμό), μέση τιμή (average) και τυπική απόκλιση (S.D.) στις παραμέτρους της σπιρομέτρησης.

ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ		
% ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ		
	ΜΕΣΗ ΤΙΜΗ	S.D.
FEV1	42,90	17,57
FVC	58,95	20,28
FEV1/FVC	59,00	12,26
MEF	21,55	12,68
PEF	43,65	15,41

Πίνακας 3

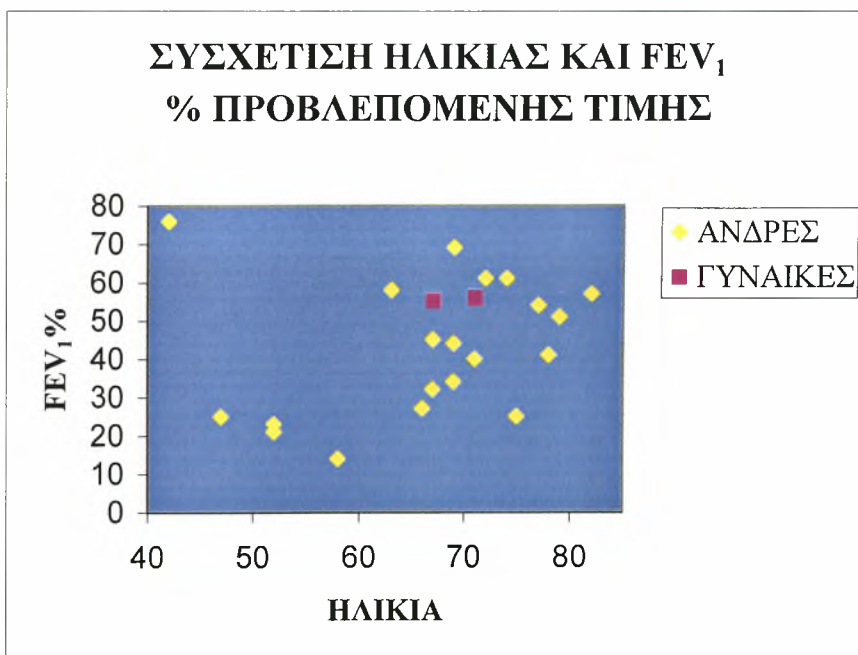
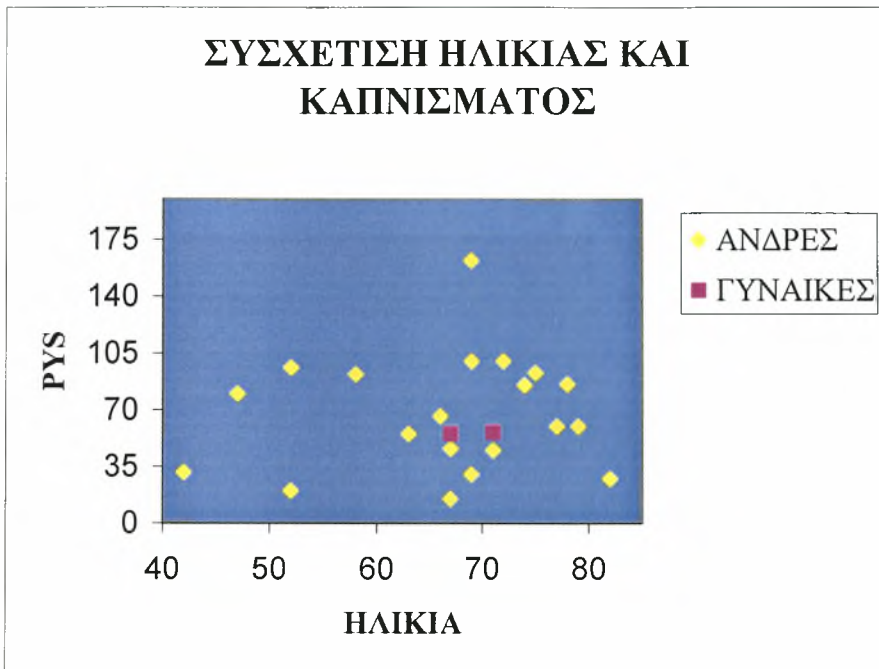
Συσχετίσεις της ηλικίας με το φύλο, το κάπνισμα, το % της προβλεπόμενης τιμής για την fev1, την fvc, την fev1/fvc ,την pef,την mef, και τέλος η συσχέτιση της ηλικίας με τα d-ROMs.

Επιχειρήθηκε να βρεθεί αν υπάρχει συσχέτιση των στοιχείων μεταξύ τους με τη χρήση του στατιστικού προγράμματος SPSS 0.8. Το μέτρο συσχέτισης δίνεται με τη χρήση του συντελεστή Pearson.

		ΦΥΛΟ	ΗΛΙΚΙΑ	ΚΑΠΝΙΣΜΑ	FEV1	FVC	PEF	FEV1/ FVC	MEF	d- ROMs
		% ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗΣ ΤΙΜΗΣ								
ΗΛΙΚΙΑ	Pearson Correlation	-,079	1,000	,105	,236	,207	-,082	0,196	0,081	0,543
	Sig. (2- tailed)	,741		,659	,317	,382	,731	,408	,733	,013
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20

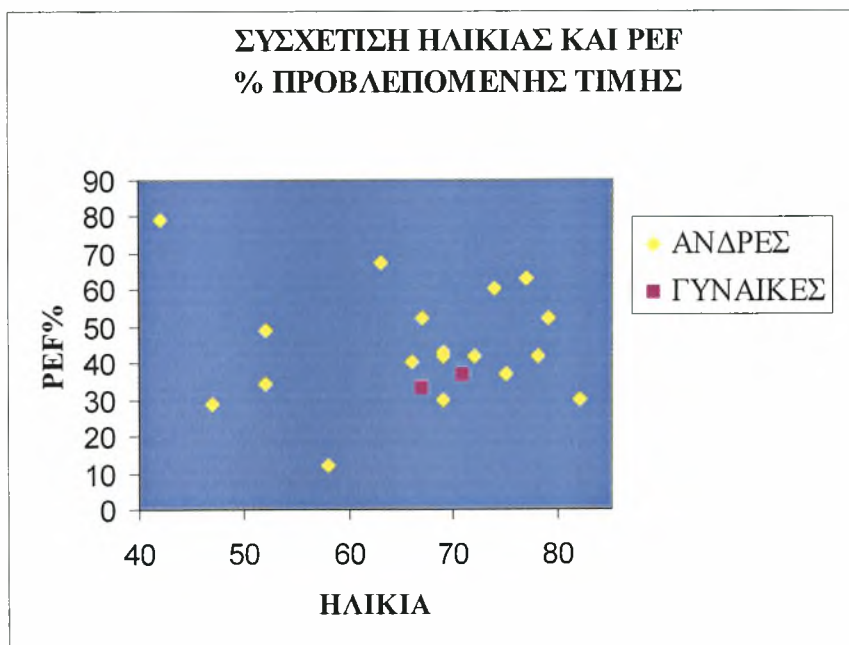
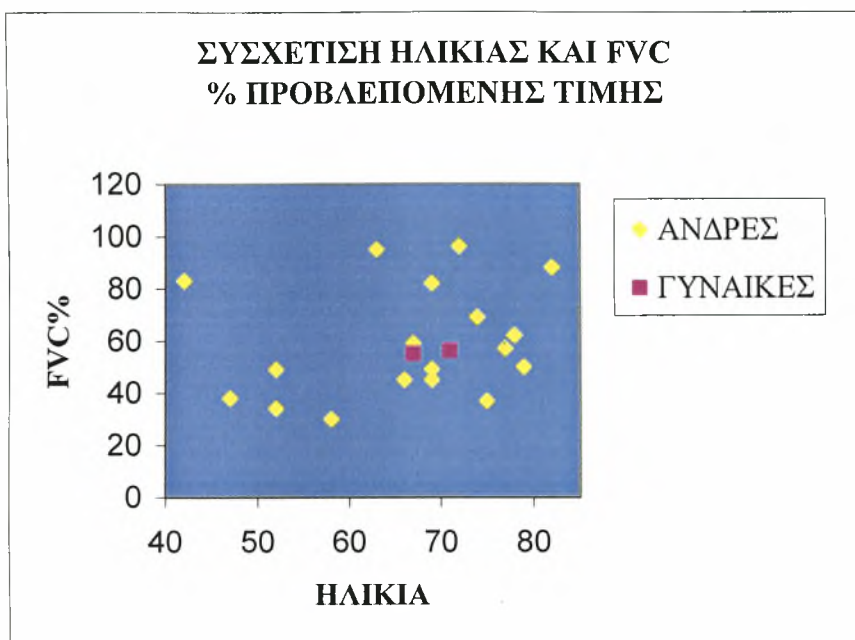
Οι συσχετίσεις που παρουσιάζονται στον πίνακα 3, φαίνονται στα αντίστοιχα διαγράμματα που ακολουθούν.

Αποτελέσματα αναπνευστικής λειτουργίας, % προβλεπόμενες τιμές (δηλαδή σε σχέση με τη φυλή το φύλο, την ηλικία, το ύψος· φυσιολογικές τιμές κυμαίνονται περίπου μεταξύ 80 – 100%· τιμές κάτω από 80% δείχνουν απόφραξη ή περιορισμό), μέση τιμή (average) και τυπική απόκλιση (S.D.) στις παραμέτρους της σπιρομέτρησης.

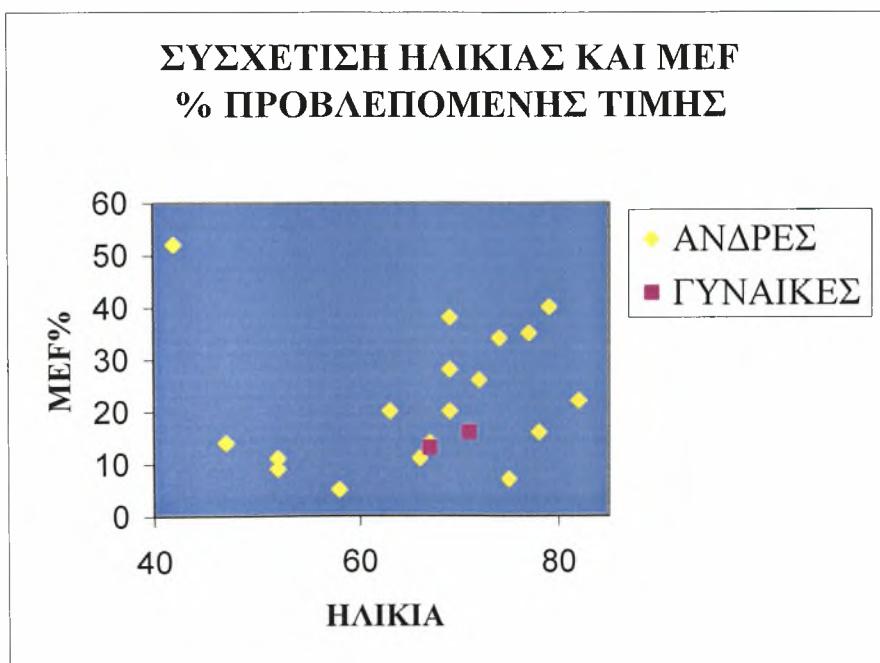
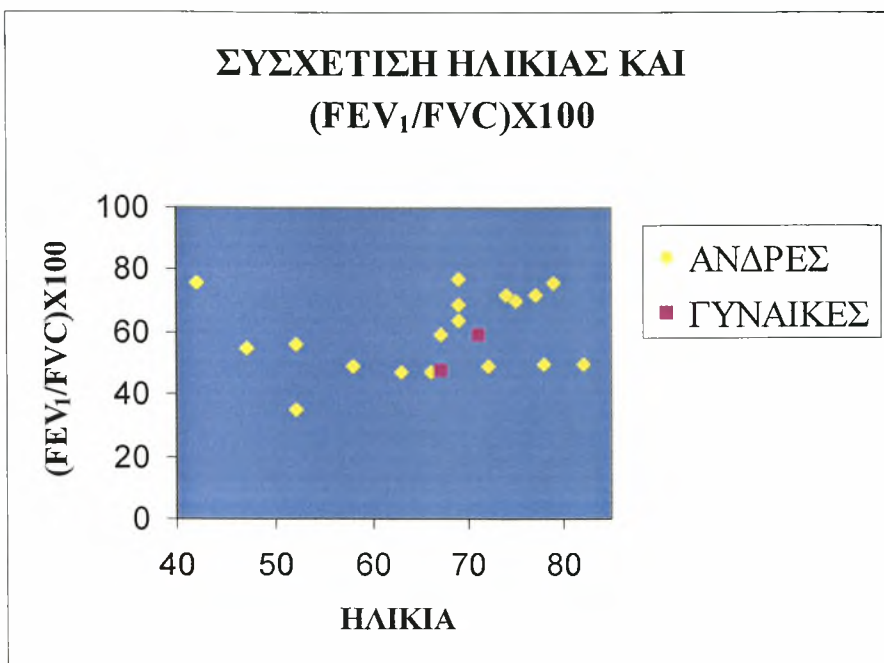


Διάγραμμα (α) Συσχέτιση Ηλικίας και Καπνίσματος

(β) Συσχέτιση ηλικίας και FEV₁ % προβλεπόμενης τιμής

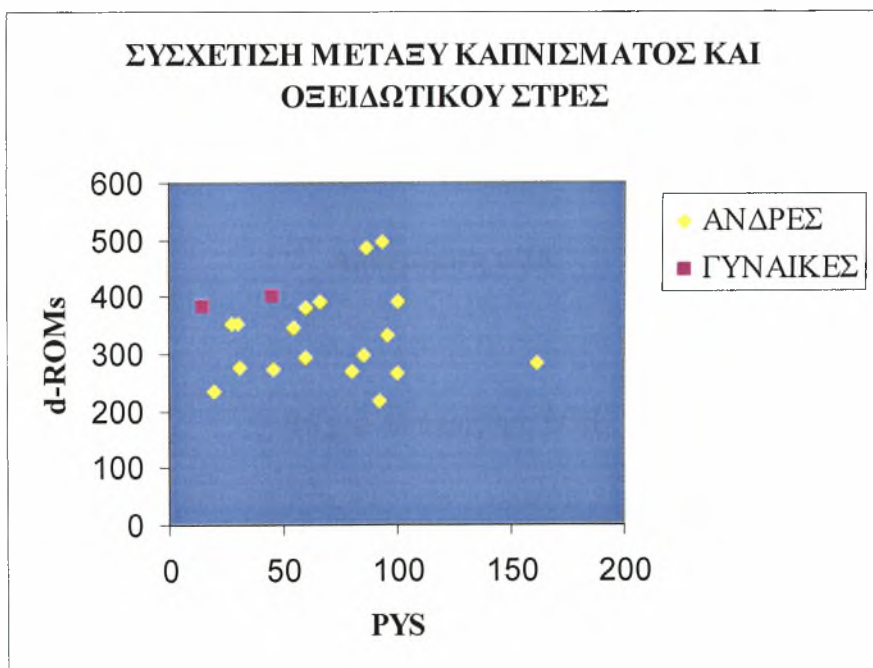
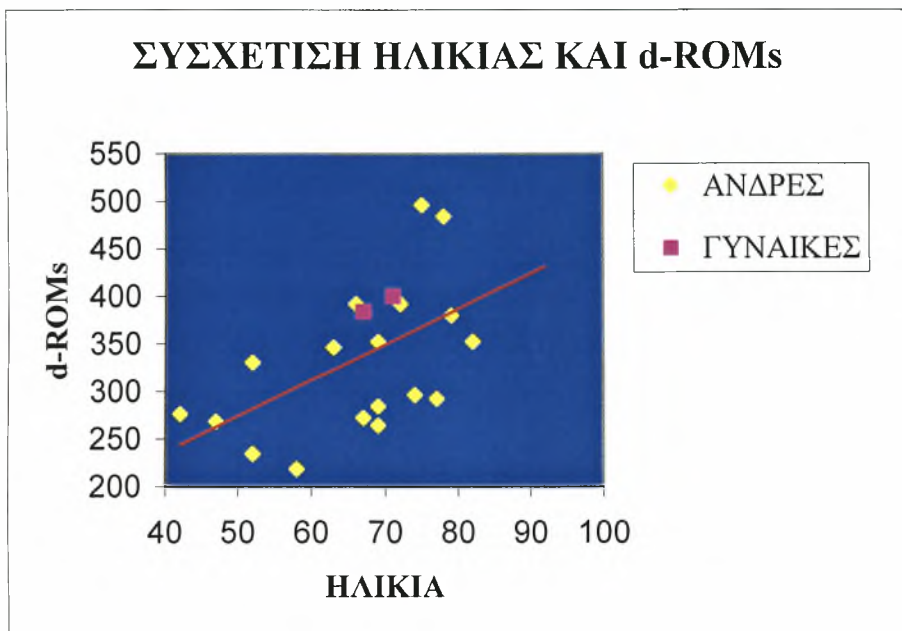


**Διάγραμμα (γ) Συσχέτιση ηλικίας και FVC % προβλεπόμενης τιμής
(δ) Συσχέτιση ηλικίας και PEF % προβλεπόμενης τιμής**



Διάγραμμα (ε) Συσχέτιση ηλικίας και (FEV₁/FVC)X100

(στ) Συσχέτιση ηλικίας και ΜΕF % προβλεπόμενης τιμής



Διάγραμμα (ζ) Συσχέτιση ηλικίας και d-ROMs

(η) Συσχέτιση μεταξύ καπνίσματος και οξειδωτικού στρες

Πίνακας 4: Χαρακτηριστικά 20 εξετασθέντων (18 ανδρών και 2 γυναικών).

Σύνολο εξετασθέντων	Άνδρες	Γυναίκες
20	18	2
Ηλικία (έτη)	42 έως 82	67 , 81
Κάπνισμα (pys)	(15 – 162)	(15 , 45)
	Βήχας 7/18	
Ιστορικό χρόνιας βρογχίτιδας	Απόχρεμψη 6/18	Απόχρεμψη 1 / 2
	Βήχας-Απόχρεμψη 5/18	Βήχας – Απόχρεμψη 1 / 2
Φάρμακα από το αναπνευστικό	18 / 18	2 / 2
Προηγούμενες νοσηλείες	5 / 18	0 / 2

Συσχετίσεις της ηλικίας με το φύλο, το κάπνισμα, το % της προβλεπόμενης τιμής για την fev1, την fvc, την fev1/fvc ,την ref,την mef, και τέλος η συσχέτιση της ηλικίας με τα d-ROMs.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Νόσοι του αναπνευστικού συστήματος, R. A. L. Brewis, 4^η έκδοση, εκδόσεις 'Γρ. Παρισιάνος', Μαρία Γρ. Παρισιάνου.
2. Συνοπτική Φυσιολογία του Ανθρώπου. J. G. McGeown. Μετάφραση-επιμέλεια: Πασχάλης-Αδάμ Μολυβδάς, Κωνσταντίνος Γουργουλιάνης, Αποστολία Χατζηευθυμίου. Ιατρικές Εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης.
3. Δοκιμή πνευμονικής λειτουργίας, Rubens Cherniak, MD, καθηγητής και πρόεδρος, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο της Manitoba, Winipeg, Καναδάς. Μετάφραση-επιμέλεια: Δρ. Γ. Ι. Μπαλτόπουλος, Παθολόγος. Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδη, Αθήνα, 1983.
4. Κονιασικάι επαγγελματικά πνευμονοπάθειαι, Κωνσταντίνου Γ. Καραπιστόλη, Διευθυντού κλάδου υγειονομικών υπηρεσιών Ιδρύματος Κοινωνικών Ασφαλίσεων, εκδόσεις Γρηγόριος Κ. Παρισιάνος, Αθήνα 1970.
5. Is Oxidative Stress Central to the Pathogenesis of COPD? W. MacNee, I. Rahman, (2001).
6. Oxidative stress, antioxidant status, and the contracting diaphragm. Lawler JM, Powers SK., USA. Can. J. Appl. Physiol. (1998) ;23(1):23-55.
7. Exercise at old age: does it increase or alleviate oxidative stress? Ji LL. 53706, USA. N Y, Acad Sci (2001) ;928:236-47.
8. Evidence of oxidative stress in asthma and COPD: potential inhibitory effect of theophylline. H. Tsukagoshi, Y. Shimizu, S. Iwamae, T. Hisada, T. Ishizuka, K. Iizuka, K. Dobashi, M. Mori., Japan. Respiratory Medicine, Vol. 94, No 6, (2000). Scotland
9. Oxidants and Antioxidants as Therapeutic Targets in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. William MacNee and Irfan Rahman. Respiratory Medicine, Scotland.
10. Lipid Peroxidation and Tissue Damage. Chrisostomos Mylonas, Department of Pharmacology, University of Leeds, UK, and Demetrios Kouretas, Greece. In vivo, (1999) 13:295-310.
11. Oxidants/Antioxidants and COPD. William MacNee, MD. University of Edinburgh, Scotland, UK. Chest (2000) 117:303S-317S.
12. Isoprostanes: an overview and putative roles in pulmonary pathophysiology. L. J. Janssen. Asthma Research Group, Father Sean O'Sullivan Research Center, St. Joseph's Hospital, and Department of Medicine, Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 280 (2001): L1067-L1082.

13. Detection of Free Radicals in Aqueous Extracts of Cigarette Tar by Electron Spin Resonance. Lun-Yi-Zang, Koni Stone, William Pryor, *Free Radical Biology and Medicine*, (1995) 2:161-167.
14. Effects of tobacco smoking on plasma selenium, zinc, copper and iron concentrations and related antioxidative enzyme activities. Abdurrahim Kocyigit, Ozcan Erel, Selahattin Gur. *Clinical Biochemistry* 34 (2001)629-633.
15. Diagnostic Aspects of the d-ROMs Test – FRAS, U. Cornelli, Aging Institute, HTML document.
16. Oxidant/antioxidant imbalance: role in the pathogenesis of COPD. Sanguinetti CM., *Respiration* (1992) ;59Suppl.1:20-3.
17. Exacerbations of COPD: environmental mechanisms. MacNee W., Donaldson K., *Chest* (2000) ;117(5 Suppl. 2):390S-7S.
18. Επίτομη πνευμονολογία, Δημήτριος Α. Πατάκας, Αν. Καθηγητής Πνευμονολογίας του Α.Π.Θ., University Studio Press, Θεσσαλονίκη 1994.
19. Πνευμονική παθοφυσιολογία - τα ουσιώδη, John B. West, MD, PhD, 3^η και 4^η έκδοση, εκδόσεις Williams & Wilkins.
20. Oxidative stress and lung inflammation in airways disease. William MacNee, UK. *European Journal of Pharmacology* 429 (2001) 195-207.
21. Increased exhalation of Hydrogen peroxide in healthy subjects following cigarette consumption. Sandra Baltazar Guatura, Jose Antonio Baddini Martinez, Patricia Cincotto dos Santos Bueno, Manuel Lopez dos Santos, *Sao Paulo Med. J.* vol. 118 n.4 Sao Paulo (2000).
22. The evolution of free radicals and oxidative stress. Joe M. McCord, PhD. *Am. J. Med.* (2000);108:652-659.
23. Chronic obstructive pulmonary disease, asthma and protective effects of food intake: from hypothesis to evidence? Henriette A. Smit. *Respir. Res.* (2001), 2:261-264.
24. Reactive Oxygen Metabolites Induce a Biphasic Contractile Response in Microvascular Lung Pericytes. Sid Kerkar, Cecilia Speyer, James Tyburski, Christopher Steffes. *Journal of Trauma*, (2001), 51:440-445.
25. Aging and oxidative stress: studies of some genes involved both in aging and in response to oxidative stress. Nadine Camougrand and Michel Rigoulet *Institut de Respiration Physiology*, Vol.128, Issue 3, (2001), pages 393-401.
26. Oxidants, antioxidants and the pathogenesis of emphysema. Cantin A., Crystal RG. *Eyr. J. Respir. Dis. Suppl.* (1985);139:7-17.

27. Reactive oxygen species and signal transduction. Finkel T. MD, 20814-1622, USA.
28. Functional evaluation in patients with chronic obstructive pulmonary disease: pulmonary function test versus cardiopulmonary exercise test. Fink G., Moshe S., Goshen J., Klainman E., Lebzelter J., Spitzer S., Kramer MR. J. OCCUP. Environ. Med. (2002) ;44(1):54-8.
29. Physiologic evaluation of 4 weeks of nocturnal nasal positive pressure ventilation in stable hypercapnic patients with chronic obstructive pulmonary disease. Nava S., Fanfulla F., Frigerio P., Navalesi P. Respiration (2001) ;68(6):573-83.
30. Exposure of chronic obstructive pulmonary disease patients to particles: respiratory and cardiovascular health effects. Brayer M., Ebelst ST., Fisher TV., Brumm J., Petkau AJ. J. Expo. Anal. Environ. Epidemiol. (2001) ;11(6):490-500.
31. Potential novel therapies for obstructive pulmonary disease. Barnes PJ. Novartis Found, Symp. (2001) ;234:255-67discussion267-272.
32. Free radicals and respiratory pathology. Housset B. C.R. Seances Soc. Biol. Fil. (1994) ;188(4):321-33.
33. Increased exhalation of hydrogen peroxide in patients with stable and unstable chronic obstructive pulmonary disease. Dekhuijzen PN., Aben KK., Dekker I., Aarts LP., Wieiders PL., van Herwaarden CL., Bast A. Am. J. Respir. Crit. Care Med. (1996) ;154(3 Pt 1):813-6.
34. Exhaled 8-isoprostane as an in vivo biomarker of lung oxidative stress in patients with COPD and healthy smokers. Montuschi P., Collins JV., Ciabattini G., Lazzeri N, Corradi M., Kharitonov SA., Barnes PJ. Am. J. Respir. Crit. Care Med. (2000) ;162(3 Pt 1):1175-7.
35. Increased Expression of Heme Oxygenase (HO)-1 in Alveolar Spaces and HO-2 in Alveolar Walls of Smokers, Piero Maestrelli, Abdul H. el Messlemani, Orietta de Fina, Yohann Nowicki, Marina Saetta, Cristina Mapp and Leonardo M. Fabbri.
36. Role of oxidative stress and protein oxidation in the aging process(1,2). Sohal RS. USA Free Radic Biol Med (2002) 1;33(1):37-44.
37. Current issues concerning the role of oxidative stress in aging: a perspective. Sohal RS, Mockett RJ, Orr WC. Results Probl Cell Differ (2000);29:45-66.
38. Endogenous oxidative stress: relationship to aging, longevity and caloric restriction. Barja G. Ageing Res Rev (2002) ;1(3):397-411.

39. Mitochondrial alterations, cellular response to oxidative stress and defective degradation of proteins in aging. Lee HC, Wei YH. joeman@ym.edu.tw. *Biogerontology* (2001) ;2(4):231-44.
40. IUBMB Life Mitochondrial oxidative stress plays a key role in aging and apoptosis. Sastre J, Pallardo FV, Vina J. (2000) ;49(5):427-35.
41. Λοιμώξεις Αναπνευστικού, μετεκπαιδευτικό σεμινάριο 1998, επιμελητές έκδοσης: Κ. Κατής, Ο Αναγνωστοπούλου, Π. Γιαμπουδάκης, Ν. Μαγκίνα, Μ. Τουμπής, Αθήνα 1999.