

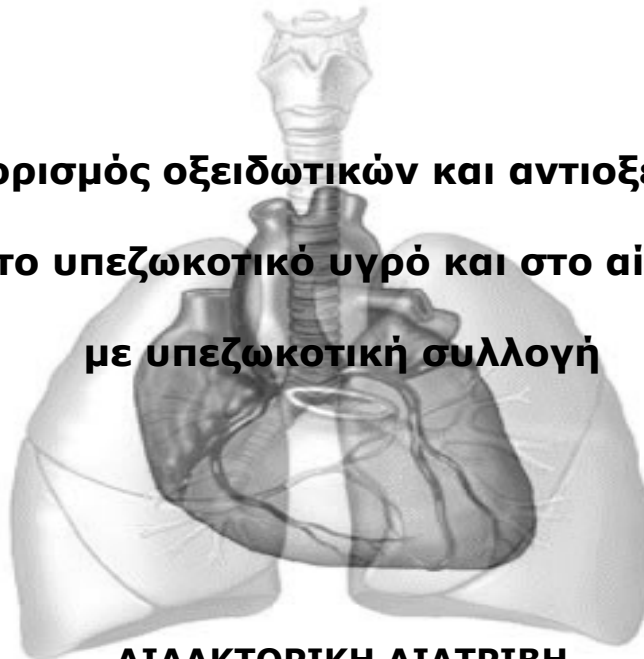
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ-ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΠΝΕΥΜΟΝΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Κ.Ι. ΓΟΥΡΓΟΥΛΙΑΝΗΣ

**Προσδιορισμός οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών
δεικτών στο υπεζωκοτικό υγρό και στο αίμα ασθενών
με υπεζωκοτική συλλογή**



ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΤΣΙΛΙΩΝΗ ΕΙΡΗΝΗ

Βιοχημικός-Βιοτεχνολόγος

ΛΑΡΙΣΑ 2009

Τριμελής Επιτροπή

Κ. ΓΟΥΡΓΟΥΛΙΑΝΗΣ (επιβλέπων)

Καθηγητής Πνευμονολογίας

Θ. ΑΠΟΣΤΟΛΙΔΗΣ

Καθηγητής Ωτορινολαρυγγολογίας

Ζ. ΔΑΝΙΗΛ

Επίκουρος Καθηγήτρια Πνευμονολογίας

Επταμελής Επιτροπή

Κ. ΓΟΥΡΓΟΥΛΙΑΝΗΣ (επιβλέπων)

Καθηγητής Πνευμονολογίας

Θ. ΑΠΟΣΤΟΛΙΔΗΣ

Καθηγητής Ωτορινολαρυγγολογίας

Π. Α. ΜΟΛΥΒΔΑΣ

Καθηγητής Φυσιολογίας

Α. ΓΕΡΜΕΝΗΣ

Καθηγητής Εργαστηριακής Ανοσολογίας

Ζ. ΔΑΝΙΗΛ

Επίκουρος Καθηγήτρια Πνευμονολογίας

Χ. ΧΑΤΖΟΓΛΟΥ

Επίκουρος Καθηγήτρια Φυσιολογίας

Π. ΛΙΑΚΟΣ

Επίκουρος Καθηγητής Ιατρικής Βιοχημείας

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ.....	5
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	15
ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	16
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	18
1. ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΗ ΚΟΙΛΟΤΗΤΑ.....	19
2. ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΕΣ ΣΥΛΛΟΓΕΣ	25
2.1 ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΩΝ ΣΥΛΛΟΓΩΝ.....	27
2.2 ΣΥΝΗΘΕΙΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΠΟΥ ΣΥΝΔΕΟΝΤΑΙ ΜΕ ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΕΣ ΣΥΛΛΟΓΕΣ	27
2.3 ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ	37
2.4 ΚΛΑΣΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗΣ ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΩΝ ΣΥΛΛΟΓΩΝ	40
2.5 ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ ΓΙΑ ΑΔΙΑΓΝΩΣΤΕΣ ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΕΣ ΣΥΛΛΟΓΕΣ	43
3. ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΣΤΟΝ ΠΝΕΥΜΟΝΑ	44
3.1 ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΡΙΖΕΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ	44
3.2 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΑΜΥΝΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ	47
3.3 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ STRESS ΚΑΙ ΠΝΕΥΜΟΝΑΣ	49
3.4 ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ STRESS ΣΤΟΝ ΠΝΕΥΜΟΝΑ	52
3.5 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ STRESS ΣΤΙΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΕΣ ΠΑΘΗΣΕΙΣ.....	58
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	69
4. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	71
5. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	75
6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	76
ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΩΝ ΣΥΛΛΟΓΩΝ	76
8-ΙΣΟΠΡΟΣΤΑΝΙΟ (8-Isoprostane).....	77
- Τα επίπεδα του 8-isoprostane στις παραπνευμονικές υπεζωκοτικές συλλογές	81

ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΚΗ ΔΙΣΜΟΥΤΑΣΗ ΧΑΛΚΟΥ/ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΥ (CuZnSOD).....	83
- Τα επίπεδα της CuZnSOD στις παραπνευμονικές υπεζωκοτικές συλλογές	87
- Το 8-isoprostane και η CuZnSOD στη διαφοροδιάγνωση μεταξύ μη επιπλεγμένων και συνδυασμού επιπλεγμένων παραπνευμονικών συλλογών με εμπύημα	89
- Το 8-isoprostane και η CuZnSOD στη διαφοροδιάγνωση μεταξύ μη επιπλεγμένων και επιπλεγμένων παραπνευμονικών συλλογών.....	90
7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	91
8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	95
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	96
ABSTRACT	98
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	100

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Όνομα: Ειρήνη

Επίθετο: Τσιλιώνη

Πατρώνυμο: Γεώργιος

Ημερ. Γέννησης: 15/6/1982

Τόπος Γέννησης: Λάρισα

Διεύθυνση: Κωλέτη 2 Τ.Κ. 41222, Λάρισα

Τηλέφωνο: 2410-618892, 6946125052

e-mail: irinitsilioni@hotmail.com

ΣΠΟΥΔΕΣ

- Απολυτήριο του 4ου Ενιαίου Λυκείου Λάρισας (Ιούνιος 2000) με γενικό βαθμό Άριστα «18,6» και διαγωγή «Κοσμιότητα».
- Πτυχίο του τμήματος Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (Νοέμβριος 2005) με βαθμό Λίαν Καλώς «7.11».

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

- Αγγλικά

Cambridge First Certificate in English (Certificate Grade B), December 1996, Larisa

- Γαλλικά

Diplôme d'études en langue Française D.E.L.F. 1er Degré, 04/05/00 Larissa

ΓΝΩΣΗ Η/Υ

- Πιστοποιητικό Σπουδών Ειδικευμένου Χειριστή Ηλεκτρονικών Υπολογιστών το οποίο περιελάμβανε τις ακόλουθες θεαματικές ενότητες:
 - Εισαγωγή Η/Υ
 - Windows 98
 - Word 2000

- Excel 2000
- Internet
- Ηλεκτρονικό Ταχυδρομείο
- Εμπειρική Γνώση Λογισμικού Στατιστικής Ανάλυσης (SPSS, GraphPad Prism)

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΤΑΙΡΕΙΕΣ

- Μέλος της ομάδας Υπεζωκότα της Ελληνικής Πνευμονολογικής Εταιρείας.
- Μέλος της Ευρωπαϊκής Πνευμονολογικής Εταιρείας.

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

- Συμμετοχή στη λειτουργία του εργαστηρίου Μελέτης Υπεζωκοτικών Συλλογών της Πνευμονολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας, το οποίο παρέχει υπηρεσίες διάγνωσης, παρακολούθησης και έρευνας σε νοσήματα που προκαλούν υπεζωκοτική συλλογή.

ΤΙΜΗΤΙΚΕΣ ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ

Βραβεία σε συνέδρια

- Η εργασία με τίτλο "Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΟΥ ΑΥΞΗΤΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΤΟΥ ΑΓΓΕΙΑΚΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ (VEGF), ΤΗΣ ΑΔΕΝΟΣΙΝΟΔΕΑΜΙΝΑΣΗΣ (ADA) ΚΑΙ ΤΗΣ ΙΝΤΕΡΦΕΡΟΝΗΣ-Γ IFN-Γ ΣΤΗ ΔΙΑΦΟΡΟΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ (ΦΥΜΑΤΙΩΔΕΙΣ-ΚΑΚΟΗΘΕΙΣ) ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΩΝ ΣΥΛΛΟΓΩΝ" **έλαβε έπαινο καλύτερης ανακοίνωσης στην ενότητα "Νοσήματα Υπεζωκότα"** στο 16^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος (Αθήνα - Δεκέμβριος 2007).
- Η εργασία με τίτλο "ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΕΜΦΥΣΗΜΑΤΟΣ, ΤΟΠΙΚΗ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΦΛΕΓΜΟΝΗ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΧΑΠ" έλαβε το **3^ο Βραβείο Πλήρους Εργασίας** στο 17^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος (Αλεξανδρούπολη - Νοέμβριος 2008).

ΣΥΓΓΡΑΦΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ

A. Δημοσιεύσεις σε διεθνή περιοδικά στο MEDLINE :

1. T Kiropoulos, K Kostikas, S Oikonomidi, **I Tsilioni**, D Nikoulis, A Germenis, K I Gourgoulisanis. ACUTE PHASE MARKERS FOR THE DIFFERENTIATION OF INFECTIOUS AND MALIGNANT PLEURAL EFFUSIONS. Respir Med 2007; 101:910-918.
2. S Oikonomidi, K Kostikas, **I Tsilioni**. K I. Gourgoulisanis and T Kiropoulos. MATRIX METALLOPROTEINASES IN THE RESPIRATORY DISEASES: from pathogenesis to potential clinical implications. Respiratory Medicine Department, University of Thessaly Medical School. Curr Med Chem. 2009; 16 (10):1214-28.
3. AG Kaditis, E Alexopoulos, K Chaidas, G Ntamagka, A Karathanasi, **I Tsilioni**, TS Kiropoulos, E Zintaras, K Gourgoulisanis. URINE CONCENTRATIONS OF CYSTEINYL LEUKOTRIENES IN CHILDREN WITH OBSTRUCTIVE SLEEP-DISORDERED BREATHING. Chest 2009 Jun; 135(6):1496-501. Epub 2009 Jan 13.
4. Al Papaioannou, A Mazioti, T Kiropoulos, **I Tsilioni**, A Koutsokera, K Tanou, DJ Nikoulis, P Georgoulis, E Zakynthinos, KI Gourgoulisanis, K Kostikas. SYSTEMIC AND AIRWAY INFLAMMATION AND THE PRESENCE OF EMPHYSEMA IN PATIENTS WITH COPD. Respir Med. 2009 Oct 22. [Epub ahead of print]
5. Al Papaioannou, A Koutsokera, K Tanou, TS Kiropoulos, **I Tsilioni**, S Oikonomidi, K Liadaki, S Pournaras, KI Gourgoulisanis, K Kostikas. THE ACUTE EFFECT OF SMOKING IN HEALTHY AND ASTHMATIC SMOKERS. Eur J Clin Invest. 2009 Nov 12. [Epub ahead of print]

B. Ολοκληρωθείσες εργασίες υπό δημοσίευση

1. **I. Tsilioni**, K. Kostikas, I. Kalomenidis, S. Oikonomidi, V. Tsolaki, M. Minas, K I Gourgoulisanis and T S Kiropoulos. BIOMARKERS OF OXIDATIVE STRESS IN THE DIFFERENTIATION OF PARAPNEUMONIC PLEURAL EFFUSIONS. Respiratory Medicine Department, University of Thessaly Medical School. Submitted in Lung Journal.

2. TS Kiropoulos, K Kostikas, **I Tsilioni**, S Oikonomidi, A I Papaioannou, and K I. Gourgoulisanis. VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF) IN THE DIFFERENTIATION BETWEEN TUBERCULOUS AND MALIGNANT PLEURAL EFFUSIONS: Comparison with Adenosine Deaminase (ADA) and Interferon- γ (IFN- γ). Respiratory Medicine Department, University of Thessaly Medical School. Submitted in Respiratory Medicine Journal.

3. S. Oikonomidi, K. Kostikas, I. Kalomenidis, **I. Tsilioni**, K. I. Gourgoulisanis and T. S. Kiropoulos. MATRIX METALLOPROTEINASE LEVELS IN THE DIAGNOSIS OF PLEURAL INFECTION. Submitted in Respiratorion Journal.

4. K. Tepetes, G. Christodoulidis, M. Spyridakis, T. Kiropoulos, S. Oikonomidi, **I. Tsilioni**, D. Symeonidis, K. Gourgoulisanis and C. Hatzitheofilou. THE MATRIX METALLOPROTEINASE-2 AND -9 SERUM LEVELS AS POTENTIAL MARKERS OF INTRAPERITONEAL ADHESIONS. Submitted in European Journal of Surgical Research.

ΣΥΝΕΔΡΙΑ

Συμμετοχή σε Ελληνικά, και διεθνή συνέδρια.

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ (ΜΕ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΟΜΙΛΙΕΣ Ή POSTER)

ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. American Thoracic Society (ATS), San Diego California, USA. May 19-24, 2006.

T. S. Kiropoulos, K. T. Kostikas, **I. Tsilioni**, S. Oikonomidi, K. I. Gourgoulisanis. CRP, IL-6 and TNF- α in Pleural Effusions.

2. American Thoracic Society (ATS), San Diego California, USA. May 19-24, 2006.

T. S. Kiropoulos, K. T. Kostikas S. Oikonomidi, **I. Tsilioni**, K. I. Gourgoulisanis. VEGF levels in pleural fluid and serum of patients with pleural effusions.

3. American Thoracic Society (ATS), San Francisco California, USA. May 18-23, 2007.

T. S. Kiropoulos, K. Kostikas, S. Oikonomidi, **I. Tsilioni**, K. I. Gourgoulisanis. The Role of Leptin in the Differential Diagnosis of Malignant and Tuberculous Pleural Effusions.

4. S. Oikonomidi, **I. Tsilioni**, K. Gourgoulisanis, T. Kiropoulos. The Diagnostic Value of Matrix Metalloproteinases in Pleural Effusions. 18th ERS Annual Congress, Berlin 2008. Eur Respir J 2008; 32 (Suppl. 52).

5. **I. Tsilioni**, S. Oikonomidi, K. Gourgoulisanis, T. Kiropoulos. Oxidative Stress and Pleural Effusions. 18th ERS Annual Congress, Berlin 2008. Eur Respir J 2008; 32 (Suppl. 52).

6. A. Papaioannou, A. Koutsokera, K. Tanou, T. Kiropoulos, **I. Tsilioni**, S. Oikonomidi, K. Liadaki, K. Gourgoulisanis, K. Kostikas. Acute Effect of Smoking in Normal and Asthmatic Smokers. 18th ERS Annual Congress, Berlin 2008. Eur Respir J 2008; 32 (Suppl. 52).

7. **I. Tsilioni**, T. Kiropoulos, S. Oikonomidi, K. Gourgoulisanis, K. Kostikas. Glutathione peroxidase levels in transudative and exudative pleural effusions. 19th ERS Annual Congress, Vienna 2009.

ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. Θ. Κυρόπουλος, Κ. Κωστίκας, Σ. Οικονομίδη, **Ε. Τσιλιώνη**, Κ. Ι. Γουργουλιάνης. Επίπεδα VEGF στο πλευριτικό υγρό και στον ορό ασθενών με υπεζωκοτική συλλογή. 14^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο. Θεσσαλονίκη, 1-4 Δεκεμβρίου 2005.

2. Θ. Κυρόπουλος, Κ. Κωστίκας, **Ε. Τσιλιώνη**, Σ. Οικονομίδη, Κ. Ι. Γουργουλιάνης. CRP, IL-6 και TNF-α σε Υπεζωκοτικές Συλλογές. 14^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο. Θεσσαλονίκη, 1-4 Δεκεμβρίου 2005.

3. **Ε. Τσιλιώνη**, Θ. Κυρόπουλος, Σ. Οικονομίδη, Κ. Κωστίκας, Κ. Γουργουλιάνης. Προσδιορισμός 8-Ισοπροστανίου (8-ISOPROSTANE) και Cu/Zn Υπεροξειδικής Δισμουτάσης (Cu/Zn SOD) σε ασθενείς με υπεζωκοτική συλλογή. 15^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Κρήτη, 2-5 Νοεμβρίου 2006.

4. Σ. Οικονομίδη, Θ. Κυρόπουλος, **Ε. Τσιλιώνη**, Κ. Κωστίκας, Κ. Γουργουλιάνης. Επίπεδα μεταλλοπρωτεϊνών (MMP-8 & MMP-9) στο υπεζωκοτικό υγρό και στον ορό ασθενών με υπεζωκοτική συλλογή. 15^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Κρήτη, 2-5 Νοεμβρίου 2006.
5. Α. Παπαϊωάννου, Ζ. Δανιήλ, Η. Ζινζαράς, Θ. Κυρόπουλος, Α. Κουτσοκέρα, **Ε. Τσιλιώνη**, Σ. Οικονομίδη, Κ. Ι. Γουργουλιάνης. Διαφορική διάγνωση των εξιδρωματικών πλευριτικών συλλογών με τη χρήση πολλαπλών βιολογικών παραμέτρων. 15^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Κρήτη, 2-5 Νοεμβρίου 2006.
6. Σ. Οικονομίδη, **Ε. Τσιλιώνη**, Θ. Κυρόπουλος, Κ. Κωστίκας, Κ.Ι. Γουργουλιάνης. Επίπεδα μεταλλοπρωτεϊνών (MMP-8 & MMP-9) στο υπεζωκοτικό υγρό και στον ορό ασθενών με υπεζωκοτική συλλογή. 16^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 6-9 Δεκεμβρίου 2007.
7. **Ε. Τσιλιώνη**, Σ. Οικονομίδη, Θ. Κυρόπουλος, Κ. Κωστίκας, Κ.Ι. Γουργουλιάνης. Προσδιορισμός 8-ισοπροστανίου (8-ISOPROSTANE) και Cu/Zn υπεροξειδικής δισμουτάσης (Cu/Zn SOD) σε ασθενείς με υπεζωκοτική συλλογή. 16^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 6-9 Δεκεμβρίου 2007.
8. Θ. Κυρόπουλος, Κ. Κωστίκας, **Ε. Τσιλιώνη**, Σ. Οικονομίδη, Κ.Ι. Γουργουλιάνης. Η συμβολή του αυξητικού παράγοντα του αγγειακού ενδοθηλίου (VEGF), της αδενοσινοδεαμινάσης (ADA) και της ιντερφερόνης-γ (IFN-γ) στη διαφοροδιάγνωση των λεμφοκυτταρικών (φυματιώδη-κακοήθη) υπεζωκοτικών συλλογών. 16^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 6-9 Δεκεμβρίου 2007. Η εργασία έλαβε **έπαινο καλύτερης ανακοίνωσης στην ενότητα “Νοσήματα Υπεζωκότα”**.
9. Θ. Ζάγκα, Θ. Κυρόπουλος, **Ε. Τσιλιώνη**, Σ. Οικονομίδη, Α. Δαμνιανός, Κ.Ι. Γουργουλιάνης. Ο ρόλος του υαλουρονικού οξέος στη διαφορική διάγνωση των υπεζωκοτικών συλλογών. 16^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 6-9 Δεκεμβρίου 2007.
10. Π. Τσόπα, Κ. Κωστίκας, Σ. Οικονομίδη, **Ε. Τσιλιώνη**, Θ. Κυρόπουλος, Α. Παπαϊωάννου, Κ.Ι. Γουργουλιάνης. Συσχέτιση των επιπέδων μεταλλοπρωτεϊνών, οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών παραγόντων σε

παραπνευμονικές συλλογές με την εμφάνιση παχυπλευριτιδικών αλλοιώσεων. 16^ο Πανελλήνιο Πνευμονολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 6-9 Δεκεμβρίου 2007.

11. Σ. Οικονομίδη, **Ε. Τσιλιώνη**, Θ. Κυρόπουλος, Κ. Κωστίκας, Κ.Ι. Γουργουλιάνης. Τα επίπεδα των μεταλλοπρωτεϊνών -2, -8, -9 (MMP-2, -8, -9) στην κλιμάκωση της φλεγμονής. 17^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Αλεξανδρούπολη 20-23 Νοεμβρίου 2008.

12. **Ε. Τσιλιώνη**, Σ. Οικονομίδη, Θ. Κυρόπουλος, Κ. Κωστίκας, Κ.Ι. Γουργουλιάνης. Οξειδωτικό stress και ένταση της φλεγμονής στις παραπνευμονικές υπεζωκοτικές συλλογές. 17^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Αλεξανδρούπολη 20-23 Νοεμβρίου 2008.

13. Α.Ι. Παπαϊωάννου, Κ. Τανού, Α. Κουτσοκέρα, Θ. Κυρόπουλος, **Ε. Τσιλιώνη**, Σ. Οικονομίδη, Κ. Λιαδάκη, Κ.Ι. Γουργουλιάνης, Κ. Κωστίκας. Άμεσες επιδράσεις του καπνίσματος σε υγιείς και ασθματικούς καπνιστές. 17^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Αλεξανδρούπολη 20-23 Νοεμβρίου 2008.

14. Α.Ι. Παπαϊωάννου, Κ. Κωστίκας, Α. Μαζιώτη, Θ. Κυρόπουλος, Δ. Νικούλης, **Ε. Τσιλιώνη**, Α. Κουτσοκέρα, Σ. Οικονομίδη, Κ. Τανού, Μ. Νταλαπάσχα, Ε. Ζακυνθινός, Α. Γερμενής, Κ.Ι. Γουργουλιάνης. Παρουσία εμφυσήματος, τοπική και συστηματική φλεγμονή σε ασθενείς με ΧΑΠ. 17^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Αλεξανδρούπολη 20-23 Νοεμβρίου 2008. Η εργασία έλαβε το **3^ο βραβείο καλύτερης ανακοίνωσης**.

15. Θ. Ζάγκα, Θ. Κυρόπουλος, **Ε. Τσιλιώνη**, Σ. Οικονομίδη, Α. Δαμιανός, Κ. Γουργουλιάνης. Η συσχέτιση των επιπέδων του υαλουρονικού οξέος (HA) στο πλευριτικό υγρό με εκείνα προφλεγμονωδών κυττοκινών - TNF-Α. 17^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Αλεξανδρούπολη 20-23 Νοεμβρίου 2008.

16. **Ε. Τσιλιώνη**, Σ. Οικονομίδη, Ε. Καρέτση, Α. Δημουλής, Χ. Δάενας, Κ. Κωστίκας, Θ. Κυρόπουλος, Κ.Ι. Γουργουλιάνης. Επίπεδα Υπεροξειδάσης Γλουταθειόνης στις διιδρωματικές και εξιδρωματικές υπεζωκοτικές συλλογές, 18^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Θεσσαλονίκη 26-29 Νοεμβρίου 2009.

17. Α. Ι. Παπαϊωάννου, Κ. Κωστίκας, Π. Τσόπα, Θ. Κυρόπουλος, **Ε. Τσιλιώνη**, Σ. Οικονομίδη, Ε. Γερογιάννη, Κ.Ι. Γουργουλιάνης. Οι υπολειμματικές παχυπλευριτικές αλλοιώσεις σχετίζονται με τα επίπεδα του VEGF στις παραπνευμονικές υπεζωκοτικές συλλογές. 18^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Θεσσαλονίκη 26-29 Νοεμβρίου 2009.

ΣΥΝΕΧΙΖΟΜΕΝΗ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

A) Σεμινάρια – Επιμορφώσεις

- 24-25 Νοεμβρίου 2000 – 52η Συνεδρία της Ελληνικής Εταιρείας Βιοχημείας και Μοριακής Βιολογίας, Θεσσαλονίκη
- 27-29 Απριλίου 2001 – 7ο Επιστημονικό Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδας, Λάρισα
- 17-19 Οκτωβρίου 2003 – Οργανωτική Επιτροπή «ΙΠΠΟΚΡΑΤΕΙΩΝ 2003», Λάρισα
- 10 Οκτωβρίου 2004 – 4ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελευθέρων Ριζών και Οξειδωτικού Στρες, Λάρισα
- 25-27 Νοεμβρίου 2004 – 56ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Βιοχημείας & Μοριακής Βιολογίας, Λάρισα
- 21 Μαΐου 2004 – Πιστοποιητικό Εκπαίδευσης λειτουργίας του αναλυτή TRITURUS από την εταιρεία BAPEΛΑΣ Α.Ε.
- 16-17 Απριλίου 2005 – Σεμινάριο με θέμα «Μικροσφαιριδιακή κυτταρομετρία ροής», Λάρισα
- 2-4 Σεπτεμβρίου 2005 – Ημέρες Πνευμονολογίας 2005, Λ. Πλαστήρα
- 22-24 Σεπτεμβρίου 2006 – Ημέρες Πνευμονολογίας 2006, Αμφιθέατρο Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου, Λάρισα
- 25 & 26 Νοεμβρίου 2006 – 6^η Διημερίδα Κοινωνικής Παιδιατρικής, Παιδιατρική Κλινική Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
- 21-23 Σεπτεμβρίου 2007 – Ημέρες Πνευμονολογίας 2007, Βόλος
- 23 Φεβρουαρίου 2008 – «Πρωτοβάθμια Φροντίδα Υγείας από τη Θεωρία στη Πράξη», Αμφιθέατρο Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου, Λάρισα
- 12-13 Σεπτεμβρίου 2008 – Ημέρες Πνευμονολογίας 2008, Μουζάκι, Καρδίτσα
- 2^ο Σεμινάριο Ακτινολογίας με θέμα “Απεικόνιση Παθήσεων του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος”, Λάρισα, 11 Οκτωβρίου 2008. CME Credits: 8.
- 2^{ες} Αλλεργιολογικές Εξελίξεις 2008, Λάρισα, 24-26 Οκτωβρίου 2008. CME Credits: 10.
- Εκπαιδευτικό σεμινάριο με θέμα: Διαταραχές οξεοβασικής ισορροπίας και ηλεκτρολυτών, Λάρισα, 17-18 Οκτωβρίου 2008. CME Credits: 6.

- Ημερίδα με θέμα “Ψυχιατρικές Διαταραχές στην Πρωτοβάθμια Φροντίδα Υγείας”, Λάρισα, 1 Νοεμβρίου 2008.
- Συμπόσιο με θέμα “Παιδική και εφηβική γυναικολογία”, Λάρισα, 1-2 Νοεμβρίου 2008. CME Credits: 5.
- Ημερίδα με θέμα “Πρωτοβάθμια Φροντίδα Υγείας”, Λάρισα 13 Φεβρουαρίου 2009.
- 18-19 Σεπτεμβρίου 2009 – Ημέρες Πνευμονολογίας 2009, Λάρισα

Β) Διεθνή Συνέδρια

1. American Thoracic Society Meeting "ATS 2007". San Francisco, California, USA, May 18-23, 2007.
2. American Thoracic Society Meeting "ATS 2006". San Diego, California, USA, May 19-24, 2006.
3. European Respiratory Society Annual Congress 2008. Berlin, Germany, October 4-8, 2008. CME Credits Documented: 25.
4. European Respiratory Society Annual Congress 2009. Vienna, Austria, September 12-16, 2009. CME Credits Documented: 27

Γ) Ελληνικά Συνέδρια

1. 4^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελευθέρων Ριζών και Οξειδωτικού Στρες, Λάρισα 7-10 Οκτωβρίου 2004.
2. 56^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Βιοχημείας & Μοριακής Βιολογίας, Αμφιθέατρο Δημοτικής Πινακοθήκης Λάρισας, 25-27 Νοεμβρίου 2004.
3. 14^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Θεσσαλονίκη, 1-4 Δεκεμβρίου 2005.
4. 15^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Χερσόνησος Κρήτης, 2-5 Νοεμβρίου 2006.
5. 10^ο Καρδιολογικό Συνέδριο Κεντρικής Ελλάδος, Λάρισα, 11-14 Οκτωβρίου 2007.
6. 16^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Αθήνα, 6-9 Δεκεμβρίου 2007.

7. 17^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Αλεξανδρούπολη, 20-23 Νοεμβρίου 2008. CME Credits: 18.

8. 11^ο Καρδιολογικό Συνέδριο Κεντρικής Ελλάδος, Λάρισα, 9-12 Οκτωβρίου 2008. CME Credits: 18.

ΑΛΛΕΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΕΣ

- Παροχή τεχνικής βοήθειας στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα “Πρωτοβάθμια Φροντίδα Υγείας”, με Επιστημονικό Υπεύθυνο τον Καθ. Κωνσταντίνο Γουργουλιάνη για το έτος 2006-2007.

- Παροχή τεχνικής βοήθειας στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα “Πρωτοβάθμια Φροντίδα Υγείας”, με Επιστημονικό Υπεύθυνο τον Καθ. Κωνσταντίνο Γουργουλιάνη για το έτος 2007-2008.

- Παροχή τεχνικής βοήθειας στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα “Πρωτοβάθμια Φροντίδα Υγείας”, με Επιστημονικό Υπεύθυνο τον Καθ. Κωνσταντίνο Γουργουλιάνη για το έτος 2008-2009.

- Παροχή τεχνικής βοήθειας στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα “Πρωτοβάθμια Φροντίδα Υγείας”, με Επιστημονικό Υπεύθυνο τον Καθ. Κωνσταντίνο Γουργουλιάνη για το έτος 2009-2010.

- Διδασκαλία του κατ’ επιλογήν υποχρεωτικού μαθήματος "**Κλινική Βιοχημεία**" στους 1^{οι} φοιτητές της Νοσηλευτικής Σχολής του Τ.Ε.Ι. Λάρισας κατά το Χειμερινό και Εαρινό εξάμηνο του Ακαδημαϊκού Έτους 2008-2009.

- Παροχή τεχνικής βοήθειας στο ηλεκτρονικό περιοδικό «Διεπιστημονική Φροντίδα Υγείας», με Επιστημονικό Υπεύθυνο τον Καθ. Κωνσταντίνο Γουργουλιάνη για το έτος 2008-2009.

- Παροχή τεχνικής βοήθειας στο ηλεκτρονικό περιοδικό «Διεπιστημονική Φροντίδα Υγείας», με Επιστημονικό Υπεύθυνο τον Καθ. Κωνσταντίνο Γουργουλιάνη για το έτος 2009-2010.

Συντομογραφίες

LDH: Γαλακτική Δεϋδρογενάση
ADA: Αδενοσινοδεαμινάση
IFN-γ: Ιντερφερόνη-γ
ROS: δραστικές μορφές οξυγόνου
OH[•]: ρίζα του υδροξυλίου
O₂[•]: ρίζα του υπεροξειδίου
H₂O₂: υπεροξείδιο του υδρογόνου
1O₂[•]: μονή ρίζα του οξυγόνου
NADPH: νικοτινάμιδο-αδένινο-φωσφορικό-δινουκλεοτίδιο
GSH: γλουταθειόνη
SODs: Υπεροξειδικές Δισμουτάσες
CuZnSOD: Υπεροξειδική Δισμουτάση Χαλκού/Ψευδαργύρου
MnSOD: Υπεροξειδική Δισμουτάση Μαγγανίου
ECSOD: Εξωκυττάρια Υπεροξειδική Δισμουτάση
iNOS: επαγόμενη συνθάση νιτρικού οξειδίου
MDA: Μαλονδιαλδεΰδη
R-COOH: Καρβοξυλικό οξύ
8-Isoprostane: 8-Ισοπροστανό
COX-1: κυκλοοξυγενάση-1
TNF-α: Παράγοντας νέκρωσης όγκου-α
MMP-2: Μεταλλοπρωτεϊνάση-2
VEGF: Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας
IL-1: Ιντερλευκίνη-1
LPS: Λιποπολυσακχαρίτες
NFκB: Πυρηνικός παράγοντας κB
NO: Μονοξείδιο του αζώτου
IFN-α: Ιντερφερόνη-α
TGFβ: Παράγοντας αύξησης όγκου β
GPx : Υπεροξειδάση Γλουταθειόνης
GST : Γλουταθειόνη S Τρανσφεράση
TAS : Ολική αντιοξειδωτική ικανότητα
MPO : Μυελοπεροξειδάση
IPF: Ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση
UIP: Συνήθης διάμεση πνευμονία
MCP-1: Χημειοτακτική πρωτεΐνη μονοκυττάρων
ONOO⁻: Υπεροξείδιο νιτρωδών αλάτων
NO[•]: Ρίζα νιτρικού οξέος
DHA: Δεϋδροασκορβικό οξύ
AA: Ασκορβικό οξύ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Κάθε χρόνο εκατομμύρια άνθρωποι αναπτύσσουν υπεζωκοτικές συλλογές, ως αποτέλεσμα της επιπλοκής διαφόρων νοσημάτων. Παρ' όλη τη βελτίωση των διαγνωστικών μεθόδων ένα μεγάλο ποσοστό υπεζωκοτικών συλλογών παραμένει με αδιευκρίνιστη αιτιολογία. Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει μεγάλες προσπάθειες να ερμηνευτεί η παρουσία ενός μεγάλου αριθμού βιοχημικών παραμέτρων στο υπεζωκοτικό υγρό, καθώς και οι μεταβολές τους, ανάλογα με την αιτία που προκάλεσε την υπεζωκοτική συλλογή.

Η παρουσία του υπεζωκοτικού υγρού σηματοδοτεί μία ανώμαλη παθοφυσιολογική κατάσταση, αποτέλεσμα της διαταραχής της ισορροπίας σχηματισμού-απομάκρυνσής του. Η υπεύνη συνηθέστερα νόσος βρίσκεται στους πνεύμονες ή την υπεζωκοτική κοιλότητα, μπορεί όμως να είναι εξωπνευμονική, δηλαδή να ευθύνεται η καρδιά (καρδιακή ανεπάρκεια), οι νεφροί (νεφρωσικό σύνδρομο), το ήπαρ (κίρρωση με ασκίτη), το πάγκρεας (οξεία παγκρεατίτιδα) κλπ. Υπεζωκοτική συλλογή έχουμε επίσης σε συστηματικές νόσους, όπως στον συστηματικό ερυθηματώδη λύκο, την ρευματοειδή αρθρίτιδα, ή και σαν επακόλουθο αντίδρασης σε κάποια φάρμακα.

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

Η παρούσα μελέτη σχεδιάστηκε με σκοπό τον προσδιορισμό οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών δεικτών, όπως το 8-ισοπροστανό (8-isoprostane) και η υπεροξειδική δισμουτάση χαλκού/ψευδαργύρου (Cu/Zn SOD), στο υπεζωκοτικό υγρό και στο αίμα ασθενών με υπεζωκοτική συλλογή. Οι μέχρι τώρα μελέτες διαπιστώνουν ότι τα επίπεδα του οξειδωτικού stress είναι υψηλότερα στα εξιδρώματα σε σχέση με τα διιδρώματα, λόγω του υψηλού οξειδωτικού φορτίου τοπικά. Επιπλέον μελετήθηκε η χρησιμότητα αυτών των δεικτών στη διάκριση μεταξύ επιπλεγμένων και μη επιπλεγμένων παραπνευμονικών συλλογών σε μια προσπάθεια να διευκρινιστεί ο ρόλος τους στην ανάπτυξη των υπεζωκοτικών συλλογών και στην κλιμάκωση της φλεγμονής, ώστε να παρέχουμε επιπλέον βοήθεια στην καθημερινή κλινική πράξη.

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε στο Ερευνητικό Εργαστήριο της Πνευμονολογικής Κλινικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και σε υλικό ασθενών της Πνευμονολογικής Κλινικής.

Η εκπόνηση μιας διδακτορικής διατριβής είναι μια επίμονη και επίπονη διαδρομή, η οποία περνά μέσα από αντιφατικά πολλές φορές συναισθήματα και εμπειρίες. Η πραγματοποίηση της πειραματικής αυτής εργασίας θα ήταν αδύνατη χωρίς την ουσιαστική συμβολή καταξιωμένων δασκάλων και συναδέλφων, στους οποίους θα ήθελα να εκφράσω τη βαθιά μου ευγνωμοσύνη:

Στον Καθηγητή Πνευμονολογίας, Διευθυντή της Πνευμονολογικής Κλινικής του Περιφερειακού Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας και Πρύτανη του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Κωνσταντίνο Γουργουλιάνη γιατί με εμπιστεύτηκε και με ενθάρρυνε να αναλάβω την εκπόνηση διατριβής στο τόσο ενδιαφέρον πεδίο της Πνευμονολογίας, ανοίγοντάς μου τον ορίζοντα της ενασχόλησης με την επιστημονική έρευνα, καθώς επίσης για την επιστημονική βοήθεια, τις συμβουλές και τις πολύτιμες παρατηρήσεις του. Τις θερμές μου ευχαριστίες για τη συμβολή τους εκφράζω επίσης, στα άλλα δύο μέλη της Τριμελούς Επιτροπής, τον Καθηγητή Ωτορινολαρυγγολογίας κ. Θεοχάρη Αποστολίδη και την Επίκουρο Καθηγήτρια Πνευμονολογίας κ. Ζωή Δανιήλ.

Η διδακτορική μου διατριβή έγινε αφορμή να γνωρίσω και να συνεργαστώ με τον κ. Θεόδωρο Κυρόπουλο, επιστημονικό συνεργάτη της Πανεπιστημιακής Πνευμονολογικής Κλινικής. Ένα μεγάλο ευχαριστώ για την πολύτιμη καθοδήγησή του στην εκτέλεση των πειραμάτων και την συγγραφή της εργασίας.

Θα ήθελα επίσης να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στους συνεργάτες και φίλους κ. Σμαράγδα-Ελένη Οικονομίδη, Βιοχημικό-Βιοτεχνολόγο και κ. Κωνσταντίνο Κωστίκα, ιατρό Πνευμονολόγο, διότι η ουσιαστική τους βοήθεια και το ενδιαφέρον τους συντέλεσε στη πραγματοποίηση αυτής της μελέτης.

Ειλικρινές ευχαριστίες θέλω ακόμη να εκφράσω και στην κ. Θεοδώρα Κερενίδη, επιμελήτρια Πνευμονολογίας, για τις πολύτιμες συμβουλές και παρατηρήσεις της.

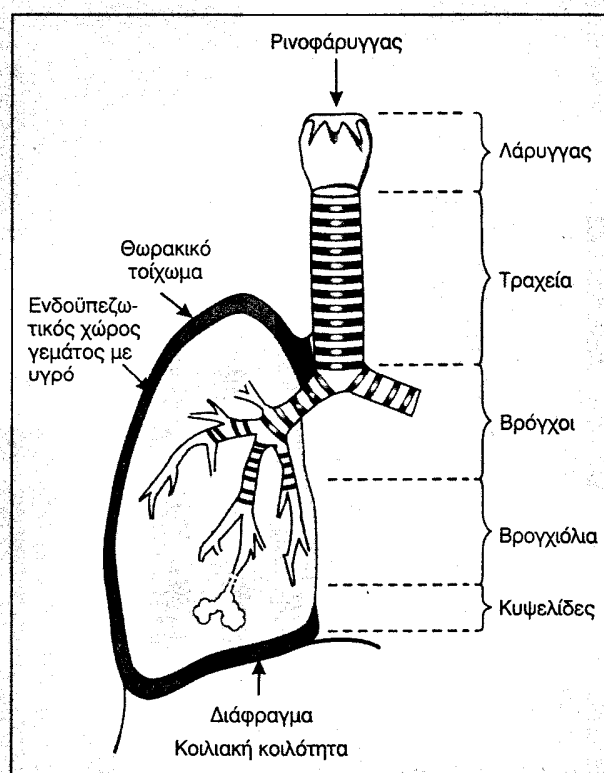
Τελειώνοντας θέλω να ευχαριστήσω από καρδιάς τους γονείς μου και τον αδερφό μου για την ουσιαστική τους υποστήριξη, συμπαράσταση και βοήθεια όλα αυτά τα χρονιά. Είναι οι άνθρωποι για τους οποίους θέλω πραγματικά να αγωνίζομαι και να γίνομαι καλύτερη ως άνθρωπος και επιστήμονας.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΗ ΚΟΙΛΟΤΗΤΑ

1.1 Ανατομία

Ο υπεζωκότας είναι ένας λεπτός, ημιδιαφανής υμένας που καλύπτει τους πνεύμονες, το μεσαύλιο, το διάφραγμα και το εσωτερικό τοίχωμα του θωρακικού κλωβού. Συνίσταται από το τοιχωματικό και το σπλαχνικό πέταλο[1] (εικόνα 1). Το σπλαχνικό πέταλο του υπεζωκότα εφάπτεται στο πνευμονικό παρέγχυμα, ενώ το τοιχωματικό εφάπτεται στη θωρακική κοιλότητα και καλύπτει τους πνεύμονες, το μεσαύλιο και το διάφραγμα. Ο υπεζωκότας συμβάλλει ουσιαστικά στη φυσιολογική λειτουργία των πνευμόνων, προστατεύοντάς τους και δρώντας ως μία λεία ελαστική επιφάνεια η οποία διευκολύνει τη μετακίνηση των πνευμόνων κατά την εισπνοή και την εκπνοή[2].



Εικόνα 1. Δεξιός πνεύμονας. Ενδοϋπεζωκοτικό υγρό συγκρατεί τον πνευμονικό και τοιχωματικό υπεζωκότα σε επαφή.

Ο υπεζωκότας αποτελείται από μια μονήρη στιβάδα μεσοθηλιακών κυττάρων η οποία επικαλύπτει τη στιβάδα του συνδετικού ιστού η οποία είναι πλούσια σε αιμοφόρα αγγεία, νεύρα και λεμφαγγεία. Τα μεσοθηλιακά κύτταρα φέρουν στην επιφάνειά τους μικρολάχνες, μεταξύ των οποίων υπάρχει

γλυκοπρωτεΐνη πλούσια σε υαλουρονικό οξύ, που συμβάλλει στην ελάττωση των τριβών μεταξύ των δύο πετάλων του υπεζωκότα[3]. Σε αντίθεση με το παρελθόν όπου τα μεσοθηλιακά κύτταρα θεωρούνταν ότι απλά εξασφαλίζουν ένα παθητικό «φάκελο» των ορογόνων κοιλοτήτων, σήμερα αναγνωρίζονται ως ενεργά κύτταρα και μπλέκονται σε πολλές ιστολογικές και μεταβολικές λειτουργίες. Συνθέτουν μακρομόρια για τον υποκείμενο συνδετικό ιστό και βιολογικά ενεργά μόρια, ανταποκρίνονται στη φλεγμονή και εκκρίνουν κυτταροκίνες, αυξητικούς και χημειοτακτικούς παράγοντες[4, 5].

Το πάχος του τοιχωματικού υπεζωκότα αυξάνει με το μέγεθος του ζώου (από ~7μm στο ποντίκι σε 30-40 μm στον άνθρωπο) και είναι αρκετά σταθερό. Τα τριχοειδή του τοιχωματικού υπεζωκότα αιματώνονται αποκλειστικά από τη συστηματική κυκλοφορία[5]. Η φλεβική απαγωγή γίνεται στις άζυγες φλέβες και στην κοίλη φλέβα (φλεβική συστηματική κυκλοφορία). Ο σπλαχνικός υπεζωκότας είναι πιο παχύς στον άνθρωπο και αιματώνεται κυρίως από τη βρογχική (συστηματική) κυκλοφορία με μια μικρή συμβολή από την πνευμονική κυκλοφορία[5]. Η απαγωγή του φλεβικού αίματος γίνεται διαμέσου των πνευμονικών φλεβών. Η απόσταση των αγγείων από το μεσοθήλιο του πνευμονικού υπεζωκότα είναι μεγαλύτερη από την αντίστοιχη απόσταση στο τοιχωματικό πέταλο και αυξάνεται από τους άνω προς τους κάτω λοβούς[4].

Ένα εκτεταμένο και πυκνό δίκτυο λεμφαγγείων διατρέχει παντού τον σπλαχνικό υπεζωκότα και είναι υπεύθυνο για την απαγωγή της λέμφου κυρίως από τους πνεύμονες. Τα λεμφαγγεία του τοιχωματικού υπεζωκότα απομακρύνουν υγρό, κύτταρα και μεγαλομοριακές ενώσεις από την υπεζωκοτική κοιλότητα. Τα τοιχωματικά υπεζωκοτικά λεμφαγγεία επικοινωνούν με την υπεζωκοτική κοιλότητα διαμέσου ανοιγμάτων (στόματα), μεγέθους 2 με 6 μm στην υπεζωκοτική επιφάνεια. Τα στόματα ανοίγουν προς διευρυμένα λεμφικά αγγεία που ονομάζονται λεμφόκολποι. Η κατανομή των στομάτων και των λεμφόκολπων περιορίζεται. Βρίσκονται κυρίως στο μεσοπνευμόνιο και μεσοπλεύριο υπεζωκότα με μεγαλύτερη συγκέντρωση στα κατώτερα τμήματα του θώρακα[4, 6].

1.2 Υπεζωκοτικό υγρό

Ο σχισμοειδής χώρος μεταξύ του σπλαχνικού και του τοιχωματικού πετάλου του υπεζωκότα αποτελεί την υπεζωκοτική κοιλότητα, εντός της οποίας ενδέχεται να συγκεντρωθούν μεγάλες ποσότητες υγρού. Φυσιολογικά στην υπεζωκοτική κοιλότητα εύρους 10-20mm, υπάρχει μικρή ποσότητα υγρού ο όγκος του οποίου στον άνθρωπο έχει υπολογιστεί πρόσφατα σε $0,26 \pm 0,1 \text{ mL/kg}$ [7]. Η σύσταση του υπεζωκοτικού υγρού είναι παρόμοια, αλλά όχι ίδια με τη σύσταση του διάμεσου υγρού και του πλάσματος. Επιπλέον η σύσταση πολλών υπεζωκοτικών συλλογών είναι σημαντικά διαφορετική από το φυσιολογικό υπεζωκοτικό ή διάμεσο υγρό[8]. Το υπεζωκοτικό υγρό είναι διαυγές, άχρωμο και περιέχει πρωτεΐνη σε συγκέντρωση ($<1,5\text{g}/100\text{ml}$), μικρό αριθμό κυττάρων στα οποία επικρατούν τα μεσοθηλιακά, τα μακροφάγα και τα λεμφοκύτταρα, και μεγαλομοριακές ενώσεις όπως η γαλακτική δεϋδρογονάση (LDH) ($\text{MB}=134.000$) η συγκέντρωση της οποίας είναι μικρότερη από το 50% της συγκέντρωσης της στο αίμα. Η συγκέντρωση νατρίου και χλωρίου στο υπεζωκοτικό υγρό είναι μικρότερη κατά 2-5% και 6-9% αντίστοιχα σε σχέση με το πλάσμα, τα διττανθρακικά είναι αυξημένα κατά 20-25%, άρα και το pH είναι περισσότερο αλκαλικό, ενώ η γλυκόζη και το κάλιο κυμαίνονται στα ίδια επίπεδα[2, 3, 9].

1.3 Διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού κάτω από φυσιολογικές συνθήκες

Ο όγκος του υπεζωκοτικού υγρού προκύπτει από την ισορροπία της κίνησης του υπεζωκοτικού υγρού μέσα και έξω από την υπεζωκοτική κοιλότητα. Η κίνηση αυτή διέπεται από τις δυνάμεις του Starling, την απαγωγή του υγρού από τα στόματα των λεμφαγγείων του υπεζωκότα και από την ανταλλαγή υγρού και ηλεκτρολυτών διαμέσου του μεσοθηλίου και των δύο πετάλων του υπεζωκότα[9]. Σύμφωνα με την κλασσική εξίσωση του Starling η διαϋπεζωκοτική κίνηση υγρού (J_v) είναι ίση με την συνολική διαφορά πίεσης (ΔP) 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 ΔP 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, π_{liq} η κολλοειδωσμητική πίεση του υπεζωκοτικού υγρού, π_c η κολλοειδωσμητική πίεση στα τριχοειδή και σ μία σταθερά που καθορίζεται από την διαπερατότητα της μεμβράνης στις πρωτεΐνες και άλλα μακρομόρια[9].

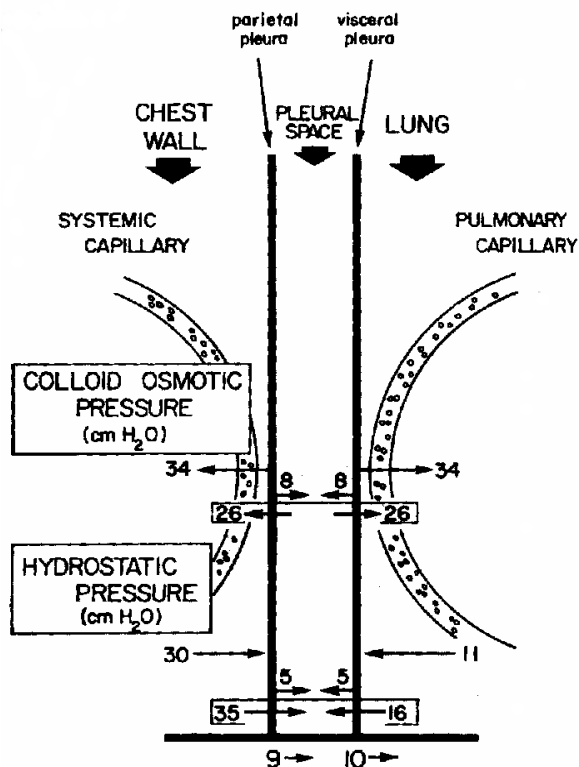
1.4 Ο ρόλος των πιέσεων στη διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού

Για περισσότερο από εβδομήντα χρόνια η θεωρία που επικρατούσε στηριζόταν στην ισορροπία μεταξύ της υδροστατικής και της κολλοειδωσμητικής πίεσης που υπάρχει στα πέταλα του υπεζωκότα. Η καθιερωμένη αντίληψη που θεωρούσε ότι το υγρό φυσιολογικά μετακινείται μέσω της υπεζωκοτικής κοιλότητας από τον τοιχωματικό, λόγω των υψηλών πιέσεων, στον σπλαχνικό υπεζωκότα που χαρακτηρίζεται από χαμηλές πιέσεις, έχει αλλάξει. Η νέα θεωρία που επικρατεί, θεωρεί ότι το υγρό φυσιολογικά εισέρχεται στην υπεζωκοτική κοιλότητα κυρίως από τα αγγεία της συστηματικής κυκλοφορίας του τοιχωματικού υπεζωκότα, αλλά και από τα αγγεία του σπλαχνικού υπεζωκότα[3, 9].

Τα τριχοειδή του τοιχωματικού υπεζωκότα προέρχονται από την συστηματική κυκλοφορία και έχουν υδροστατική πίεση $30\text{cmH}_2\text{O}$. Οι δυνάμεις ελαστικής επαναφοράς των πνευμόνων καθιστούν την ενδοθωρακική πίεση μικρότερη της ατμοσφαιρικής κατά το μεγαλύτερο χρονικό διάστημα της αναπνοής, με αποτέλεσμα η μέση τιμή της να είναι $-5\text{cmH}_2\text{O}$. Αυτή η διαφορά [$30\text{cmH}_2\text{O}-(-5\text{cmH}_2\text{O})$] προκαλεί μία καθαρή υδροστατική πίεση **$35\text{cmH}_2\text{O}$** , η οποία τείνει να μεταφέρει υγρό από τον τοιχωματικό υπεζωκότα προς την υπεζωκοτική κοιλότητα (εικόνα 2). Τα τριχοειδή του σπλαχνικού υπεζωκότα προέρχονται κυρίως από την πνευμονική κυκλοφορία, με υδροστατική πίεση $11\text{cmH}_2\text{O}$. Η διαφορά μεταξύ της υδροστατικής πίεσης του σπλαχνικού υπεζωκότα και της πίεσης της υπεζωκοτικής κοιλότητας, η οποία είναι **$16\text{cmH}_2\text{O}$** [$11\text{cmH}_2\text{O}-(-5\text{cmH}_2\text{O})$], συντελεί στην ροή υγρού από τον σπλαχνικό υπεζωκότα στην υπεζωκοτική κοιλότητα (εικόνα 2)[3, 9, 10].

Η κολλοειδωσμητική πίεση και στα δύο πέταλα του υπεζωκότα είναι $34\text{cmH}_2\text{O}$, ενώ μέσα στην υπεζωκοτική κοιλότητα είναι μικρότερη ($8\text{cmH}_2\text{O}$), καθώς μόνο ένα μικρό ποσοστό μεγάλων μορίων μπορεί να περάσει το ενδοθήλιο των τριχοειδών και να εισέλθει στην υπεζωκοτική κοιλότητα. Η οσμωτική πίεση τείνει να συγκρατήσει το υγρό. Έτσι, η διαφορά πίεσης μεταξύ του τοιχωματικού

υπεζωκότα και της υπεζωκοτικής κοιλότητας ($26\text{cmH}_2\text{O}$) συνεπάγεται την μετακίνηση υγρού από την υπεζωκοτική κοιλότητα προς τον τοιχωματικό υπεζωκότα. Η ίδια διαφορά ($26\text{cmH}_2\text{O}$) υπάρχει μεταξύ του σπλαχνικού υπεζωκότα και της υπεζωκοτικής κοιλότητας, προκαλώντας ροή υγρού από την κοιλότητα στον σπλαχνικό υπεζωκότα.



Εικόνα 2. Διαγραμματική παρουσίαση των αναπτυσσόμενων πιέσεων κατά το σχηματισμό και απορρόφηση του πλευριτικού υγρού

Τελικά, υπάρχει μία διαφορά πιέσεων $35\text{cmH}_2\text{O}-26\text{cmH}_2\text{O}=9\text{cmH}_2\text{O}$ που οδηγεί το υγρό από τον τοιχωματικό υπεζωκότα προς την υπεζωκοτική κοιλότητα και μία διαφορά $26\text{cmH}_2\text{O}-16\text{cmH}_2\text{O}=10\text{cmH}_2\text{O}$, που ωθεί το υγρό έξω από την κοιλότητα προς τον σπλαχνικό υπεζωκότα (Εικόνα 2). Η ανατομική διαφορά ανάμεσα στα τριχοειδή του σπλαχνικού και του τοιχωματικού πετάλου του υπεζωκότα είναι ο βασικός παράγοντας που δημιουργεί τη φυσική ροή του υγρού από τον τοιχωματικό στον σπλαχνικό υπεζωκότα, μέσω της υπεζωκοτικής κοιλότητας. Η απομάκρυνση του υγρού, υπό φυσιολογικές συνθήκες, γίνεται από τα λεμφαγγεία του τοιχωματικού υπεζωκότα, τα οποία αποτελούν το λεμφικό

σύστημα του υπεζωκότα και συνδέονται άμεσα με την υπεζωκοτική κοιλότητα[3, 10].

1.5 Παθοφυσιολογία παραγωγής του πλευριτικού υγρού

Ο σχηματισμός μεγάλης ποσότητας υπεζωκοτικού υγρού μπορεί να οφείλεται σε έναν ή περισσότερους από τους παρακάτω έξι μηχανισμούς[10, 11]:

1. Αύξηση της υδροστατικής πίεσης στη μικροκυκλοφορία του υπεζωκότα. Ευθύνεται συχνά για την υπεζωκοτική συλλογή που παρατηρείται στην *καρδιακή ανεπάρκεια*.
2. Ελάττωση της υδροστατικής πίεσης εντός της υπεζωκοτικής κοιλότητας (*ατελεκτασία πνεύμονα*). Έχει διαπιστωθεί ότι, στην ολική ατελεκτασία πνεύμονα, η υπεζωκοτική πίεση μπορεί να κατέλθει σε επίπεδα $<-20\text{cmH}_2\text{O}$. Οι αρνητικές αυτές πιέσεις προκαλούν απόλυτη αύξηση της υδροστατικής πίεσης και υπεζωκοτική συλλογή.
3. Ελάττωση της κολλοειδωσμητικής πίεσης (*υπολευκωματιναιμία, νεφρωτικό σύνδρομο*). Μόνη της σπάνια προκαλεί υπεζωκοτική συλλογή, λόγω της μεγάλης απορροφητικής ικανότητας των λεμφαγγείων. Αν όμως συνδυαστεί με την παρεμπόδιση της λεμφικής παροχέτευσης είναι δυνατόν να δημιουργηθούν μεγάλες υπεζωκοτικές συλλογές.
4. Αύξηση της διαπερατότητας των τριχοειδών του υπεζωκότα (*πλευρίτιδα*). Αποτελεί την δεύτερη, μετά την αύξηση της υδροστατικής πίεσης, αιτία της υπεζωκοτικής συλλογής. Η διαπερατότητα των τριχοειδών αυξάνεται στις φλεγμονές του υπεζωκότα, όπου παρεμποδίζεται η παροχέτευση του υγρού που συγκεντρώνεται στην υπεζωκοτική κοιλότητα με την απόφραξη των λεμφικών στομάτων.
5. Απόφραξη του λεμφικού συστήματος από το ύψος των “στομάτων” μέχρι των μεσαυλικών λεμφαδένων. Συχνά αίτια είναι οι νεοπλασίες, οι φλεγμονές και η ίνωση.
6. Παθητική μετακίνηση του περιτοναϊκού υγρού μέσω διαφραγματικών ελλειμμάτων, λόγω της υφιστάμενης διαφοράς πίεσης μεταξύ περιτοναϊκής και υπεζωκοτικής κοιλότητας.

2. ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΕΣ ΣΥΛΛΟΓΕΣ

Ως υπεζωκοτική συλλογή χαρακτηρίζεται η αύξηση του υγρού εντός της υπεζωκοτικής κοιλότητας, σε ποσότητα ικανή να αποκαλυφθεί στον ακτινολογικό έλεγχο. Για τη συλλογή αυτή ευθύνονται διαταραχές στη σχέση παραγωγής-απορρόφησης του πλευριτικού υγρού. Η πρωτοπαθής νόσος αφορά συχνότερα τον υπεζωκότα και τον πνεύμονα και σπανιότερα άλλα παρακείμενα όργανα (ήπαρ, πάγκρεας, οισοφάγο). Επίσης, υπεζωκοτικές συλλογές εμφανίζονται σε συστηματικά νοσήματα, σε κακώσεις και μετά από λήψη φαρμάκων[12].

Οι υπεζωκοτικές συλλογές διακρίνονται σε δύο μεγάλες ομάδες: τις εξιδρωματικές και τις διιδρωματικές (πίνακας 1). Οι εξιδρωματικές είναι το αποτέλεσμα φλεγμονής του υπεζωκότα (πλευρίτιδες) και χαρακτηρίζονται από αυξημένη διαπερατότητα των τριχοειδών σε μεγαλομοριακές ενώσεις (λευκώματα). Αντίθετα, στις διιδρωματικές ο υπεζωκότας είναι αμέτοχος και η διίδρωση οφείλεται στην αύξηση της πίεσης διήθησης (υδροστατική-κolloειδωσμητική) στα τριχοειδή του[13].

Οι αιτίες πρόκλησης υπεζωκοτικής συλλογής μπορούν να διαιρεθούν σε τρεις κατηγορίες[10]:

1. Αυτές που τροποποιούν την ισορροπία των ενδοϋπεζωκοτικών πιέσεων.
2. Αυτές που εμποδίζουν την λεμφική παροχέτευση.
3. Αυτές που αυξάνουν τη διαπερατότητα του μεσοθηλίου του υπεζωκότα ή του ενδοθηλίου των τριχοειδών.

Οι αιτίες που τροποποιούν την ισορροπία των δυνάμεων του Starling είναι συνήθως εξωϋπεζωκοτικές, αυτές που μειώνουν την λεμφική παροχέτευση μπορεί να αφορούν τα υπεζωκοτικά ή τα εξωϋπεζωκοτικά λεμφαγγεία, ενώ αυτές που προκαλούν απώλεια της εκλεκτικότητας της μεμβράνης υποχρεωτικά εμπλέκουν το μεσοθήλιο του υπεζωκότα[10]. Εκτός από την πρώτη περίπτωση η συγκέντρωση των πρωτεϊνών του υπεζωκοτικού υγρού αυξάνει πάνω από το φυσιολογικό. Αυτό το χαρακτηριστικό οδηγεί στο διαχωρισμό των υπεζωκοτικών συλλογών σε διιδρώματα (με φυσιολογική συγκέντρωση πρωτεΐνης υπεζωκοτικού υγρού) και εξιδρώματα[10].

Διιδρώματα	Νοσήματα κολλαγόνου
Καρδιακή ανεπάρκεια	Ρευματοειδής αρθρίτιδα
Νεφρική ανεπάρκεια	ΣΕΛ
Κίρρωση	Σύνδρομο Churg-Strauss
Περιτοναϊκή κάθαρση	Μικτή νόσος του συνδετικού ιστού
Νόσος περικαρδίου	Ανοσοβλαστική λεμφαδενοπάθεια
Νεφρωσικό σύνδρομο	Σύνδρομο Sjogren
Υποθυρεοειδισμός	Κοκκιωμάτωση Wegener
Πνευμονική εμβολή	Μετά από χειρουργικές επεμβάσεις
Υπολευκωματιναιμία	Μετά από αορτοστεφανιαία παράκαμψη
Ουρινοθώρακας	Χειρουργική επέμβαση κοιλίας
Σύνδρομο Meigs	Μεταμόσχευση πνεύμονα
Σαρκοειδωση	Σκληροθεραπεία κιστών οισοφάγου
Εξιιδρώματα	Άλλα
Νεοπλάσματα	Πνευμονική εμβολή
Κακήθες μεσοθηλίωμα	Σύνδρομο Dressler
Μεταστατικό καρκίνωμα	Έκθεση σε αμίαντο
Λέμφωμα	Σαρκοειδωση
Λοιμώδη νοσήματα	Σύνδρομο Meigs
Φυματίωση	Σύνδρομο κίτρινων νυχιών
Βακτηριακές λοιμώξεις	Φάρμακα
Ιογενείς λοιμώξεις	Ουραιμική πλευρίτιδα
Μυκητιασικές λοιμώξεις	Μετακτινική πλευρίτιδα
Παρασιτικές λοιμώξεις	Ηλεκτρικά εγκαύματα
Νοσήματα ΓΣ	Σύνδρομο υπερδιέγερσης ωθηκών
Ρήξη οισοφάγου	Χυλοθώρακας
Παγκρεατίτιδα	Αιμοθώρακας
Ενδοκοιλιακό απόστημα	Παγιδευμένος πνεύμονας

Πίνακας 1. Αίτια υπεζωκοτικών συλλογών

2.1 ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΩΝ ΣΥΛΛΟΓΩΝ

Η αιτιολογία των υπεζωκοτικών συλλογών συνήθως εξαρτάται από τη γεωγραφική περιοχή. Για παράδειγμα, στις περισσότερες χώρες της Ευρώπης και στις ΗΠΑ οι πιο σημαντικές αιτίες υπεζωκοτικής συλλογής είναι η καρδιακή ανεπάρκεια, οι μη-φυματιώδης λοιμώξεις και οι κακοήθειες, ενώ στις λιγότερο αναπτυγμένες χώρες η φυματίωση είναι συχνή αιτία[14]. Κάποιοι τύποι συλλογών, όπως αυτές που οφείλονται σε παθήσεις του κολλαγόνου ή σε έκθεση σε αμίαντο, περιγράφονται σχεδόν αποκλειστικά στο δυτικό κόσμο [14](πίνακας 2).

Η κατά προσέγγιση ετήσια επίπτωση των διαφόρων τύπων υπεζωκοτικής συλλογής στις ΗΠΑ			
Αιτιολογία	Αριθμός	Ποσοστό %	Ποσοστό συλλογών μη καρδιακής αιτιολογίας
Συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια	500.000	37,5	
Άλλα αίτια		63,5	
Πνευμονία	400.000		48,0
Κακοήθειες παθήσεις	200.000		24,0
Πνευμονική εμβολή	150.000		18,0
Κίρρωση με ασκίτη	50.000		6,0
Παθήσεις του γαστρεντερικού	25.000		3,0
Νοσήματα του κολλαγόνου	6.000		0,7
Φυματίωση	2.500		0,3
Αμιάντωση	2.000		0,3
Μεσοθηλίωμα	1.500		0,2
Σύνολο	1.337.000	100%	100%

Πίνακας 2. Αιτιολογία Υπεζωκοτικών Συλλογών

2.2 ΣΥΝΗΘΕΙΣ ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΠΟΥ ΣΥΝΔΕΟΝΤΑΙ ΜΕ ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΕΣ ΣΥΛΛΟΓΕΣ

2.2.1 Συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια

Η συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια είναι η πιο συχνή αιτία των διιδρωμάτων και πιθανόν η πιο συχνή αιτία όλων των υπεζωκοτικών συλλογών. Η υπεζωκοτική συλλογή που οφείλεται στην καρδιακή ανεπάρκεια μπορεί να είναι αμφοτερόπλευρη (60 – 88%) ή να εντοπίζεται στο ένα ημιθωράκιο[15], με διπλάσια συχνότητα στο δεξιό σε σχέση με το αριστερό και σύμφωνα με τα κριτήρια του Light είναι συνήθως διίδρωμα. Εξαιτίας της ισχυρής σχέσης μεταξύ καρδιακής

ανεπάρκειας και υπεζωκοτικής συλλογής, η θωρακοκέντηση συνιστάται μόνο όταν υπάρχει συλλογή στο ένα ημιθωράκιο ή είναι αμφοτερόπλευρη αλλά ανόμοιου μεγέθους και όταν ο ασθενής έχει πλευριτικό άλγος ή πυρετό[16].

Το υπεζωκοτικό υγρό είναι διαυγές αχυρόχρουν και στο 75% των περιπτώσεων τα επίπεδα των λευκωμάτων είναι χαμηλότερα από 3.0g/dL. Ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων είναι χαμηλότερος από 1000/μL (κυρίως μονοπύρρηνα), ενώ η τιμή του pH είναι παρόμοια με αυτή του αίματος. Το ειδικό βάρος στο 90% των ασθενών είναι <1016. Η τιμή της γαλακτικής δεϋδρογενάσης είναι <200U/L, ενώ αυτή της χοληστερόλης <60mg/dL[1, 17].

Παρόλο που είναι γενικά παραδεκτό ότι η καρδιακή ανεπάρκεια προκαλεί διϊδρωματική υπεζωκοτική συλλογή, πολλοί ασθενείς έχουν εξιδρωματικές συλλογές. Όταν συμβαίνει αυτό δύο παράγοντες πρέπει να ληφθούν υπόψη. Πρώτον η λήψη διουρητικών που μετακινεί υγρό έξω από την υπεζωκοτική κοιλότητα και οδηγεί σε αύξηση της συγκέντρωσης πρωτεϊνών και LDH στο υπεζωκοτικό υγρό και δεύτερον οι επανειλημμένες θωρακεντήσεις που αυξάνουν την LDH του υπεζωκοτικού υγρού εξαιτίας κυτταρικής βλάβης[16].

Όταν η καρδιακή ανεπάρκεια θεραπεύεται με επιτυχία, η υπεζωκοτική συλλογή υποχωρεί σε λιγότερο από ένα μήνα. Περιστασιακά, σε επιμένουσες περιπτώσεις μπορεί να απαιτηθούν επαναλαμβανόμενες παρακεντήσεις ή χημική πλευρόδεση για την ανακούφιση των συμπτωμάτων[18].

2.2.2 Παραπνευμονική συλλογή και εμπύημα

Η παραπνευμονική υπεζωκοτική συλλογή είναι το επακόλουθο μιας λοίμωξης του πνεύμονα όπως είναι η πνευμονία, το απόστημα ή οι βρογχιεκτασίες[19]. Κάθε μικροοργανισμός που προσβάλει του πνεύμονες, όπως βακτήρια, άτυποι μικροοργανισμοί, παράσιτα, μύκητες και πρωτόζωα μπορεί να προκαλέσουν παραπνευμονική υπεζωκοτική συλλογή. Πάνω από 40% των ασθενών με πνευμονία αναπτύσσουν υπεζωκοτική συλλογή και το ποσοστό αυξάνει στο 57% στην πνευμονία από πνευμονιόκοκκο[20]. Η παραπνευμονική συλλογή η οποία είναι η συχνότερη αιτία υπεζωκοτικής συλλογής που προσβάλλει νεαρά σε ηλικία άτομα[21] διακρίνεται σε μη επιπλεγμένη, επιπλεγμένη και εμπύημα[22]. Η βιοχημική ανάλυση του υπεζωκοτικού υγρού βοηθάει στο διαχωρισμό μεταξύ μη επιπλεγμένης και επιπλεγμένης συλλογής (πίνακας 3). Η μη

επιπλεγμένη υπεζωκοτική συλλογή χαρακτηρίζεται από $\text{pH} > 7,20$, $\text{LDH} < 1000 \text{ U/l}$ και γλυκόζη $> 40 \text{ mg/dl}$ στο υπεζωκοτικό υγρό, ενώ οι αντίστοιχες τιμές στην επιπλεγμένη συλλογή είναι $\text{pH} < 7,20$, $\text{LDH} > 1000 \text{ U/l}$ και γλυκόζη $< 40 \text{ mg/dl}$ [19].

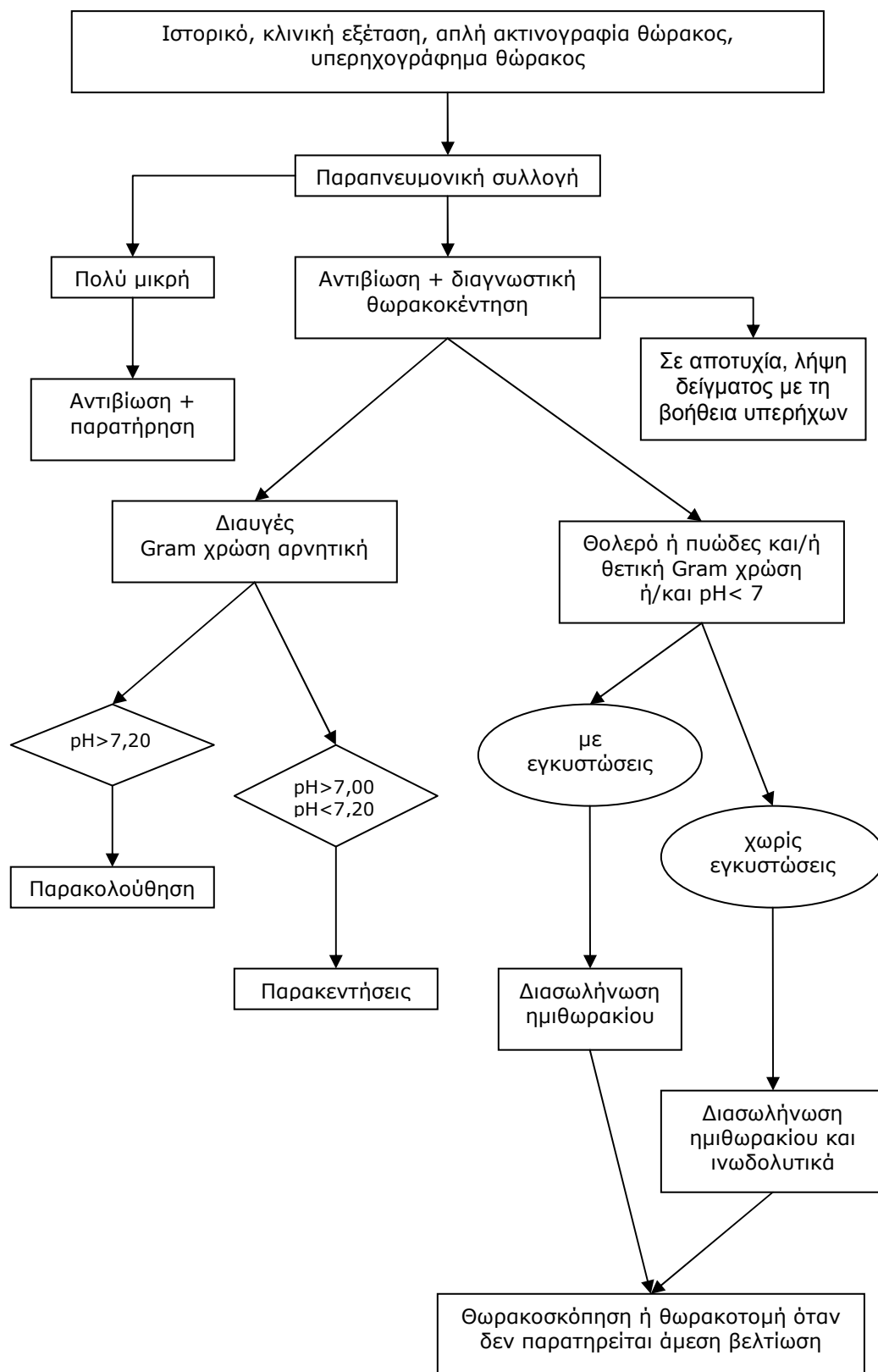
Εμπύημα είναι η συλλογή πύου στην υπεζωκοτική κοιλότητα ή υγρού με θετική καλλιέργεια ή Gram χρώση[19]. Στο σχήμα 1 φαίνεται ένας διαγνωστικός αλγόριθμος για την αντιμετώπιση των παραπνευμονικών συλλογών και του εμπύηματος. Η αντιμετώπιση των ασθενών με παραπνευμονική συλλογή ή εμπύημα πάντα περιλαμβάνει τη χορήγηση αντιβιοτικής αγωγής.

Σε επιπλεγμένη συλλογή η παροχέτευση με χρήση ενδοθωρακικού σωλήνα είναι απαραίτητη, για την αποφυγή της εξέλιξης σε εμπύημα, από τη στιγμή που οι επανειλημμένες παρακεντήσεις συνήθως δεν είναι αποτελεσματικές[23]. Η παρατεταμένη και ανεπιτυχής διασωλήνωση του ημιθωρακίου συνοδεύεται από αυξημένη νοσηρότητα και υψηλή θνητότητα που φτάνει το 20% και στις περιπτώσεις αυτές πρέπει να λαμβάνονται αποφάσεις για πιο επεμβατική αντιμετώπιση[22]. Στη Μεγάλη Βρετανία πάνω από το 40% των ασθενών με εμπύημα χειρουργούνται, λόγω της αποτυχίας να παροχετευθεί το υπεζωκοτικό υγρό με καθετήρα[8]. Όταν οι τιμές του pH είναι μεταξύ 7,0 και 7,2, η LDH περίπου 1000 U/l και η γλυκόζη 40 mg/dl θα πρέπει να γίνεται επανάληψη των θωρακεντήσεων και εργαστηριακή ανάλυση του υγρού σε 24 και 48 ώρες[24].

Στις επιπλεγμένες παραπνευμονικές συλλογές και στο εμπύημα πρέπει να γίνεται υπερηχογράφημα θώρακος για τη διαπίστωση της ύπαρξης εγκυστώσεων. Αν διαπιστωθούν εγκυστώσεις συνίσταται η χορήγηση ινωδολυτικών παραγόντων ενδοϋπεζωκοτικά[24].

Στάδια	Μακροσκοπικά ευρήματα υπεζωκοτικού υγρού	Χαρακτηριστικά υπεζωκοτικού υγρού	Σχόλια
Μη επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή	Διαυγές υγρό	pH >7,20 LDH <1000U/l γλυκόζη >40mg/dl Όχι μικροοργανισμοί στην καλλιέργεια ή στη Gram χρώση	Συνήθως υποχωρεί με αντιβίωση μόνο. Παροχέτευση του υγρού για ανακούφιση των συμπτωμάτων αν χρειάζεται.
Επιπλεγμένη υπεζωκοτική συλλογή	Διαυγές ή θολερό υγρό	pH <7,20 LDH >1000U/l γλυκόζη <40mg/dl Πιθανή θετική καλ/γεια / Gram χρώση	Απαιτεί παροχέτευση με ενδοθωρακικό σωλήνα.
Εμπύημα	Καθαρό πύο	Πιθανή θετική καλ/γεια / Gram χρώση	Απαιτεί παροχέτευση με ενδοθωρακικό σωλήνα.

Πίνακας 3. Χαρακτηριστικά των παραπνευμονικών υπεζωκοτικών συλλογών.



Σχήμα 1. Διαγνωστικός αλγόριθμος για την αντιμετώπιση των παραπνευμονικών συλλογών και του εμπυήματος.

2.2.3 Φυματίωση

Η φυματίωση είναι η συχνότερη αιτία θανάτου λοιμώδους αιτιολογίας. Σύμφωνα με τον παγκόσμιο οργανισμό υγείας περισσότεροι από 8.000.000 νοσούν κάθε έτος παγκοσμίως, ενώ δύο εκατομμύρια άνθρωποι περίπου πεθαίνουν ετησίως. Το 95% των περιπτώσεων εμφανίζεται στις αναπτυσσόμενες χώρες[25]. Η συχνότητα της φυματιώδους πλευρίτιδας ως εκδήλωση της φυματίωσης ποικίλλει. Στις ΗΠΑ[26] η φυματιώδη πλευρίτιδα αντιπροσωπεύει το 5% όλων των περιπτώσεων φυματίωσης, ενώ στην Ισπανία[27] το αντίστοιχο ποσοστό είναι 23%. Τα ποσοστά αυτά αυξάνουν στις χώρες της Βορείου Αφρικής[21] με 31% όλων των περιπτώσεων φυματίωσης και 37% για τη Σαουδική Αραβία[21].

Στις χώρες με υψηλή συχνότητα φυματίωσης, η φυματιώδη πλευρίτιδα παρατηρείται τυπικά κατά τη πρωτοπαθή λοίμωξη και προσβάλλει κυρίως νέα άτομα, ενώ σε χώρες όπου η φυματίωση είναι σπάνια εμφανίζεται συχνά στα πλαίσια αναζωπύρωσης της νόσου και προσβάλλει μεγαλύτερης ηλικίας ασθενείς[12].

Η υπόθεση για τη παθογένεια της φυματιώδους πλευρίτιδας είναι ότι μετά από ρήξη μια περιφερικής παρεγχυματικής τυρώδους εστίας εντός της υπεζωκοτικής κοιλότητας, 6-12 εβδομάδες μετά τη πρωτοπαθή λοίμωξη ακολουθεί η είσοδος μικρού αριθμού μυκοβακτηριδίων της φυματίωσης στην υπεζωκοτική κοιλότητα, τα οποία αλληλεπιδρούν με T-κύτταρα με αποτέλεσμα να προκαλείται μια φλεγμονώδη αντίδραση υπερευαισθησίας. Αποτέλεσμα της αντίδρασης αυτής είναι η αύξηση της διαπερατότητας των τριχοειδών του υπεζωκότα και η αύξηση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών στο υπεζωκοτικό υγρό με συνέπεια την αύξηση του σχηματισμού και της συσσώρευσης του υπεζωκοτικού υγρού εντός της υπεζωκοτικής κοιλότητας[28].

Οι ασθενείς με φυματιώδη πλευρίτιδα έχουν υποξεία συμπτώματα όπως πλευροδυνία, πυρετό και βήχα, αν και μπορεί να είναι έντονα σε μερικές περιπτώσεις[29]. Η φυματιώδης υπεζωκοτική συλλογή συνήθως είναι ετερόπλευρη καταλαμβάνοντας μικρή έως μέτρια έκταση, ενώ δεν αποκλείεται να είναι μαζική σε μικρότερο ποσοστό[18]. Αμφοτερόπλευρη συλλογή παρατηρείται περίπου στο 10% των περιπτώσεων, ενώ είναι συχνότερη στους θετικούς με HIV ασθενείς[21],

30]. Στο 93% των περιπτώσεων τα λεμφοκύτταρα είναι πάνω από 90%[10], ενώ επικράτηση των πολυμορφοπύρηνων μπορεί να συμβεί κατά τη διάρκεια των δύο πρώτων εβδομάδων[10, 31]. Εάν πάνω από το 10% των λευκοκυττάρων είναι ηωσινόφιλα η συλλογή είναι απίθανο να είναι φυματιώδους αιτιολογίας εκτός σε περιπτώσεις πνευμοθώρακα ή αν έχει προηγηθεί παρακέντηση[10]. Ομοίως σπάνια η συλλογή είναι φυματιώδης πλευρίτιδα αν πάνω από το 5% των κυττάρων είναι μεσοθηλιακά[10, 31]. Το υπεζωκοτικό υγρό είναι ορώδες εξίδρωμα, οι πρωτεΐνες συνήθως είναι πάνω από 5 g/dl, και η LDH πάνω από 500 IU/L[21]. Η γλυκόζη του υπεζωκοτικού υγρού είναι όμοια με αυτή του ορού, ενώ στο 20% των περιπτώσεων μπορεί να είναι κάτω από 60 mg/dL[21]. Το pH είναι σχεδόν πάντα περίπου 7,40 και στο 20% των περιπτώσεων μπορεί να είναι κάτω από 7,30[32].

Η διάγνωση της φυματιώδους πλευρίτιδας επιβεβαιώνεται με την ανεύρεση του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης στα πτύελα, στο υπεζωκοτικό υγρό και στο ιστοτεμάχιο της βιοψίας υπεζωκότα καθώς και με την ανεύρεση κοκκιώματος στον τοιχωματικό υπεζωκότα[33]. Ωστόσο πολλές φορές μπορεί να είναι δύσκολη. Το 1/3 των ασθενών έχουν αρνητική δερμοαντίδραση φυματίνης[33, 34] και μόνο περίπου το 5% ανιχνεύεται με τη χρώση Ziehl-Nielsen η οποία απαιτεί συγκέντρωση βακίλων τουλάχιστον 10.000/ml[33]. Η καλλιέργεια του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης στο υπεζωκοτικό υγρό έχει ευαισθησία στο 10-47%[12] των περιπτώσεων και χρειάζεται 2-6 εβδομάδες, η καλλιέργεια πτυέλων είναι θετική στο 30-50%, και η ευαισθησία της PCR[35] ποικίλλει από 20-81% εξαρτώμενη κυρίως από τη συγκέντρωση των βακίλων στο δείγμα. Η καλλιέργεια υλικού βιοψίας υπεζωκότα έχει ευαισθησία από 55 έως 85%[12], ενώ η ιστολογική εξέταση υλικού βιοψίας υπεζωκότα έχει ευαισθησία από 50-85%[12]. Ο συνδυασμός της καλλιέργειας και της ιστολογικής εξέτασης υλικού βιοψίας υπεζωκότα αυξάνει τη διάγνωση της φυματιώδους πλευρίτιδας έως και 86% των περιπτώσεων, αλλά ενδέχεται να δώσουν αρνητικά αποτελέσματα στις 10 με 20% των περιπτώσεων[12].

Οι ασθενείς με φυματιώδη υπεζωκοτική συλλογή θα πρέπει να λαμβάνουν αντιφυματική αγωγή όπως οι ασθενείς με φυματίωση. Η φαρμακευτική αγωγή περιλαμβάνει εξάμηνο θεραπευτικό σχήμα με ισονιαζίδη, ριφαμπικίνη και πυραζιναμίδα τους πρώτους δύο μήνες και ισονιαζίδη, ριφαμπικίνη τους επόμενους τέσσερις μήνες[31].

2.2.4 Κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές

Οι κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές είναι από τις συχνότερες αιτίες υπεζωκοτικής συλλογής στις αναπτυγμένες χώρες και προσβάλλει κυρίως ασθενείς άνω των 60 ετών. Ο καρκίνος του πνεύμονα και του μαστού είναι οι συχνότεροι όγκοι που προκαλούν κακοήγη υπεζωκοτική συλλογή αντιπροσωπεύοντας το 65% των περιπτώσεων[36]. Ακολουθούν ο καρκίνος των ωοθηκών και του γαστρεντερικού σωλήνα, οι οποίοι είναι οι επόμενοι δύο πιο συχνοί τύποι που κάνουν μετάσταση στον υπεζωκότα και αντιπροσωπεύουν το 6 με 10% και το λέμφωμα που συναντάται περίπου στο 10% των κακοηθών υπεζωκοτικών συλλογών[37]. Υπεζωκοτικές συλλογές από άγνωστη πρωτοπαθή εστία είναι υπεύθυνες για το 7–15 % όλων των κακοηθών υπεζωκοτικών συλλογών[36]. Οι κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές είναι κατά κανόνα μαζικές. Παρόλα αυτά ένα ποσοστό (μεγαλύτερο από 25%) ασθενών είναι ασυμπτωματικοί κατά την προσέλευση και διαγιγνώσκονται από τυχαία ακτινογραφία θώρακος ή φυσική εξέταση. Η δύσπνοια είναι το πιο συχνό σύμπτωμα και μπορεί να συνοδεύεται από βήχα και θωρακικό άλγος. Συνοδά συμπτώματα όπως η απώλεια βάρους, η ανορεξία και η κακουχία συνυπάρχουν με τα συμπτώματα του αναπνευστικού[37].

Το υπεζωκοτικό υγρό μπορεί να είναι ορώδες, οροαιματηρό ή συνηθέστερα αιματηρό, εξίδρωμα και πλούσιο σε T-λεμφοκύτταρα, ενώ ένα μικρό ποσοστό (περίπου 5%) των κακοηθών υπεζωκοτικών συλλογών είναι διιδρώματα[38]. Η σχέση των πρωτεϊνών του υπεζωκοτικού υγρού προς τις πρωτεΐνες του ορού είναι χαμηλότερη από 0,5 περίπου στο 20% των κακοηθών υπεζωκοτικών συλλογών, αλλά η αντίστοιχη σχέση της LDH είναι πάντα πάνω από 0,6[39]. Η γλυκόζη και το pH του υπεζωκοτικού υγρού είναι χαμηλά περίπου στο 30% των ασθενών με κακοήγη υπεζωκοτική συλλογή[40]. Η χαμηλή τιμή της γλυκόζης, η οποία κυμαίνεται μεταξύ 30 και 50 mg/dl και του pH που είναι μεταξύ 7,05 και 7,29 συνδέονται με κακή πρόγνωση της πορείας των ασθενών και πιθανή αποτυχία της χημικής πλευρόδεσης[41].

Η διάγνωση στηρίζεται στην εύρεση κακοηθών κυττάρων στο υπεζωκοτικό υγρό ή κακοηθών διηθήσεων στην βιοψία υπεζωκότα. Η αποτελεσματικότητα του συνδυασμού των δύο αυτών τεχνικών ανέρχεται στο 65 – 90%[42]. Βιοψίες μετά

από θωρακοσκόπηση είναι θετικές σε ποσοστό μεγαλύτερο από 90% των περιπτώσεων. Τέλος θωρακοτομή ενδείκνυται σε λίγες περιπτώσεις όπου υπάρχει ισχυρή υποψία νεοπλάσματος και οι παραπάνω τεχνικές είναι αρνητικές[43].

Οι θεραπευτικές επιλογές για τις κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές καθορίζονται από διάφορους παράγοντες: τα συμπτώματα και τη γενική κατάσταση του αρρώστου, τον πρωτοπαθή όγκο και την ανταπόκριση στη συστηματική θεραπεία και από την επανέκπτυξη του πνεύμονα μετά την απομάκρυνση του υπεζωκοτικού υγρού. Η χημειοθεραπεία μπορεί να είναι αποτελεσματική σε συλλογές εξαιτίας λεμφώματος, μικροκυτταρικού καρκίνου πνεύμονος και καρκίνου μαστού. Ασθενείς με μεγάλες συμπτωματικές συλλογές και προσδόκιμο επιβίωσης περισσότερο από ένα μήνα θα πρέπει να θεραπεύονται με χημική πλευρόδεση. Στον πίνακα 4 φαίνονται οι θεραπευτικές επιλογές για τις κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές[36].

	Θεραπευτική επιλογή	Πλεονεκτήματα	Μειονεκτήματα
Συνήθεις επιλογές	Παρακολούθηση	Ενδείκνυται για μικρές ασυμπτωματικές συλλογές	Συνήθως αυξάνονται σε μέγεθος και απαιτείται παρέμβαση
	Θεραπευτική θωρακοκέντηση	Παροδική και γρήγορη ανακούφιση από τη δύσπνοια, ελάχιστα επεμβατική, κατάλληλη για εξωτερικούς ασθενείς	Υψηλό ποσοστό επανάληψης, κίνδυνος για ιατρογενές εμπύημα και πνευμοθώρακα
	Ενδοθωρακικός σωλήνας και έγχυση χημικού παράγοντα Θωρακοσκόπηση και πλευρόδεση με τάλκη	Ποσοστό επιτυχίας >40%, λίγες επιπλοκές Υψηλό ποσοστό επιτυχίας (90%)	Παρενέργειες χημικών παραγόντων Επεμβατική διαδικασία, μπορεί να μην είναι διαθέσιμη
Λιγότερο συνήθεις επιλογές	Μεγάλης διάρκειας ενδοθωρακικός καθετήρας για παροχέτευση Πλευρο-περιτοναϊκή βαλβίδα	Κατάλληλος για εξωτερικούς ασθενείς, μέτριος βαθμός επιτυχίας Χρήσιμη για δύσκολες συλλογές και εγκλωβισμένο πνεύμονα	Τοπική λοίμωξη, κίνδυνος διασποράς όγκου σε μεσοθελίωμα Λοίμωξη, σύγκλειση
	Πλευρεκτομή	Πολύ χαμηλό ποσοστό επανάληψης	Επεμβατική διαδικασία, σημαντική νοσηρότητα και θνησιμότητα

Πίνακας 4. Θεραπευτικές επιλογές για τις κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές.

2.2.5 Αυτοάνοσα νοσήματα

Οι ασθενείς με παθήσεις του συνδετικού ιστού μπορεί να παρουσιάσουν υπεζωκοτικές συλλογές, η διάγνωση των οποίων μερικές φορές είναι δύσκολη. Το κυριότερο πρόβλημα είναι η αναγνώριση αν η συλλογή οφείλεται δευτεροπαθώς στην κολλαγόνωση ή σε διάφορες άλλες πιθανές καταστάσεις, όπως είναι η λοίμωξη του πνεύμονα και η καρδιακή ανεπάρκεια.

2.2.5.1 Ρευματοειδής αρθρίτιδα

Περίπου 5% των ασθενών με ρευματοειδή αρθρίτιδα αναπτύσσουν υπεζωκοτικές συλλογές[44]. Η πλειοψηφία είναι άνδρες, πάνω από 35 ετών με μακράς διάρκειας συμπτωματική αρθρίτιδα, οι οποίοι συνήθως προσέρχονται με μικρές ή μέτριες ετερόπλευρες συλλογές[45]. Η κλινική εικόνα των ασθενών μπορεί να μιμείται βακτηριδιακή πνευμονία ή να είναι ασυμπτωματικοί.

Το υπεζωκοτικό υγρό είναι συνήθως εξίδρωμα με όψη θολή και κιτρινοπράσινη χροιά. Τα εμπύρνηνα κύτταρα ποικίλουν από 100 κύτταρα/μL σε χρόνια συλλογή έως 15.000 κύτταρα/μL στην οξεία ρευματοειδή αρθρίτιδα. Τα ουδετερόφιλα επικρατούν στην οξεία φάση της νόσου, ενώ τα λεμφοκύτταρα στη χρόνια μορφή της[46]. Η τιμή της πρωτεΐνης του υπεζωκοτικού υγρού είναι υψηλή, ακόμη και πάνω από 7g/dl. Χαρακτηριστικό της χρόνιας ρευματοειδούς πλευρίτιδας είναι η κλασική τριάδα με επίπεδα γλυκόζης <30 mg/dl, pH <7,20 και LDH >1000 IU/L[46]. Σε οξεία ρευματοειδή πλευρίτιδα τα επίπεδα γλυκόζης και pH μπορεί να είναι φυσιολογικά[47]. Το συμπλήρωμα και τα επίπεδα του ρευματοειδούς παράγοντα (>1:320) του υπεζωκοτικού υγρού είναι ίδια ή υψηλότερα από αυτά του πλάσματος[48]. Στη βιοψία υπεζωκότα μπορεί να φανούν τα τυπικά ρευματικά οζίδια ή πιο συχνά υπεζωκοτική ίνωση. Η διάγνωση στηρίζεται στην αναγνώριση της ρευματικής ασθένειας και στον αποκλεισμό άλλων αιτιών, και όχι τόσο σε ειδικά ευρήματα από το υπεζωκοτικό υγρό και την ιστολογική εξέταση[47].

Αν και τα κορτικοστεροειδή και άλλα ανοσοκατασταλτικά έχουν δοκιμαστεί, δεν υπάρχει αποτελεσματική θεραπεία για τη ρευματική πλευρίτιδα[20]. Σε αυτούς τους ασθενείς, επειδή ο κίνδυνος για λοιμώξεις είναι υψηλός, ιδιαίτερη προσοχή απαιτείται σε χειρισμούς της υπεζωκοτικής κοιλότητας. Στην πλειοψηφία των ασθενών οι συλλογές υποχωρούν αυτόματα. Παρόλα αυτά μπορεί να αναπτυχθεί υπεζωκοτική ίνωση, η οποία αν εμποδίζει τον αερισμό των πνευμόνων πιθανόν να χρειαστεί αποφλοιώση[20].

2.2.5.2 Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος

Ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος (ΣΕΛ), πρωτοπαθής και φαρμακευτικός επηρεάζει τον υπεζωκότα πιο συχνά από οποιαδήποτε άλλη ασθένεια του κολλαγόνου. Οι περισσότεροι ασθενείς είναι γυναίκες, οποιαδήποτε ηλικίας, και σε μερικές περιπτώσεις είναι η πρώτη εκδήλωση της ασθένειας[49]. Το

πιο συχνό σύμπτωμα είναι η πλευροδυνία και μπορεί να συνυπάρχουν βήχας, δύσπνοια ή πυρετός. Η υπεζωκοτική συλλογή των ασθενών με ΣΕΛ μπορεί να οφείλεται και σε άλλους λόγους, όπως νεφρωσικό σύνδρομο και υποπρωτεϊναιμία, ουραιμία, πνευμονία, πνευμονική εμβολή, συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια ή φαρμακευτικό λύκο[49].

Το υπεζωκοτικό υγρό είναι συνήθως εξίδρωμα με επίπεδα γλυκόζης πάνω > 60 mg/dl και αυτό αποτελεί διαφοροδιαγνωστικό στοιχείο από την πλευρίτιδα που συνοδεύει την ρευματοειδή αρθρίτιδα, pH >7,35 και LDH <500 IU/L[48]. Η ανεύρεση αντιπυρηνικών αντισωμάτων και κυττάρων λύκου στο υπεζωκοτικό υγρό βοηθάει στη διάγνωση, αλλά δεν είναι απαραίτητη η μέτρηση τους, αφού ελάχιστα προσθέτουν στην πληροφορία που λαμβάνεται όταν αυτές οι μετρήσεις γίνονται στο πλάσμα[13]. Η ακτινολογική εικόνα δείχνει συνήθως συλλογές μικρές προς μέτριες, αμφοτερόπλευρες, αν και έχουν αναφερθεί ετερόπλευρες, μαζικές συλλογές[49].

Σε αντίθεση με τη ρευματοειδή αρθρίτιδα, η πλευρίτιδα του λύκου ανταποκρίνεται θεαματικά στη χορήγηση κορτικοστεροειδών[50]. Οι υπεζωκοτικές συλλογές ερυθρηματώδους λύκου σπάνια είναι μεγάλες και συνήθως δεν χρειάζεται διασωλήνωση υπεζωκότα και παροχέτευση. Στις περιπτώσεις όπου οι συλλογές είναι μεγάλες και δεν ανταποκρίνονται στη χορήγηση κορτικοστεροειδών η χημική πλευρόδεση ή η πλευρο-περιτοναϊκή βαλβίδα είναι χρήσιμες[51].

2.3 ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ

2.3.1 Διάκριση των εξιδρωμάτων από τα διιδρώματα

Το πρώτο ερώτημα που τίθεται για έναν ασθενή με υπεζωκοτική συλλογή είναι κατά πόσο η συλλογή είναι διίδρωμα ή εξίδρωμα.

Ο προσδιορισμός των ολικών πρωτεϊνών και της γαλακτικής δευδρογενάσης (LDH) ταυτόχρονα στο υπεζωκοτικό υγρό και στο πλάσμα αποτελεί το πρώτο βήμα για τη διάκριση μεταξύ εξιδρώματος και διιδρώματος. Τα εξιδρώματα έχουν τουλάχιστον ένα και τα διιδρώματα κανένα από τα παρακάτω τρία κριτήρια, γνωστά και σαν κριτήρια του Light [52]:

1. Η σχέση των πρωτεϊνών του υπεζωκοτικού υγρού προς τις πρωτεΐνες του ορού είναι >0,5.

2. Η σχέση της LDH του υπεζωκοτικού υγρού με την LDH του ορού είναι $>0,6$.

3. Τα επίπεδα της LDH του υπεζωκοτικού υγρού είναι $>2/3$ των ανωτέρων φυσιολογικών τιμών του ορού.

Με την εκτίμηση των λευκωμάτων και της LDH ολοκληρώνεται ο έλεγχος στο 35-40% των συλλογών, δηλαδή των διιδρωμάτων και στη συνέχεια αντιμετωπίζεται η κύρια νόσος.

Εκτός των κριτηρίων του Light και άλλες διαγνωστικές δοκιμασίες χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση ενός εξιδρώματος. Επίπεδα χοληστερόλης του υπεζωκοτικού υγρού υψηλότερα από 60 mg/dL[53] ή 45 mg/dL[54], ο λόγος της χολερυθρίνης του υπεζωκοτικού υγρού προς τη χολερυθρίνη του ορού μεγαλύτερος από 0,6 [55] και ο λόγος της χοληνεστεράσης του υπεζωκοτικού υγρού προς αυτή του ορού περίπου 0,23 [56].

Τα κριτήρια του Light είναι οι πιο αξιόπιστοι δείκτες στη διάκριση των εξιδρωμάτων από τα διιδρώματα, ωστόσο χαρακτηρίζουν ορισμένα διιδρώματα σαν εξιδρώματα[57]. Γι' αυτό όταν ένας ασθενής με κλινικά κριτήρια είναι πιθανότερο να έχει διιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή, αλλά από τη βιοχημική ανάλυση φαίνεται εξιδρωματική, πρέπει να προσδιορίζεται η κλίση της μεταβολής της λευκωματίνης πλάσματος-υπεζωκοτικού υγρού. Αν είναι μεγαλύτερη από 1,2 mg/dL, ο ασθενής πιθανότερα έχει διίδρωμα και ο χαρακτηρισμός της με βάση τα κριτήρια του Light θα πρέπει να αγνοηθεί[17, 57].

2.3.2 Χαρακτηριστικά των διιδρωμάτων

Τα διιδρώματα έχουν χαμηλό ειδικό βάρος (<1015) ενώ τα περισσότερα από αυτά έχουν όψη διαυγή – αχυρόχρωμη, είναι μη ιξώδη και άοσμα. Περίπου το 15% έχουν ερυθρά πάνω από 10000 κύτταρα/ mm^3 . Συνεπώς η αιματηρή χροιά του υπεζωκοτικού υγρού δε σημαίνει ότι το υγρό δεν είναι διιδρωματικό. Ο αριθμός των λευκών στα περισσότερα διιδρώματα είναι μικρότερος από 1000 κύτταρα/ mm^3 , αλλά περίπου το 20% των διιδρωμάτων έχουν λευκά που ξεπερνούν τα 1000 κύτταρα/ mm^3 . Τα επίπεδα της γλυκόζης του υπεζωκοτικού υγρού είναι όμοια με αυτά του ορού, αλλά η αμυλάση του υπεζωκοτικού υγρού είναι χαμηλότερη από την αμυλάση του ορού. Το pH του υπεζωκοτικού υγρού είναι υψηλότερο από το pH του αίματος, πιθανώς λόγω της ενεργητικής μεταφοράς διττανθρακικών από το αίμα στην υπεζωκοτική κοιλότητα[11, 58].

2.3.3 Εξιδρωματικές υπεζωκοτικές συλλογές

Αν ένας ασθενής έχει εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή απαιτούνται επιπλέον εξετάσεις στο υπεζωκοτικό υγρό, ώστε να προσδιοριστεί η αιτία που προκαλεί τη συλλογή.

Στο υπεζωκοτικό υγρό της πρώτης παρακέντησης θα πρέπει να εξετασθούν τα παρακάτω[13]:

1. Μακροσκοπικά χαρακτηριστικά
2. Αριθμός και ο τύπος των λευκοκυττάρων
3. Μέτρηση της γλυκόζης και της LDH
4. Κυτταρολογική του υπεζωκοτικού υγρού
5. Καλλιέργεια του υπεζωκοτικού υγρού
6. Μέτρηση των δεικτών φυματίωσης

2.3.4 Μακροσκοπικά χαρακτηριστικά του υπεζωκοτικού υγρού

Αν το υγρό είναι αιματηρό θα πρέπει να μετράται ο αιματοκρίτης. Συνήθως ο αιματοκρίτης του υπεζωκοτικού υγρού είναι χαμηλότερος από ότι θα υπέθετε κανείς από την όψη του υγρού. Η παρουσία αίματος στο υγρό δεν προσδίδει κάτι σοβαρό όταν ο αιματοκρίτης είναι χαμηλότερος από 1%. Σε περίπτωση που είναι μεγαλύτερος από 1%, ο ασθενής είναι πολύ πιθανό να έχει κακοήθεια, πνευμονική εμβολή ή τραύμα[13], ενώ όταν είναι πάνω από 50% σε σχέση με το περιφερικό αίμα τότε ο ασθενής έχει αιμοθώρακα[13, 59].

Όταν το υπεζωκοτικό υγρό είναι θολό, γαλακτώδες ή αιματηρό θα πρέπει να φυγοκεντρηθεί και κατόπιν να εξετασθεί. Η θολερότητα του υγρού κατά τη στιγμή της λήψης αλλά όχι μετά τη φυγοκέντρηση, οφείλεται σε κύτταρα ή υπολείμματα, ενώ εάν αυτή παραμένει μετά τη φυγοκέντρηση, ο ασθενής πιθανότερα έχει χυλοθώρακα ή ψευδοχυλοθώρακα. Η διάκριση του χυλοθώρακα από τον ψευδοχυλοθώρακα γίνεται με τη μέτρηση των τριγλυκεριδίων και της χοληστερόλης στο υπεζωκοτικό υγρό. Ο χυλοθώρακας έχει υψηλά επίπεδα τριγλυκεριδίων (>110mg/dl) και φυσιολογικά ή υψηλά επίπεδα χοληστερόλης, ενώ ο ψευδοχυλοθώρακας χαρακτηρίζεται από υψηλά επίπεδα χοληστερόλης (>200mg/dl) και χαμηλά επίπεδα τριγλυκεριδίων[60-62].

Σημαντικές πληροφορίες μας δίνει η οσμή του υπεζωκοτικού υγρού. Όταν κυριαρχεί η οσμή του σάπιου τότε αυτό υποδηλώνει εμπύημα, ενώ όταν το υπεζωκοτικό υγρό έχει οσμή ουρίας τότε πιθανώς υποδηλώνεται ουρινοθώρακας. Η διάγνωση του ουρινοθώρακα επιβεβαιώνεται όταν η κρεατινίνη του υπεζωκοτικού υγρού είναι υψηλότερη από τη κρεατινίνη του ορού[63, 64].

2.4 ΚΛΑΣΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗΣ ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΩΝ ΣΥΛΛΟΓΩΝ

2.4.1 Αριθμός και τύπος των λευκοκυττάρων

Όταν το υπεζωκοτικό υγρό προορίζεται για μέτρηση του αριθμού και του τύπου των λευκών θα πρέπει να συλλέγεται και να στέλνεται στο εργαστήριο σε δοκιμαστικό σωλήνα με αντιπηκτικό[58]. Τα περισσότερα εξιδρώματα έχουν αριθμό λευκοκυττάρων πάνω από 1000 κύτταρα/mm³. Αριθμός λευκοκυττάρων πάνω από 10000 κύτταρα/mm³ παρατηρείται συχνότερα στη παραπνευμονική συλλογή, αλλά και σε συλλογές όπως η πνευμονική εμβολή, η φυματίωση, η παγκρεατίτιδα και ο ερυθηματώδης λύκος. Ο αριθμός των λευκών στα εμπύσματα είναι συνήθως κάτω από 10000 κύτταρα/mm³ όταν το υπεζωκοτικό υγρό είναι καθαρό πύο, λόγω ύπαρξης νεκρών κυττάρων και άλλων υπολειμμάτων[13, 58].

Ο τύπος των λευκών είναι ιδιαίτερα χρήσιμος στο προσδιορισμό της αιτιολογίας της υπεζωκοτικής συλλογής. Η επικράτηση των ουδετερόφιλων κυττάρων είναι αποτέλεσμα οξείας νόσου που προσβάλλει τον υπεζωκότα όπως πνευμονία, παγκρεατίτιδα και πνευμονική εμβολή. Όταν τα ηωσινόφιλα του υπεζωκοτικού υγρού είναι πάνω από 10% αυτό πιθανώς σημαίνει παρουσία αέρα ή αίματος στην υπεζωκοτική κοιλότητα. Αν ο ασθενής δεν έχει ούτε αέρα, ούτε αίμα στην υπεζωκοτική κοιλότητα τότε κάθε νόσος είναι πιθανή. Πολύ συχνά δε μπορεί να τεθεί καμία διάγνωση σε ασθενείς με ηωσινοφιλική πλευρίτιδα[14, 65].

Η επικράτηση των λεμφοκυττάρων στο υπεζωκοτικό υγρό σε ποσοστό πάνω από 50% υποδηλώνει τη χρόνια φύση της υπεζωκοτικής συλλογής. Η παρουσία των λεμφοκυττάρων στο υπεζωκοτικό υγρό έχει μεγάλη σημασία στη διαφοροδιάγνωση των εξιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών. Όταν στο υπεζωκοτικό υγρό επικρατούν τα λεμφοκύτταρα σε ποσοστό πάνω από 80%, ο ασθενής έχει πιθανότερα φυματιώδη πλευρίτιδα, χυλοθώρακα, πρωτοπαθές ή δευτεροπαθές λέμφωμα του υπεζωκότα, σύνδρομο κιτρίνων ονύχων, υπεζωκοτική συλλογή μετά από αορτοστεφανιαία παράκαμψη και

σαρκοείδωση[12, 65, 66]. Οι κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές χαρακτηρίζονται επίσης από την επικράτηση των λεμφοκυττάρων το οποίο συνήθως κυμαίνεται μεταξύ 50 και 70%[66].

2.4.2 Μέτρηση της γλυκόζης και της γαλακτικής δευδρογενάσης (LDH)

Η μέτρηση της γλυκόζης του υπεζωκοτικού υγρού είναι ιδιαίτερα χρήσιμη, διότι τιμές γλυκόζης κάτω από 60mg/dl περιορίζουν τη δυνατότητα διάγνωσης σε μια από τις παρακάτω τέσσερις αιτίες υπεζωκοτικής συλλογής: Παραπνευμονική συλλογή, κακοήθεια, φυματίωση ή ρευματοειδή αρθρίτιδα[13]. Πολύ χαμηλή τιμή γλυκόζης (<20mg/dl) μπορεί να παρουσιάσουν ασθενείς με παραπνευμονική συλλογή ή εμπύημα, αλλά και ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα. Η πλειοψηφία των ασθενών με φυματιώδη πλευρίτιδα έχει τιμές γλυκόζης υπεζωκοτικού υγρού περίπου 80mg/dl, ενώ τα επίπεδα της γλυκόζης σε όλα τα διδρώματα και στα περισσότερα εξιδρώματα είναι παράλληλα με αυτά του ορού[11, 67].

Η LDH θα πρέπει να μετράται κάθε φορά που παρακεντάται ένας ασθενής με υπεζωκοτική συλλογή. Αν μετά από επανειλημμένες παρακεντήσεις η LDH του υπεζωκοτικού υγρού αυξάνεται, η φλεγμονή του υπεζωκότα επιδεινώνεται και η νόσος θα πρέπει να αντιμετωπιστεί επεμβατικά, ενώ σε αντίθετη περίπτωση υπάρχει ύφεση της φλεγμονής του υπεζωκότα και η επεμβατική επιλογή απομακρύνεται[13].

2.4.3 Κυτταρολογική εξέταση του υπεζωκοτικού υγρού

Η κυτταρολογική εξέταση του υπεζωκοτικού υγρού είναι μια ταχεία, αποτελεσματική και ελάχιστα επεμβατική εξέταση σε ασθενείς που πάσχουν από κακοήθεια. Είναι θετική στο πρώτο δείγμα σε ποσοστό πάνω από 50%, ενώ με το τρίτο δείγμα η θετική διάγνωση θα ξεπεράσει το 80%[68]. Η ευαισθησία της μεθόδου εξαρτάται όχι μόνο από τον αριθμό των δειγμάτων και την εμπειρία του κυτταρολόγου, αλλά επίσης και από τον τύπο του νεοπλασματος. Χαρακτηριστικά όλα τα αδενοκαρκινώματα δίνουν θετική κυτταρολογική του πλευριτικού υγρού, ενώ η ευαισθησία της εξέτασης μειώνεται στο λέμφωμα Hodgkin (25%). Ωστόσο, υπάρχει ένα μεγάλο ποσοστό ασθενών με αρνητική κυτταρολογική εξέταση, στο οποίο η υπεζωκοτική συλλογή οφείλεται σε ατελεκτασία πνεύμονα ή απόφραξη λεμφαγγείων[68].

2.4.4 Καλλιέργεια του υπεζωκοτικού υγρού

Το υπεζωκοτικό υγρό ασθενών με αδιάγνωστη εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή θα πρέπει να καλλιεργείται για βακτήρια (σε αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες), μυκοβακτηρίδια και μύκητες. Για αερόβια και αναερόβια βακτήρια η καλλιέργεια είναι καλύτερα να γίνεται δίπλα στο κρεβάτι του ασθενούς, γιατί αυξάνει η ευαισθησία της εξέτασης[69]. Για την καλλιέργεια των μυκοβακτηριδίων προτείνεται η χρήση του συστήματος BACTEC δίπλα στο κρεβάτι του ασθενούς, διότι παίρνουμε ταχύτερα και πιο αξιόπιστα αποτελέσματα[70].

2.4.5 Μέτρηση των δεικτών φυματίωσης

Τα τελευταία σαράντα χρόνια η διάγνωση της φυματιώδους πλευρίτιδας γινόταν με βιοψία υπεζωκότα. Ωστόσο νέες διαγνωστικές δοκιμασίες όπως η μέτρηση της αδενοσινοδιαμινάσης (ADA) και της ιντερφερόνης-γ (IFN-γ) θέτουν σε πολύ μεγάλο ποσοστό τη διάγνωση της φυματιώδους πλευρίτιδας, μειώνοντας έτσι την ανάγκη για βιοψία υπεζωκότα[13]. Η μέτρηση της ADA στο υπεζωκοτικό υγρό είναι διαγνωστικά χρήσιμη, εφόσον είναι υψηλότερη στη φυματιώδη πλευρίτιδα σε σχέση με τα άλλα εξιδρώματα. Σύμφωνα με διαφορετικές μελέτες, όταν η ADA του υπεζωκοτικού υγρού έχει τιμή πάνω από 70U/L η διάγνωση της φυματίωσης τίθεται με υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα, ενώ τιμές ADA κάτω από 40U/L αποκλείουν αυτή τη διάγνωση. Η ADA του υγρού είναι αυξημένη επίσης στο εμπύημα και στη ρευματοειδή αρθρίτιδα, όμως η διάγνωση τους είναι εύκολη με βάση το ιστορικό και τη κλινική εικόνα του ασθενούς[31, 71, 72].

Η τιμή της IFN-γ στο υπεζωκοτικό υγρό αυξάνει στη φυματιώδη πλευρίτιδα, με αποτέλεσμα να μπορεί να διακριθεί με ασφάλεια από άλλες αιτίες εξιδρωματικών συλλογών[30]. Οι Villena *et al* [73] έδειξαν με όριο τη τιμή 3,7U/mL ότι η IFN-γ έχει ευαισθησία και ειδικότητα 99% και 98% αντίστοιχα σε μια σειρά 388 υπεζωκοτικών συλλογών, από τις οποίες οι 73 ήταν φυματιώδους αιτιολογίας.

2.4.6 pH υπεζωκοτικού υγρού

Η τιμή του pH στο υπεζωκοτικό υγρό υγιών ατόμων είναι 7.64 υψηλότερη δηλαδή της τιμής του pH του αίματος[13]. Αν και δεν συνιστάται η μέτρηση ρουτίνας του υπεζωκοτικού pH, η παράμετρος αυτή είναι χρήσιμη τόσο στη διαφοροδιάγνωση της μη επιπλεγμένης από την επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή και εμπύημα όσο και στο να ληφθεί η απόφαση για το αν χρειάζεται να τοποθετηθεί παροχέτευση[13]. Χαμηλή τιμή pH (<7.30), σε συνδυασμό με

φυσιολογικές τιμές pH αίματος απαντάται στις συλλογές εκείνες που χαρακτηρίζονται από χαμηλή τιμή γλυκόζης και υψηλή LDH και υποδηλώνουν έντονη φλεγμονή του υπεζωκότα (επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή και εμπύημα, κακοήθεια, και φυματιώδη πλευρίτιδα)[74]. Η χαμηλή τιμή του pH στις κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές (<7,30) έχει συσχετισθεί με την κακή πρόγνωση της ασθένειας καθώς και με την αποτυχία πλευρόδεσης με τετρακυκλίνη[14]. Σε οισοφαγική ρήξη το pH είναι συνήθως χαμηλότερο του 6.0, εξαιτίας της έντονης φλεγμονής του μεσαυλικού και υπεζωκοτικού χώρου, ενώ στη ρευματοειδή πλευρίτιδα το pH είναι σχεδόν πάντοτε χαμηλότερο από 7,20[14].

2.5 ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ ΓΙΑ ΑΔΙΑΓΝΩΣΤΕΣ ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΕΣ ΣΥΛΛΟΓΕΣ

2.5.1 Βιοψία υπεζωκότα δια λεπτής βελόνης

Η χρήση της βιοψίας του υπεζωκότα δια λεπτής βελόνης χρησιμοποιείται τα τελευταία σαράντα χρόνια για τη διάγνωση της φυματιώδους πλευρίτιδας. Ωστόσο οι δείκτες φυματίωσης στο υπεζωκοτικό υγρό είναι σημαντικά πιο αποτελεσματικοί στη διάγνωση της[75]. Πρόσφατα λόγω της αύξησης της πολυανθεκτικής φυματίωσης, οι καλλιέργειες για το μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης έγιναν απαραίτητες για τη πορεία της θεραπείας. Όμως μόνο το 33% των ασθενών με φυματιώδη πλευρίτιδα έχουν θετική καλλιέργεια της βιοψίας και αρνητική καλλιέργεια του υπεζωκοτικού υγρού[76]. Η βιοψία του υπεζωκότα μπορεί να θέσει επίσης τη διάγνωση της κακοήθους συλλογής, όμως στις περισσότερες σειρές η κυτταρολογική του υπεζωκοτικού υγρού είναι κατά πολύ πιο ευαίσθητη μέθοδος ώστε να τεθεί αυτή η διάγνωση[77].

2.5.2 Θωρακοσκόπηση

Η θωρακοσκόπηση είναι μέθοδος εκλογής στη διάγνωση των εξιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών, αλλά θα πρέπει να χρησιμοποιείται μόνο όταν οι μη επεμβατικές μέθοδοι, όπως η παρακέντηση και οι δείκτες του υπεζωκοτικού υγρού δεν αποδίδουν[78]. Η θωρακοσκόπηση θέτει τη διάγνωση της κακοήθους υπεζωκοτικής συλλογής με ευαισθησία που κυμαίνεται μεταξύ 80-95%. Πλεονέκτημα της θωρακοσκόπησης αποτελεί το γεγονός ότι στον ίδιο χρόνο μπορεί να εφαρμοσθεί και πλευρόδεση[79].

2.5.3 Βρογχοσκόπηση

Είναι χρήσιμη στη διάγνωση των υπεζωκοτικών συλλογών μόνο όταν μία ή περισσότερες από τις παρακάτω τέσσερις προϋποθέσεις υπάρχουν[80, 81]:

1. Υπάρχει παρεγχυματική διήθηση στην ακτινογραφία και στην αξονική τομογραφία θώρακα.
2. Παρουσία αιμόπτυσης που υποδηλώνει ενδοβρογχική βλάβη.
3. Η υπεζωκοτική συλλογή καταλαμβάνει περισσότερο από τα $\frac{3}{4}$ του ημιθωρακίου.
4. Το μεσοθωράκιο μετατοπίζεται προς τη πλευρά της συλλογής, που σημαίνει ενδοβρογχική βλάβη.

2.5.4 Ανοικτή βιοψία

Η κύρια ένδειξη για ανοικτή βιοψία είναι η αδιάγνωστη υπεζωκοτική συλλογή. Προτιμάται όμως όταν είναι δυνατόν, να γίνεται θωρακοσκόπηση λόγω χαμηλότερης νοσηρότητας.

3. ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΚΑΙ ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΣΤΟΝ ΠΝΕΥΜΟΝΑ

3.1 Ελεύθερες ρίζες οξυγόνου

Ελεύθερη ρίζα ονομάζεται κάθε άτομο ή μόριο που διαθέτει ένα ή περισσότερα ασύζευκτα ηλεκτρόνια. Τα ηλεκτρόνια που συζεύγνυνται σε τροχιακά έχουν αντιπαράλληλο spin και είναι πιο σταθερά σε σχέση με τα ασύζευκτα. Έτσι οι ρίζες είναι λιγότερο σταθερές σε σχέση με τις μη-ρίζες, αν και η δραστηρότητά τους ποικίλει. Κατά κανόνα, είναι ικανές να αντιδρούν αδιακρίτως, με κάθε μόριο με το οποίο έρχονται σε επαφή. Μία ελεύθερη ρίζα μπορεί να αντιδρά με κάποια άλλη ρίζα ή με άλλα μόρια, μέσω ποικίλων αλληλεπιδράσεων. Στην πρώτη περίπτωση, είναι πιθανό να συνδυάσουν τα ασύζευκτα ηλεκτρόνια τα οποία διαθέτουν, με αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός ομοιοπολικού δεσμού. Επειδή όμως στους ζωντανούς οργανισμούς τα περισσότερα μόρια δεν απαντώνται με τη μορφή ριζών, αυτό που φαίνεται πιο πιθανό να συμβεί είναι η ρίζα να δώσει το ασύζευκτο ηλεκτρόνιο σε άλλο μόριο ή αντίστροφα, να προσλάβει ένα ηλεκτρόνιο από αυτό, αλλάζοντας έτσι το χαρακτήρα της. Συγχρόνως όμως με τον τρόπο αυτό

δημιουργείται μια νέα ρίζα. Γίνεται λοιπόν ξεκάθαρο πως από μια ρίζα παράγεται μια άλλη, οδηγώντας σε μια αλυσίδα αντιδράσεων [99-102].

Στο πεδίο της Βιολογίας, ενδιαφέρον προσελκύει μια συγκεκριμένη κατηγορία ελευθέρων ριζών, οι ελεύθερες ρίζες του οξυγόνου. Είναι γνωστό ότι το οξυγόνο αποτελεί το βασικό χημικό στοιχείο της ζωής, όμως σε ορισμένες περιπτώσεις, όπως κατά τη διάρκεια της αναπνοής, το οξυγόνο είναι ικανό να δημιουργήσει μια σειρά χημικά ενεργών ουσιών που θεωρούνται υπεύθυνες για το οξειδωτικό stress. Τέτοιες ενεργείς ρίζες οξυγόνου (ROS) περιλαμβάνουν όχι μόνο τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, όπως τη ρίζα του υδροξυλίου (OH^\cdot) και τη ρίζα του υπεροξειδίου (O_2^\cdot) αλλά και άλλες οντότητες χωρίς αζευγάρωτα ηλεκτρόνια, όπως το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2) και τη μονή ρίζα του οξυγόνου (1O_2^\cdot). Όλες οι ROS έχουν σαν στόχο να αποσπούν ένα ηλεκτρόνιο από ένα μόριο-στόχο και αυτό χημικά ονομάζεται οξείδωση. Επομένως οι ROS προκαλούν οξείδωση και γι' αυτό δρουν ως οξειδωτικά. Στους ζωντανούς οργανισμούς μπορούν να οξειδώσουν όλα τα οργανικά μόρια όπως, υδατάνθρακες, λιπίδια, πρωτεΐνες, νουκλεοτίδια, και άλλα, προκαλώντας μία σειρά βιοχημικών αλλαγών υπεύθυνων για τις βλάβες του οξειδωτικού stress που συμβαίνουν συνεχώς κατά τη διάρκεια της ζωής[102, 103].

Οι οξειδωτικές ρίζες παράγονται τόσο από ενδοκυτταρικές όσο και από εξωκυτταρικές πηγές (σχήμα 2):

Οι ενδοκυτταρικές πηγές περιλαμβάνουν φλεγμονώδη κύτταρα, ινοβλάστες, ενδοθηλιακά κύτταρα, καθώς και τις οξειδάσες (Xanthine-NADPH). Οι ROS παράγονται κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής μεταβολικής δραστηριότητας είτε αυθόρμητα είτε ως αποτέλεσμα αντιδράσεων που καταλύονται από ένζυμα ή από μέταλλα μεταφορείς. Διακρίνονται πέντε σημεία παραγωγής ριζών μέσα στο κύτταρο: η κυτταρική μεμβράνη, τα μιτοχόνδρια, τα υπεροξεισωμάτια, το ενδοπλασματικό δίκτυο και το κυτταρόπλασμα[104, 105].

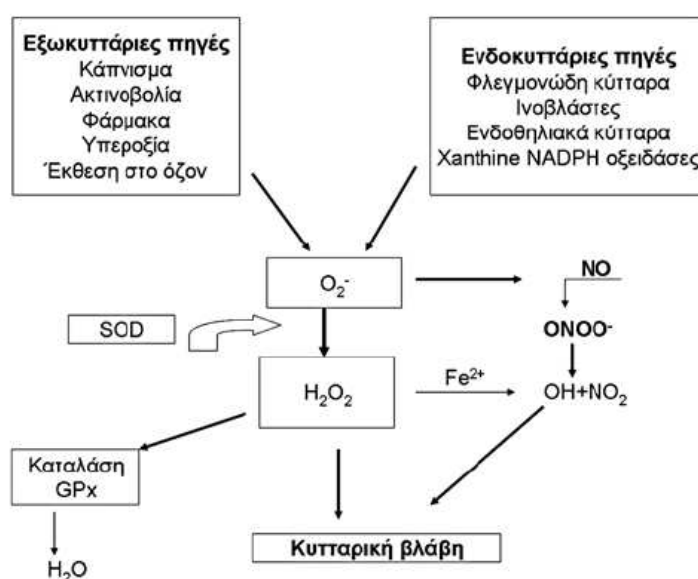
Η κυτταρική μεμβράνη εμπλέκεται στην παραγωγή οξειδωτικών ριζών, κυρίως κατά τη διάρκεια φλεγμονής και λοιμώξεων. Στη μεμβράνη των ουδετερόφιλων υπάρχει η οξειδάση του NADPH η οποία καταλύει τη δημιουργία των ανιόντων του υπεροξειδίου καθώς και το σύστημα της λιποξυγενάσης που δημιουργεί ποικίλα υδροϋπεροξειδία ως ενδιάμεσα συστατικά[104].

Τα μιτοχόνδρια αποτελούν την κύρια πηγή οξειδωτικών ριζών γιατί σε αυτά βρίσκεται η αλυσίδα των αναπνευστικών ενζύμων, που είναι υπεύθυνα για την οξειδωτική φωσφορυλίωση. Στην πραγματικότητα η μεταφορά των ηλεκτρονίων δεν καταλήγει αποκλειστικά στη δημιουργία του μορίου του νερού, ενώ μικρά άλλα σημαντικά ποσά των ηλεκτρονίων (1-2%) μεταφέρονται από τα ένζυμα της αναπνευστικής αλυσίδας κατευθείαν στο μοριακό οξυγόνο, δημιουργώντας ανιόντα υπεροξειδίου ή ρίζες υδροξυλίου ή υπεροξειδία του υδρογόνου[106, 107].

Τα υπεροξεισωμάτια είναι κι αυτά οργανίδια στα οποία παράγονται οξειδωτικές ρίζες. Ειδικότερα, μέσα στα συγκεκριμένα οργανίδια τα λιπαρά οξέα υφίστανται μια οξειδωτική διαδικασία. Στο πρώτο στάδιο αυτής της διαδικασίας μια φλαβοπρωτεΐνη αφαιρεί ένα ζευγάρι ατόμων υδρογόνου από ένα μόριο ενεργοποιημένου λιπαρού οξέος. Τα δύο άτομα υδρογόνου μεταφέρονται απευθείας στο μοριακό οξυγόνο και παράγεται το υπεροξειδίο του υδρογόνου[106, 107].

Στο λείο ενδοπλασματικό δίκτυο η παραγωγή των ελευθέρων ριζών γίνεται μέσω του κυτοχρώματος P₄₅₀, το οποίο έχει τη δυνατότητα να καταλύει αντιδράσεις υδροξυλίωσης για την παραγωγή των οξειδωτικών ριζών[106, 107].

Εξωκυτταρικές πηγές παραγωγής οξειδωτικών ριζών αφορούν το κάπνισμα, την ιονίζουσα και υπεριώδη ακτινοβολία, την έκθεση σε όζον, την υπεροξία, την έκθεση σε καρκινογόνες ουσίες καθώς και τη λήψη φαρμακευτικών ουσιών[104].



Σχήμα 2. Πηγές παραγωγής οξειδωτικών μορίων

3.2 Αντιοξειδωτικό αμυντικό σύστημα

Οι ελεύθερες ρίζες είναι πολύ δραστικές για να είναι ανεκτές σε υψηλές συγκεντρώσεις στους ζωντανούς ιστούς. Ο έλεγχος των επιπέδων τους πιθανώς αποτέλεσε ισχυρό ερέθισμα για την ανάπτυξη μηχανισμών στον ανθρώπινο οργανισμό που αμύνονται και προφυλάσσουν από τις δυσμενείς συνέπειες των ROS[108, 109].

Ως αντιοξειδωτικό μπορεί να χαρακτηριστεί οποιαδήποτε ουσία, η οποία, όταν είναι παρούσα σε χαμηλές συγκεντρώσεις συγκριτικά με εκείνες των υποστρωμάτων που πρόκειται να οξειδωθούν, καθυστερεί ή αναστέλλει την οξείδωση αυτών των υποστρωμάτων. Επομένως, ο φυσιολογικός ρόλος των αντιοξειδωτικών είναι η αποφυγή της βλάβης των κυτταρικών συστατικών, δηλαδή η καταστολή της δράσης του οξειδωτικού stress[110].

Η αντιοξειδωτική προστασία μπορεί να αναλυθεί σε τέσσερα διαδοχικά επίπεδα αμυντικής δράσης:

- **Επίπεδο πρόληψης**

Περιλαμβάνει ένζυμα των οποίων η δραστηριότητα εξαρτάται από τις ποσότητες μετάλλων που βρίσκονται σε ίχνη, όπως μαγγάνιο, χαλκός, ψευδάργυρος και σελήνιο (υπεροξειδικές δισμουτάσες, υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης και καταλάση). Το επίπεδο αυτό σχετίζεται με τον έλεγχο του σχηματισμού των πρωτογενών δραστικών μορφών, που προέρχονται από το μοριακό οξυγόνο.

- **Επίπεδο παρέμβασης στις αλυσιδωτές αντιδράσεις**

Περιλαμβάνει τις βιταμίνες C και E και τα καροτενοειδή. Σχετίζεται με την αποφυγή συσσώρευσης των δευτερογενών ριζών και των αλυσιδωτών αντιδράσεων που οδηγούν στην υπεροξείδωση των λιπιδίων.

- **Επίπεδο επιδιόρθωσης**

Σχετίζεται με την απομάκρυνση των τελικών προϊόντων-ριζών, μειώνοντας τις πιθανότητες περαιτέρω οξειδωτικών βλαβών, λόγω αντιδράσεων που καταλύονται από μέταλλα.

▪ Επίπεδο της προσαρμογής

Οι ελεύθερες ρίζες χρησιμοποιούνται ως σήματα που επάγουν τη σύνθεση και τη μεταφορά του κατάλληλου αντιοξειδωτικού παράγοντα στις θέσεις όπου δρουν[109].

Επιπλέον, τα αντιοξειδωτικά μόρια μπορούμε να τα διακρίνουμε σε **ενζυμικά** με κύριους εκπροσώπους τις υπεροξειδικές δισμουτάσες, την καταλάση, την περοξειδάση γλουταθειόνης, καθώς επίσης και τα πρόσφατα αναγνωρισμένα αντιοξειδωτικά όπως η οξυγενάση της αίμης και οι πρωτεΐνες μικρού βάρους (θειορεντοξίνες, γλουταρεδοξίνες κτλ.) και σε **μη ενζυμικά** που αφορούν χαμηλού μοριακού βάρους μόρια όπως η γλουταθειόνη (GSH), οι βιταμίνες E και C, η β-καροτίνη και το ουρικό οξύ[104]. Στον πίνακα 5 συνοψίζονται οι κύριοι αντιοξειδωτικοί παράγοντες, η κυτταρική τους εντόπιση και η λειτουργικότητά τους.

Ένζυμο	Θέση	Λειτουργία
CuZnSOD	Βρόγχοι, κυψελίδες, μακροφάγα, ινοβλάστες	Καταστέλλει το O ₂ ·
MnSOD	Βρόγχοι, αγγειακό ενδοθήλιο, μακροφάγα, ουδετερόφιλα	Καταστέλλει το O ₂ ·
Καταλάση	Μακροφάγα, ινοβλάστες, πνευμονοκύτταρα	H ₂ O ₂ σε νερό
Υπεροξειδάση γλουταθειόνης	Επιθήλιο, μακροφάγα, κυψελιδικά κύτταρα	Μετατροπή οργανικών υπεροξειδίων σε οργανικά υπεροξείδια
Οξυγενάση αίμης	Βρόγχοι, κυψελίδες, μακροφάγα, φλεγμονώδη κύτταρα	Μετατροπή αίμης σε CO και χολερυθρίνη
Θειορεντοξίνη	Βρόγχοι, κυψελίδες, μακροφάγα	Μεταγραφική τροποποίηση Prot SS σε Prot SH
GCIs	Βρόγχοι, κυψελίδες, μακροφάγα	Σύνθεση γλουταθειόνης

Πίνακας 5. Κυριότεροι αντιοξειδωτικοί παράγοντες: Θέση και λειτουργία

3.3 Οξειδωτικό stress και πνεύμονας

Ο πνεύμονας αποτελεί έναν εξαίρετο στόχο για το οξειδωτικό stress, λόγω της άμεσης έκθεσής του σε υψηλές πιέσεις οξυγόνου. Είναι γνωστό ότι η μερική πίεση οξυγόνου στις κυψελίδες είναι πολύ υψηλότερη συγκριτικά με άλλα ζωτικά όργανα, όπως η καρδιά, το ήπαρ και ο εγκέφαλος. Η πίεση του οξυγόνου στον εισπνεόμενο αέρα είναι 150mmHg, μέσα στις κυψελίδες μειώνεται στα 100mmHg, ενώ στο φλεβικό αίμα φθάνει στα 45mmHg και τέλος καταλήγει στο 1mmHg στους ιστούς κάποιων οργάνων. Ένα άλλο ιδιαίτερο χαρακτηριστικό του πνεύμονα είναι η μεγάλη έκταση της επιφάνειάς του (περίπου 70m² στον ενήλικα)[111].

Τα κύτταρα του πνεύμονα λόγω της άμεσης έκθεσής τους στον ατμοσφαιρικό αέρα, υφίστανται οξειδωτικό stress από τον καπνό του τσιγάρου, το όζον, το διοξείδιο του αζώτου και του θείου. Ακόμη, τα φλεγμονώδη κύτταρα που εμφανίζονται στις περισσότερες παθήσεις του πνεύμονα, παράγουν και απελευθερώνουν ελεύθερες ρίζες. Επιπλέον, ορισμένες θεραπείες, όπως η χημειοθεραπεία και η ακτινοβολία, οδηγούν στην παραγωγή ελευθέρων ριζών, με τον πνεύμονα να είναι το πλέον συχνά εμπλεκόμενο όργανο. Επομένως, ο πνεύμονας αποτελεί το μοναδικό όργανο που είναι άμεσα εκτεθειμένο όχι μόνο στις υψηλές πιέσεις οξυγόνου και τους οξειδωτικούς παράγοντες του περιβάλλοντος, αλλά και στα οξειδωτικά που παράγονται κατά τη διάρκεια διαφόρων παθήσεων του πνεύμονα και των θεραπειών του[111].

Η πρώτη ελεύθερη ρίζα που παράγεται είναι το ανιόν του υπεροξειδίου, το οποίο λαμβάνει μέρος στην παραγωγή άλλων ενδιάμεσων μεταβολιτών, όπως το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H₂O₂), τη ρίζα του υδροξυλίου και το υπεροξείδιο του αζώτου. Τα κύτταρα του πνεύμονα παράγουν ελεύθερες ρίζες κάτω από φυσιολογικές συνθήκες χωρίς την παρουσία ενζύμου με αυτοοξειδωση. Οι κύριες πηγές παραγωγής ριζών οξυγόνου είναι η αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων μέσα στα μιτοχόνδρια και τα οξειδωτικά ένζυμα που βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα και τις μεμβράνες όπως η οξειδάση της ξανθίνης και η συνθετάση του οξειδίου του αζώτου[111].

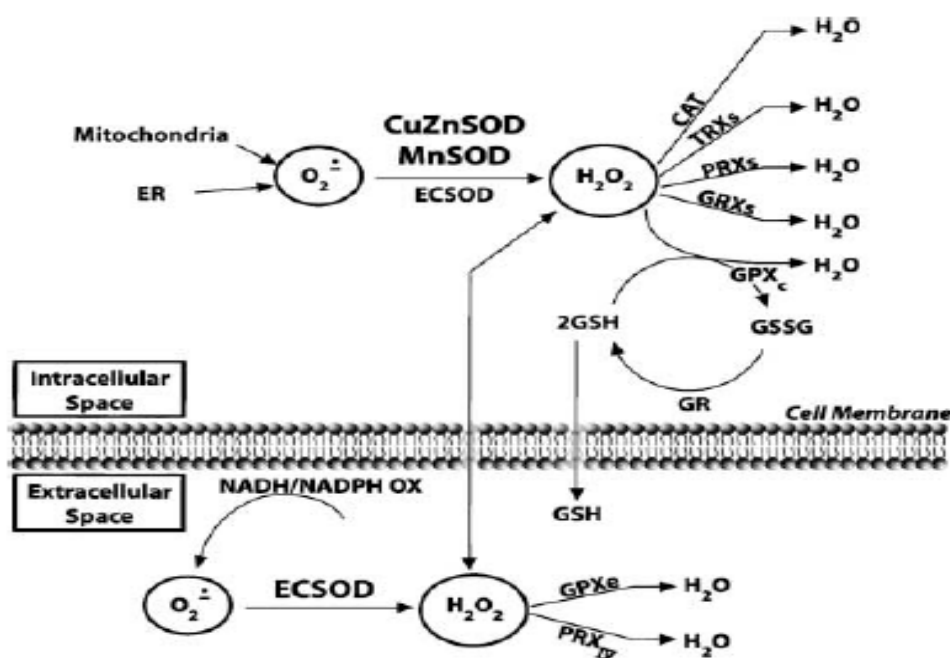
Σε φλεγμονώδεις καταστάσεις, όπως το βρογχικό άσθμα, τυπικές πηγές παραγωγής ελευθέρων ριζών αποτελούν η ενεργοποίηση των φλεγμονωδών κυττάρων, η ενεργοποίηση της οξειδοαναγωγάσης του NADPH στις κυτταρικές μεμβράνες και της συνθετάσης του οξειδίου του αζώτου στο κυτταρόπλασμα. Το

οξειδωτικό stress στα μιτοχόνδρια, ευνοεί τη διάσπαση της αλυσίδας μεταφοράς των ηλεκτρονίων, καταλήγοντας είτε στον τραυματισμό των κυττάρων (νέκρωση) είτε στον κυτταρικό θάνατο (απόπτωση). Τα οξειδωτικά, εκτός από τις βλάβες που δημιουργούν, συμμετέχουν στην κυτταρική ομοιόσταση, ενώ παράλληλα ρυθμίζουν την κυτταρική ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό. Επιπλέον, ενεργοποιούν μεταφραστικούς παράγοντες όπως ο πυρηνικός παράγοντας κΒ (NFκΒ), ο οποίος συνδέεται με την παραγωγή αντιοξειδωτικών παραγόντων στον πνεύμονα[100, 111, 112].

Τα κύρια ενζυμικά συστήματα που διασπούν τις ρίζες των υπεροξειδίων σε H_2O_2 και θεωρείται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο ενάντια του οξειδωτικού stress στον πνεύμονα είναι οι υπεροξειδικές δισμουτάσες (SODs). Στον ανθρώπινο οργανισμό υπάρχουν τρία διαφορετικά είδη SODs: η ενδοκυττάρια υπεροξειδική δισμουτάση χαλκού-ψευδαργύρου (Cu/Zn SOD), η μιτοχονδριακή υπεροξειδική δισμουτάση μαγγανίου (Mn SOD) και η εξωκυττάρια υπεροξειδική δισμουτάση (ECSOD). Τα συγκεκριμένα ένζυμα εντοπίζονται σε διαφορετικά σημεία, σε όλα τα κύτταρα του πνεύμονα[86, 105, 111, 113].

Οι ενζυμικοί μηχανισμοί που συμμετέχουν στην εξουδετέρωση του H_2O_2 στον πνεύμονα περιγράφονται αναλυτικά στο σχήμα 3. Στον ανθρώπινο πνεύμονα χαρακτηριστικό αποτελεί η υψηλή περιεκτικότητα σε γλουταθειόνη (περίπου 140 φορές υψηλότερη σε σχέση με εκείνη στην κυκλοφορία). Επομένως, η ίδια η γλουταθειόνη και τα ένζυμα που συνδέονται με τη διατήρησή της αποτελούν ένα από τα βασικά αντιοξειδωτικά συστήματα στον πνεύμονα. Ακόμη σημαντικός εξουδετερωτής του H_2O_2 φαίνεται πως είναι και η καταλάση. Τα αντιοξειδωτικά ένζυμα εκφράζονται διαφορετικά στα διάφορα κύτταρα του πνεύμονα γεγονός που τα κάνει να έχουν διαφορετική αντίσταση στο οξειδωτικό stress. Έχει βρεθεί ότι τα κυψελιδικά κύτταρα τύπου II εκκρίνουν Cu/Zn SOD, Mn SOD και καταλάση και είναι ανθεκτικά στο οξειδωτικό stress ενώ τα κυψελιδικά κύτταρα τύπου I εκκρίνουν μικρή ποσότητα αντιοξειδωτικών ενζύμων κι επομένως είναι επιρρεπή στην οξειδωτική βλάβη και τον κυτταρικό θάνατο. Επιπλέον, τα κυψελιδικά μακροφάγα παρουσιάζουν μεγάλη έκφραση καταλάσης και καταναλώνουν με αυτή το H_2O_2 . Οι υπεροξειρεντοξίνες και οι γλουταρεντοξίνες είναι ένζυμα που ο ανθρώπινος πνεύμονας παράγει με σκοπό κι αυτά να καταναλώσουν το H_2O_2 [111, 114, 115].

Για τη διατήρηση της ισορροπίας του πνεύμονα ωστόσο σημαντικό ρόλο παίζουν και τα μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά. Μέταλλα όπως ο χαλκός και ο σίδηρος φαίνεται πως δρουν, όντας συνδεδεμένα με πρωτεΐνες (τρανσφερίνη, φερρίνη κτλ.) ενισχύοντας την οξειδωτική ικανότητα. Επίσης, πρωτεΐνες όπως η λευκωματίνη, διαθέτουν σημαντική ικανότητα εξουδετέρωσης ελευθέρων ριζών οξυγόνου. Άλλα αντιοξειδωτικά μπορεί να αποτελέσουν και οι βιταμίνες μικρού μοριακού βάρους όπως η βιταμίνη E και η βιταμίνη C. Τέλος, ενώ το εξωκυττάριο υγρό είναι πλούσιο σε γλουταθειόνη, οι επιφανειοδραστικές πρωτεΐνες έχουν παρουσιάσει σημαντική αντιοξειδωτική δραστηριότητα[111].



Σχήμα 3. Οι σπουδαιότεροι αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί στον πνεύμονα. Αντιοξειδωτικά των ριζών υπεροξειδίου και υπεροξειδίου του υδρογόνου στον ενδοκυττάριο και τον εξωκυττάριο χώρο. Η αναχθείσα γλουταθειόνη (GSH) μεταφέρεται με διάφορους μηχανισμούς έξω από το κύτταρο, αλλά η κυτταρική μεμβράνη δεν είναι συνήθως διαπερατή στη GSH. Το H_2O_2 διασχίζει την κυτταρική μεμβράνη ενώ η ρίζα του υπεροξειδίου δεν τη διασχίζει. Στον εξωκυττάριο χώρο, η μεγαλύτερη παραγωγή ριζών υπεροξειδίου προέρχεται από την οξείδωση του NADH και NADPH στις κυτταρικές μεμβράνες, όπου υπάρχουν ειδικά εξωκυττάρια αντιοξειδωτικά όπως ECSOD (εξωκυττάρια υπεροξειδική δισμουτάση), GPX_e (εξωκυττάρια περοξειδάση γλουταθειόνης) και η υπεροξειρεντοξίνη.

3.4 Δείκτες οξειδωτικού stress στον πνεύμονα

Τα τελευταία χρόνια υπάρχει μια αυξανόμενη βιβλιογραφία σχετικά με ουσίες που υποδηλώνουν φλεγμονώδεις εξεργασίες του πνεύμονα και που η μέτρησή τους σε διάφορα βιολογικά υγρά γίνεται προσπάθεια να χρησιμοποιηθεί ως μέτρο έντασης της υποκείμενης φλεγμονής. Το γεγονός αυτό θα μπορούσε να επηρεάσει τις θεραπευτικές επιλογές, είτε ως προς το είδος των φαρμάκων είτε ως προς τη δοσολογία.

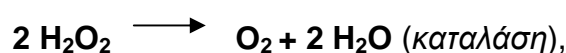
3.4.1 Οξειδωτικοί δείκτες

▪ Υπεροξειδίο του Υδρογόνου (H_2O_2)

Τα μακροφάγα αποτελούν σημαντική πηγή του H_2O_2 . Παρότι έχειδειχτεί ότι το μόριο αυτό προκαλεί άμεση, μη ειδική και μη αναστρέψιμη καταστροφή των επιθηλιακών κυττάρων, θεωρείται γενικά ως ένας παράγοντας με ασθενή δράση. Η δραστηριότητά του *in vivo* δεν αποδίδεται μόνο στη σταθερότητα του μορίου και στην εύκολη διάχυσή του, αλλά κυρίως στην ικανότητά του να αντιδρά με μερικώς αναχθέντα μεταλλικά ιόντα, όπως ο Fe^{2+} ή ο Cu^+ , προς σχηματισμό ρίζας υδροξυλίου με βάση την αντίδραση Fenton[118]:



Ο σχηματισμός OH^\cdot από H_2O_2 μπορεί να παρακαμφθεί μέσω της αναγωγής του H_2O_2 σε νερό με την λήψη $2e^-$, αντίδραση που καταλύεται από την καταλάση ή από την υπεροξειδάση της γλουταθειόνης[118]:



▪ Μαλονδιαλδεΐδη (MDA)

Στα βιολογικά συστήματα η μαλονδιαλδεΐδη είναι ένα πολύ δραστικό είδος και λαμβάνει μέρος στις διασταυρώσεις του DNA με τις πρωτεΐνες. Αποτελεί το κύριο προϊόν λιπιδικής υπεροξειδωσης[119]. Οι βιολογικές δράσεις της MDA περιλαμβάνουν σχηματισμό πολυμερών με το DNA και τις πρωτεΐνες, γεγονός που τροποποιεί τη δραστηριότητα των μορίων αυτών[120]. Η MDA επιδεικνύει τοξικότητα στους ιστούς. Αντιδρά με αμινικές και θειικές ομάδες. Οι αλδεΐδες

διαχέονται περισσότερο από τις ελεύθερες ρίζες, που σημαίνει ότι η καταστροφή που προκαλούν εξαπλώνεται σε πιο απομακρυσμένες περιοχές. Οι αλδεϋδες απομακρύνονται πολύ γρήγορα από τα κύτταρα, δεδομένου ότι πολλά ένζυμα ελέγχουν το μεταβολισμό τους[121].

▪ **8-Isoprostano (8-Isoprostane)**

Το 8-isoprostane είναι παράγωγο του αραχιδονικού οξέος. Σχηματίζεται με την υπεροξειδωση των λιπιδίων του αραχιδονικού οξέος μέσω ελευθέρων ριζών οξυγόνου. Στη συνέχεια εστεροποιείται σε φωσφολιπίδια της μεμβράνης από την οποία διασπάται και απομακρύνεται εισερχόμενο στην κυκλοφορία με τη βοήθεια μιας φωσφολιπάσης A2. Η παραγωγή του έχει ελάχιστη σχέση με τις κυκλοοξυγενάσες 1 και 2 (COX1 & COX 2)[122, 123]. Το 8-isoprostane μπορεί επίσης να παραχθεί ενζυματικά από τις λείες μυϊκές ίνες, τα αιμοπετάλια και τα μονοκύτταρα ανεξάρτητα από τις κυκλοοξυγενάσες. Στα μονοκύτταρα αυτή η διαδικασία είναι στερεοειδική και επαγόμενη από την κονκαναβαλίνη A, τους εστέρες φορβόλης ή τους βακτηριακούς πολυσακχαρίτες[124].

Μια μεγάλη ποικιλία νοσημάτων συσχετίζεται με υψηλές συγκεντρώσεις 8-isoprostane[123]. Ειδικότερα, αυξημένα έχουν βρεθεί τα επίπεδα του 8-isoprostane στο πλάσμα, τα ούρα, το βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα και τον ιστό ασθενών με άσθμα, χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, διάμεσα πνευμονικά νοσήματα, κυστική ίνωση και οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου[125-131]. Επίσης, καρδιαγγειακές παθήσεις, προ-εκλαμψία και αρτηριοσκλήρυνση έχουν χαρακτηριστεί από υψηλά επίπεδα 8-isoprostane στο πλάσμα και στα ούρα. Ακόμη, το 8-isoprostane έχει βρεθεί ότι είναι ένας χρήσιμος δείκτης οξειδωτικού stress και λιπιδικής υπεροξειδωσης στη νόσο Alzheimer, το σακχαρώδη διαβήτη, το ηπατονεφρικό σύνδρομο και την πειραματικά-επαγόμενη ηπατοτοξικότητα[132].

Σημαντική είναι η παρατήρηση ότι το 8-isoprostane δεν είναι απλά «μάρτυρας» οξειδωτικού stress και φλεγμονής στον οργανισμό, αλλά έχει επίσης βιολογικές επιδράσεις στο αναπνευστικό σύστημα, υποδηλώνοντας με αυτό τον τρόπο ότι πιθανών και να λειτουργεί ως παθοφυσιολογικός μεσολαβητής της οξειδωτικής βλάβης στον πνεύμονα. Συγκεκριμένα, προκαλεί βρογχοσυσπωση σε ποντίκια *in vivo*, σύσπωση του βρογχικού λείου μυ σε ανθρώπους *in vitro* καθώς επίσης επάγει την απόφραξη της ροής του αέρα και την εξίδρωση του πλάσματος σε πειραματόζωα. Προς το παρόν, δεν είναι γνωστό αν οι συγκεντρώσεις του 8-

isoprostane που λαμβάνονται τοπικά *in vivo* σε ανθρώπους είναι επαρκείς έτσι ώστε να εκδηλωθούν οι βιολογικές επιδράσεις του, λόγω του ότι δεν έχει ακόμη βρεθεί κανένας ειδικός αναστολέας των βιολογικών του δράσεων. Ωστόσο, η υπερπαραγωγή του 8-isoprostane μπορεί να προκαλέσει βρογχοσυσπασση σε ασθενείς με άσθμα. Ο μηχανισμός όμως της δράσης και της φύσης των υποδοχέων που εμπλέκονται στις διάφορες λειτουργίες του δεν έχουν ακόμη επιβεβαιωθεί[133, 134].

Ο προσδιορισμός του 8-isoprostane έχει πολλά πλεονεκτήματα και προτιμάται σε σχέση με άλλους δείκτες οξειδωτικού stress κι αυτό γιατί[124]:

- (1) σχηματίζεται *in vivo*
 - (2) είναι χημικά σταθερό μόριο
 - (3) είναι βιολογικά ενεργό μόριο
 - (4) είναι ειδικό μόριο λιπιδικής υπεροξειδωσης, που αποτελεί σημαντικό βήμα του οξειδωτικού stress
 - (5) συμμετέχει σε μηχανισμούς φλεγμονής
 - (6) ανιχνεύεται σε όλα τα βιολογικά υγρά
- και
- (7) προσδιορίζεται στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα, το οποίο αντανακλά το οξειδωτικό stress στον πνεύμονα.

Η κατανόηση της φύσης και δράσης των υποδοχέων του 8-isoprostane και ο προσδιορισμός του ενδεχομένως να συμβάλλει στην καθιέρωση νέων αποτελεσματικών θεραπειών για διάφορα καρδιαγγειακά και αναπνευστικά νοσήματα.

3.4.2 Αντιοξειδωτικοί δείκτες

▪ Δισμουτάση του υπεροξειδίου (SOD)

Καταλύει τη μετατροπή ανιόντων υπεροξειδίου σε υπεροξείδιο του υδρογόνου ($2\text{O}_2^- + 2\text{H}^+ \longrightarrow \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$) και αποτελεί ένα από τα πιο αποτελεσματικά ενδοκυττάρια ενζυμικά συστήματα. Η δισμουτάση του υπεροξειδίου απαντά σε αρκετές ισομορφές, οι οποίες διαφέρουν ως προς τη φύση του μετάλλου του ενεργού κέντρου, τη σύνθεση των αμινοξέων, καθώς και τον αριθμό των υπομονάδων, τους συμπαραγόντες και άλλα χαρακτηριστικά. Στον άνθρωπο απαντούν τρεις μορφές SOD, η κυταροπλασματική CuZnSOD, η μιτοχονδριακή MnSOD και η εξωκυττάρια SOD[111].

Η **CuZnSOD** είναι ένα ένζυμο το οποίο εντοπίζεται κυρίως στο κυτταρόπλασμα και σε μικρότερο βαθμό στον πυρήνα και τα λυσοσώματα. Αποτελείται από δύο ταυτόσημες υπομονάδες και έχει μοριακό βάρος περίπου 32kDa[135, 136]. Στο ενεργό κέντρο φέρει ιόντα χαλκού και ψευδαργύρου. Ο χαλκός είναι σημαντικός για την καταλυτική λειτουργία του ενζύμου, ενώ ο ψευδάργυρος φαίνεται πως παίζει σημαντικό ρόλο στη δομή του ενζύμου[137]. Το γονίδιο της CuZnSOD βρίσκεται στο χρωμόσωμα 21 και περιέχει ρυθμιστικά στοιχεία όπως τον NF-1 (Nuclear factor-1), specificity protein-1, activator protein-1 και 2, glucocorticoid response element, heat shock transcription factor, NF-κB και metal response element[138]. Έχουν χαρακτηριστεί πάνω από 50 μεταλλάξεις του γονιδίου της CuZnSOD, οι περισσότερες από τις οποίες συσχετίζονται με μείωση της ενεργότητας του ενζύμου κατά 50% έως 80%. Στους πνεύμονες ανθρώπου ανιχνεύεται στο βρογχικό επιθήλιο, στα πνευμονοκύτταρα τύπου II και στα κυψελιδικά μακροφάγα. Η ιονισμένη ακτινοβολία, η υπεροξία, η ισχαιμία-επαναιμάτωση, η ιντερλευκίνη-6 (IL-6) και ο ογκονεκρωτικός παράγοντας-α (TNF-α) προκαλούν αύξηση της δραστηριότητας του ενζύμου[111].

Η δράση της CuZnSOD έχει συσχετιστεί με ένα μεγάλο αριθμό ασθενειών όπως σακχαρώδης διαβήτης, υπέρταση, σύνδρομο Down, καρκίνου μαστού καθώς και αναπνευστικών νοσημάτων (άσθμα, διάμεσα πνευμονικά νοσήματα, σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας και βρογχοπνευμονικής δυσπλασίας και καρκίνο του πνεύμονα)[139-142].

Σημαντικός είναι ο ρόλος της CuZnSOD στην αγγειογένεση. Σχετική μελέτη παρουσίασε ότι υπερέκφραση του γονιδίου της CuZnSOD ανθρώπου σε διαγονιδιακά ποντίκια είχε σαν αποτέλεσμα την αύξηση της αγγειογένεσης. Επομένως, η ρύθμιση της δραστηριότητάς της μπορεί να αποδειχθεί σημαντική για τη θεραπεία νοσημάτων στην παθογένεια των οποίων εμπλέκεται η αγγειογένεση [143]. Η δράση της έχει συσχετισθεί και με την παρεμπόδιση της αύξησης του όγκου με αποτέλεσμα να θεωρείται ένας νέος ογκοκατασταλτικός παράγοντας[144]. Επίσης, η CuZnSOD παίζει σημαντικό ρόλο στη φλεγμονή. Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί ότι αύξηση της δραστηριότητάς της, οδηγεί σε απελευθέρωση μεγάλων ποσοτήτων TNF-α, αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF) και μεταλλοπρωτεϊνών MMP-2 και MMP-9[145].

Η ρύθμιση της δραστηριότητας της CuZnSOD, μπορεί να συμβάλλει στην καθιέρωση νέων αποτελεσματικών θεραπειών που θα αφορούν νοσήματα στην παθογένεια των οποίων εμπλέκεται η αγγειογένεση και αυτοάνοσα νοσήματα.

CuZnSOD	Μειωμένη έκφραση σε ασθματικούς ασθενείς
	Ίδια επίπεδα έκφρασης στο βρογχικό επιθήλιο ασθενών με ARDS σε σχέση με υγιείς μάρτυρες
	Ίδια επίπεδα έκφρασης στο βρογχικό επιθήλιο ασθενών με σαρκοείδωση σε σχέση με υγιείς μάρτυρες
	Μειωμένη έκφραση σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα
	Αυξημένα τα επίπεδα του mRNA σε καλλιέργειες κυττάρων σε ασθενείς με μεσοθηλίωμα

Πίνακας 6. Η μεταβολή της έκφρασης της CuZnSOD σε ασθενείς με αναπνευστικά νοσήματα

Η **MnSOD** είναι ένα ομοτετραμερές ένζυμο, με μοριακό βάρος 95kDa, το οποίο περιέχει ένα άτομο μαγγανίου στο ενεργό κέντρο κάθε υπομονάδας. Εντοπίζεται στη θεμέλια ουσία των μιτοχονδρίων όπου και απομακρύνει τις ρίζες O_2^- . Το γονίδιο του ενζύμου βρίσκεται στο χρωμόσωμα 6[111, 146]. Στους πνεύμονες ανθρώπου ανιχνεύεται κατά κύριο λόγο στα πνευμονοκύτταρα τύπου II και στα κυψελιδικά μακροφάγα. Η MnSOD επάγεται από μία σειρά παραγόντων όπως υπεροξία, ακτινοβολία, TNF-α, ιντερλευκίνη-1 (IL-1), λιποπολυσακχαρίτες (LPS), οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου και την ιντερφερόνη-γ (IFN-γ). Πολλοί από τους παράγοντες που επάγουν τη MnSOD, ενεργοποιούν και τον NF-κΒ[111]. Στα περισσότερα κύτταρα η υπερέκφραση του ενζύμου δηλώνει προστασία από το οξειδωτικό stress, την υπεροξία και την επαγόμενη από τον TNF-α κυτταροτοξικότητα. Ο ρόλος του ενζύμου έχει επιβεβαιωθεί με σχετικές μελέτες σε πειραματόζωα. Η δράση του ενζύμου έχει συσχετισθεί με ένα μεγάλο αριθμό αναπνευστικών νοσημάτων όπως άσθμα, χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, διάμεσα πνευμονικά νοσήματα, σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας και βρογχοπνευμονικής δυσπλασίας και καρκίνο του πνεύμονα[147, 148].

Η **εξωκυττάρια SOD** είναι μια τετραμερής γλυκοπρωτεΐνη, η οποία φέρει χαλκό και ψευδάργυρο στο ενεργό κέντρο και έχει υψηλή συγγένεια για ορισμένες γλυκοζαμινογλυκάνες, όπως η ηπαρίνη. Το γονίδιο της βρίσκεται στο χρωμόσωμα 4. Η εξωκυττάρια SOD βρίσκεται στα εξωκυτταρικά υγρά και στην εξωκυτταρική μήτρα όλων των ανθρώπινων ιστών, ειδικότερα της καρδιάς, του πλακούντα, του

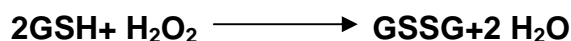
παγκρέατος και του πνεύμονα. Η ρύθμισή της στους ιστούς των θηλαστικών φαίνεται να διενεργείται από τις κυτταροκίνες και όχι από την οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου[149, 150]. Ο ρόλος της είναι να απομακρύνει το υπεροξειδίο από τις κυτταρικές επιφάνειες και να ρυθμίζει τη βιοδιαθεσιμότητα του οξειδίου του νατρίου (NO). Η έκφρασή της επάγεται από την ιντερφερόνη-α (IFN-α) και καταστέλλεται από τον TNF-α και τον αυξητικό παράγοντα όγκου (tumor growth factor-β, TGF-β). Η δράση της εξωκυττάριας SOD έχει συσχετισθεί με τη χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια και το σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας και βρογχοπνευμονικής δυσπλασίας[111].

▪ **Καταλάση**

Είναι ένα ένζυμο που αποτελείται από τέσσερις πρωτεϊνικές υπομονάδες, κάθε μία από τις οποίες περιέχει μια ομάδα αίμης και ένα μόριο NADPH[151]. Καταλύει τη μετατροπή του H₂O₂ σε νερό και οξυγόνο. Το γονίδιό του βρίσκεται στο χρωμόσωμα 11. Η καταλάση κατά κύριο λόγο εντοπίζεται μέσα στα κυτταρικά υπεροξειδιοσωμάτια που περιέχουν επίσης τα περισσότερα από τα ένζυμα που έχουν την ικανότητα να παράγουν το υπεροξειδίο του υδρογόνου. Η μεγαλύτερη δραστηριότητά του εντοπίζεται στο ήπαρ και τα ερυθροκύτταρα, αλλά μικρά ποσά καταλάσης περιέχονται σε όλους τους ιστούς[152, 153].

▪ **Υπεροξειδάσες γλουταθειόνης**

Η δραστηριότητα του ενζύμου αναγνωρίστηκε από τον *Mills* το 1957 και αποδόθηκε το 1973 σε ένα σεληνοένζυμο από τους *Flohe et al* και *Rotruck et al*. Στον άνθρωπο υπάρχουν δύο μορφές υπεροξειδάσης γλουταθειόνης: η μία μορφή απαιτεί σελήνιο στην ενεργή περιοχή (GPx), και συνεπώς σοβαρή έλλειψη σεληνίου μπορεί να οδηγήσει σε έλλειψη αυτού του ενζύμου, ενώ η άλλη είναι ανεξάρτητη του σεληνίου (*glutathione S-transferase, GST*)[151]. Αυτές οι δύο μορφές εντοπίζονται στο κυτταρόπλασμα και στα μιτοχόνδρια των ευκαρυωτικών κυττάρων, ενώ διαφέρουν ως προς τον αριθμό των υπομονάδων, τη φύση του δεσμού με το σελήνιο στο ενεργό κέντρο, καθώς και ως προς τους μηχανισμούς κατάλυσης. Οι υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης αφαιρούν το υπεροξειδίο του υδρογόνου από τα κύτταρα χρησιμοποιώντας ως συνυπόστρωμα ανηγμένη γλουταθειόνη[154, 155]:



▪ **Βιταμίνη Ε**

Η βιταμίνη Ε είναι λιποδιαλυτή και απαντά σε οκτώ διαφορετικές μορφές. Η α-τοκοφερόλη είναι η πλέον δραστική μορφή της βιταμίνης Ε στους ανθρώπους και αποτελεί ισχυρή αντιοξειδωτική ουσία. Η κύρια αντιοξειδωτική της δράση αφορά στην προστασία κατά της υπεροξειδωσης των λιπιδίων. [156].

3.5 Οξειδωτικό stress στις πνευμονικές παθήσεις

Οι ελεύθερες ρίζες κατέχουν εξέχοντα παθογενετικό ρόλο σε διάφορα νοσήματα του πνεύμονα.

3.5.1 Καρκίνος

Ο καρκίνος συνδέεται με την καπνισματική συνήθεια, την αυξημένη παραγωγή οξειδωτικών ριζών και την πρόκληση γενετικών μεταβολών στα κύτταρα από μεταλλάξεις στα γονίδια που ρυθμίζουν την κυτταρική αύξηση και απόπτωση[157, 158]. Έχει βρεθεί ότι ο καπνός του τσιγάρου που περιέχεται σε μια εισπνοή καπνού περιέχει 10^{10} σωματίδια/mL. Το 95% του καπνού αποτελείται από αέρια όπως άζωτο, οξυγόνο, και διοξείδιο του άνθρακα. Πειραματικά, η αέρια αυτή φάση διαχωρίστηκε από τη στερεή με τη βοήθεια φίλτρου από γυάλινες ίνες και βρέθηκε ότι η δεύτερη περιέχει περίπου 3500 συστατικά, τα περισσότερα από τα οποία είναι καρκινογόνα[159].

Σύμφωνα με τη διεθνή επιτροπή για την έρευνα του καρκίνου, έχουν ταυτοποιηθεί 55 καρκινογόνα σε μία εισπνοή τσιγάρου (πίνακας 6). Για όλα έχει τεκμηριωθεί η συμμετοχή τους στην καρκινογένεση τόσο σε ανθρώπους όσο και σε ζώα[160]. Ωστόσο, υπάρχει μια πληθώρα καρκινογόνων των οποίων η συμμετοχή στην καρκινογένεση δεν έχει τεκμηριωθεί επαρκώς από την προαναφερθείσα επιτροπή.

Ο καπνός του τσιγάρου περιέχει ελεύθερες ρίζες οι οποίες προκαλούν οξειδωτική βλάβη στον άνθρωπο. Συγκεκριμένα, η αέρια φάση του καπνού του τσιγάρου περιέχει περίπου 600μg οξειδίου του αζώτου. Η στερεή φάση περιέχει ελεύθερες ρίζες το μεγαλύτερο μέρος των οποίων θεωρείται ότι ανήκει στο σύμπλεγμα κινόνης-υδροκινόνης, που περιέχεται στην πίσσα [161]. Θεωρείται ότι το σύστημα αυτό δημιουργεί ανιόντα υπεροξειδίου από μοριακό οξυγόνο, που οδηγούν στη συνέχεια, στο σχηματισμό υπεροξειδίου του υδρογόνου και ριζών υδροξυλίου. Οι ελεύθερες αυτές ρίζες οξυγόνου μπορούν να προκαλέσουν ρήξεις στο DNA. Πειραματικές μελέτες έχουν δείξει ότι ο καπνός του τσιγάρου προκαλεί

θραύση του DNA σε μονές αλυσίδες στις καλλιέργειες ανθρώπινων κυττάρων[162]. Επιπλέον, πειράματα *in vitro* έχουν δείξει ότι η αέρια φάση του καπνού προκαλεί οξείδωση των λιπιδίων στο πλάσμα του ανθρώπου, η οποία αναχαιτίζεται από το ασκορβικό οξύ. Ακόμη, τα επίπεδα του ασκορβικού οξέος είναι χαμηλότερα στους καπνιστές σε σχέση με τους μη καπνιστές. Επίσης, ένδειξη του οξειδωτικού κινδύνου που διατρέχουν οι καπνιστές αποτελούν τα αυξημένα επίπεδα ισοπροστανίων. Ο ρόλος του οξειδωτικού stress στην πρόκληση βλάβης στο DNA μπορεί να επιβεβαιωθεί και από την ύπαρξη ελαττωματικών τμημάτων του DNA, όπως 8-οξοντεοξυγουανωσίνης (8-OHdG), στους πνεύμονες καπνιστών [163].

Επομένως, όλα όσα έχουν προαναφερθεί για τις οξειδωτικές ρίζες, που σχετίζονται με την καπνισματική συνήθεια, οδηγούν σε πολλαπλές γενετικές μεταβολές των κυττάρων, με κατάληξη την απενεργοποίηση των κατασταλτικών ογκογονιδίων του καρκίνου και την ενεργοποίηση ογκογονιδίων, με τελικό αποτέλεσμα την εκτροπή των κυττάρων από τη φυσιολογική ανάπτυξή τους (καρκίνος). Μελέτες έχουν δείξει αυξημένα επίπεδα MDA στο αίμα ασθενών με μικρο-κυτταρικό και μη μικρο-κυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα[164]. Επιπλέον, μειωμένα βρέθηκαν τα επίπεδα Se και η ενεργότητα της GPx σε ασθενείς με καρκίνο συγκριτικά με τους υγιείς-μάρτυρες[165]. Σε ασθενείς με μη μικρο-κυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα αυξημένα παρατηρήθηκαν τα επίπεδα της Mn SOD ενώ η ενεργότητα της καταλάσης βρέθηκε μειωμένη[166].

Επομένως, τα αντιοξειδωτικά φαίνονται να εμπλέκονται τόσο στην έναρξη της διαδικασίας της καρκινογένεσης όσο και στην πρόοδό της.

<i>Τύπος</i>	<i>Αριθμός ουσιών</i>
Πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες	10
Αζααρένια	3
Αρωματικές αμίνες	7
N-νιτροζαμίνες	3
Ετεροκυκλικές αρωματικές αμίνες	8
Αλδεΐδες	15
Διάφορα οργανικά συστατικά	7
Σύνολο	55

Πίνακας 7. Καρκινογόνα στον καπνό του τσιγάρου

3.5.2 Φυματίωση

Η φυματίωση θεωρείται μία λοιμώδη νόσος οφειλόμενη στο Μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης (*Mycobacterium Tuberculosis*). Χαρακτηρίζεται από το σχηματισμό κοκκιώματος με νέκρωση. Προσβάλλει κυρίως τους πνεύμονες και σπανιότερα άλλα μεμονωμένα όργανα[75].

Η επικράτηση και η ροπή της φυματίωσης σε μία κοινωνία καθορίζεται από τους επιδημιολογικούς δείκτες, οι οποίοι αφορούν αριθμούς θανάτων, νόσησης και μόλυνσης. Η θνησιμότητα εκφράζει τον ετήσιο αριθμό θανάτων από φυματίωση μεταξύ 100.000 ατόμων, ενώ η επίπτωση προσδιορίζει τον αριθμό των νέων νοσήσεων ετησίως μεταξύ 100.000 ατόμων. Ο φυματινικός δείκτης είναι το ποσοστό (%) των ατόμων που έχουν θετική φυματινοαντίδραση, δηλαδή των ατόμων που έχουν μολυνθεί άσχετα με το αν εκδήλωσαν ή όχι νόσηση. Πιο ειδικά, ο ετήσιος δείκτης φυματινικής μόλυνσης εκφράζει το ποσοστό (%) της ετήσιας μεταβολής του φυματινικού δείκτη και αναφέρεται πάντα στην ίδια ηλικία. Ο ετήσιος κίνδυνος φυματινικής μόλυνσης εκφράζει το ποσοστό (%) των ατόμων που μολύνονται κατά τη διάρκεια ενός έτους[28]. Η φυματίωση για να θεωρηθεί εκριζωθείσα, θα πρέπει η μεν επίπτωση να είναι <0,1% ανά 100.000 άτομα, ο δε ετήσιος κίνδυνος μόλυνσης στο γενικό πληθυσμό <0,1%[28].

Το μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης αφού διέλθει τους διάφορους φυσικούς αμυντικούς φραγμούς, εγκαθίσταται σε κάποιο ιστό, π.χ. στην κυψελίδα. Σ' αυτή την αρχική φάση γίνεται αρκετά ανεκτό από τον ξενιστή και εισέρχεται στο κυψελιδικό μακροφάγο. Μετά τη μόλυνση με το μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης αυξάνεται η παραγωγή μονοκυττάρων και η πρόωρη απελευθέρωσή τους από το μυελό των οστών προς το αίμα. Τα μονοκύτταρα του αίματος εγκαταλείπουν την κυκλοφορία και πορεύονται προς την εστία της μόλυνσης, όπου μετατρέπονται σε μακροφάγα των ιστών. Από αυτή τη φάση αρχίζει η διαδικασία της ανάπτυξης της ανοσολογικής αντίδρασης για την αποτελεσματική αντιμετώπιση του μυκοβακτηριδίου. Τα μακροφάγα είναι υπεύθυνα για την αναγνώριση και παρουσίαση των αντιγόνων του μυκοβακτηριδίου στα Τ-λεμφοκύτταρα. Τα Τ-λεμφοκύτταρα πολλαπλασιάζονται και εκκρίνουν κυτταροκίνες, όπως η ιντερλευκίνη-2 (IL-2), η IFN-γ και ο TNF-α με τις οποίες επιστρατεύονται μακροφάγα από την κυκλοφορία του αίματος και συγχρόνως τα ενεργοποιούν. Τα ενεργοποιημένα μακροφάγα με τη σειρά τους, παράγουν τεράστιες ποσότητες ενεργών ριζών οξυγόνου οι οποίες συμβάλλουν στην καταστροφή ή αναστολή της

ανάπτυξης του μυκοβακτηριδίου. Ο ξενιστής αμύνεται ενάντια στο μικροοργανισμό, ωστόσο η αυξημένη παραγωγή των ενεργών ριζών οξυγόνου συμβάλλει στη φλεγμονή και στη βλάβη του ιστού[31, 75].

Σχετικές πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι το συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα ασθενών με φυματίωση περιέχει υψηλά επίπεδα υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2)[167]. Επιπλέον, τα επίπεδα της MDA στο πλάσμα σε ασθενείς με φυματίωση βρέθηκαν αυξημένα, ενώ εκείνα των βιταμινών A, C και E μειωμένα[168]. Ακόμη βρέθηκε ότι η παραγωγή του NO από τα μακροφάγα, σε ασθενείς με φυματίωση, είναι υψηλή και υποβοηθείται από την επαγόμενη συνθάση του νιτρικού οξειδίου (iNOS) σε αυτά[169].

3.5.3 Πνευμονία

Η λέξη «πνευμονία» χρησιμοποιείται στην κλινική πράξη και σχεδόν πάντα αναφέρεται σε ένα σύνδρομο που οφείλεται σε οξεία λοίμωξη, συνήθως βακτηριακή, που χαρακτηρίζεται από κλινικά ή/και ακτινολογικά σημεία πύκνωσης ενός ή περισσότερων τμημάτων του ενός ή και των δύο πνευμόνων. Παρόλα αυτά, η χρήση του όρου αυτού έχει επεκταθεί σε μεγάλο βαθμό και περιλαμβάνει και μη βακτηριακές λοιμώξεις των πνευμόνων που οφείλονται σε μία μεγάλη ποικιλία μικροοργανισμών. Ο όρος «πνευμονίτις» χρησιμοποιείται μερικές φορές σαν συνώνυμο της πνευμονίας, ιδίως όταν η φλεγμονή του πνεύμονα οφείλεται σε μη λοιμώδες αίτιο, όπως η χημική βλάβη ή η βλάβη από ακτινοβολία [170].

Σε πνευμονία προδιαθέτουν όλες οι καταστάσεις, οι οποίες (i) ελαττώνουν ή καταστέλλουν το βήχα, (ii) παρεμποδίζουν τη δραστηριότητα του βλεννοκροσσώτου επιθηλίου, (iii) ελαττώνουν την αποτελεσματικότητα της φαγοκυτταρικής δραστηριότητας των κυψελιδικών μακροφάγων και ουδετεροφίλων και (iv) εμποδίζουν την παραγωγή ανοσοσφαιρινών. Τα δυνητικά παθογόνα φτάνουν στον πνεύμονα και προκαλούν πνευμονία, κυρίως από μικροεισρόφηση εκκρίσεων που περιέχουν στοματοφαρυγγική χλωρίδα, αλλά επίσης και από εμφανή εισρόφηση, από εισπνοή από το περιβάλλον, από νεφελοποιητές ή αναισθησιολογικά κυκλώματα και από αιματογενή διασπορά. Αποικισμός με μικρόβια σε ένα κατώτερο αναπνευστικό που νοσεί μπορεί επίσης να γίνει άμεσα και να προκαλέσει πνευμονία στον πνεύμονα που δεν έχει προηγουμένως προσβληθεί. Μερικές φορές τα παθογόνα μπορεί να επεκταθούν απευθείας από

μία γειτονική εξωπνευμονική εστία λοίμωξης, όπως το μεσοθωράκιο, η σπονδυλική στήλη, το θωρακικό τοίχωμα ή η περιτοναϊκή κοιλότητα[170].

Σχετικές μελέτες έδειξαν ότι η πνευμονία συνοδεύεται με το οξειδωτικό stress αφού υψηλές συγκεντρώσεις υπεροξειδίου του υδρογόνου εμφανίζονται στους αεραγωγούς. Επίσης, η πνευμονία, συσχετίζεται διαλλακτικά και με την ένταση της συστηματικής φλεγμονώδους απόκρισης[171]. Ο προσδιορισμός του οξειδωτικού stress και της αντιοξειδωτικής ικανότητας ασθενών με οξεία πνευμονία έδειξε ότι τα επίπεδα του πρώτου ήταν σημαντικά αυξημένα ενώ τα επίπεδα του δεύτερου χαμηλά. Συγκεκριμένα, η συγκέντρωση της MDA στον ορό ήταν σημαντικά αυξημένη στους ασθενείς με οξεία πνευμονία σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες, ενώ της SOD, του β-καροτένιου, της ρετινόλης, της βιταμίνης C, της βιταμίνης E και της GSH βρέθηκε χαμηλή[172]. Η ολική αντιοξειδωτική ικανότητα (TAS) βρέθηκε μειωμένη σε ασθενείς με πνευμονία της κοινότητας. Αυτή η αλλαγή στα επίπεδα της TAS φαίνεται πως επηρεάζεται από την ένταση της ασθένειας[173].

3.5.4 Άσθμα

Το άσθμα αποτελεί συχνή χρόνια νόσο των αεραγωγών, η οποία προσβάλλει παιδιά και ενήλικες όλων των ηλικιών. Τα περισσότερα δεδομένα δείχνουν ότι είναι αποτέλεσμα χρόνιας φλεγμονής κατά την οποία οι αεραγωγοί απαντούν έντονα με βρογχόσπασμο σε διάφορα ερεθίσματα. Τα κύρια χαρακτηριστικά του άσθματος είναι η υπεραντιδραστικότητα των αεραγωγών σε πολλούς ενδογενείς και εξωγενείς διεγερτικούς παράγοντες, αλλά και μια ειδική μορφή φλεγμονής του βλεννογόνου που περιλαμβάνει ενεργοποιημένα μαστοκύτταρα, ηωσινόφιλα και T-λεμφοκύτταρα. Αυτό σχετίζεται με τροποποιημένες απαντήσεις δομικών κυττάρων των αεραγωγών, που περιλαμβάνουν επιθηλιακά κύτταρα, ινοβλάστες, ενδοθηλιακά κύτταρα και κύτταρα λείων μυϊκών ινών[111].

Στην παθογένεια του άσθματος επομένως, συμμετέχουν τόσο φλεγμονώδη όσο και δομικά κύτταρα, που οδηγεί σε δομικές μεταβολές των αεραγωγών («αναδιαμόρφωση των αεραγωγών»). Σε φυσιολογικές συνθήκες, τα διάφορα κυτταρικά διαμερίσματα, όπως τα μιτοχόνδρια και το κυτταρόπλασμα, παράγουν και απελευθερώνουν O_2 . Την ενδοκυτταρική αυτή παραγωγή του H_2O_2 έρχονται να εξισορροπήσουν οι πολύ υψηλές συγκεντρώσεις αντιοξειδωτικών ενζύμων.

Ωστόσο, σε καταστάσεις υψηλού οξειδωτικού φορτίου, τα φλεγμονώδη κύτταρα των αεραγωγών στρατολογούνται στον υποκυτταρικό χώρο κάτω από το επιθήλιο των αεραγωγών, ενώ παράλληλα αυξάνεται η έκφραση της NADPH οξειδάσης, της μυελοϋπεροξειδάσης (MPO) και της ηωσινοφιλικής υπεροξειδάσης[111].

Σχετικές μελέτες δείχνουν ότι ο εκπνεόμενος αέρας ασθενών με άσθμα περιέχει αυξημένα ποσά H_2O_2 , οξειδίων του αζώτου και οργανικών πτητικών ουσιών[174, 175]. Επίσης, αυξημένα επίπεδα 8-isoprostane βρέθηκαν στο πλάσμα, στα πτύελα και στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα ασθενών με άσθμα[176]. Στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα (EBC), σε παιδιά με άσθμα σε παρόξυνση, τα επίπεδα της MDA βρέθηκαν αυξημένα, ενώ εκείνα της GSH μειωμένα[177]. Διάφορες μελέτες έδειξαν ότι η ενεργότητα της GPx ήταν μειωμένη στα ερυθροκύτταρα ασθενών με άσθμα σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες[178, 179]. Μειωμένη ακόμη βρέθηκε και η ενεργότητα της Cu/Zn SOD στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα (BAL) ασθενών με άσθμα[111, 180].

3.5.5 Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ)

Η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια χαρακτηρίζεται ως προοδευτικός περιορισμός της ροής του αέρα, που σχετίζεται με παθολογική φλεγμονώδη ανταπόκριση των πνευμόνων σε εισπνεόμενα τοξικά αέρια ή σωματίδια. Παρόλο που οι εξωτερικοί και εσωτερικοί παράγοντες μόλυνσης και η επαγγελματική έκθεση σε σκόνη συμβάλλουν στην ανάπτυξη χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας, το κάπνισμα αποτελεί τον κυριότερο αιτιολογικό παράγοντα γι' αυτή την κατάσταση. Μία εισπνοή καπνού περιέχει πάνω από 10^{14-16} ελεύθερες ρίζες[181].

Στην παθογένεια της χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν η φλεγμονή των αεραγωγών, το αυξημένο οξειδωτικό φορτίο και η ανισορροπία πρωτεασών/αντιπρωτεασών. Συγκεκριμένα, οι αεραγωγοί των ασθενών με ΧΑΠ περιέχουν μεγάλο αριθμό ουδετεροφίλων, τα οποία όταν ενεργοποιούνται, παράγουν και αυτά ελεύθερες ρίζες οξυγόνου. Η οξειδωτική απενεργοποίηση του φυσικού συστήματος αντιπρωτεασών (από τα οποία το πλέον γνωστό είναι αυτό της α_1 -αντιθρυψίνης) του πνεύμονα από ενεργείς ρίζες οξυγόνου, που βρίσκονται στον καπνό του τσιγάρου ή δημιουργούνται από τα φαγοκύτταρα των αεροφόρων χώρων, οδηγεί στην προοδευτική εμφάνιση εμφυσήματος στο πνεύμονα[181].

Σχετικές μελέτες έδειξαν ότι τα ούρα και το EBC ασθενών με ΧΑΠ περιέχουν αυξημένα ποσά 8-isoprostane[127, 131, 182]. Επίσης, υψηλές συγκεντρώσεις H_2O_2 βρέθηκαν στο EBC ασθενών με ΧΑΠ. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα και τις παρατηρήσεις των συγγραφέων, βασική πηγή προέλευσης φαίνεται να είναι τα ουδετερόφιλα[183]. Όσον αφορά το αντιοξειδωτικό αμυντικό σύστημα, μελέτες δείχναν χαμηλά επίπεδα GPx στα ερυθροκύτταρα ασθενών με ΧΑΠ και υψηλά επίπεδα MDA στο πλάσμα τους[184-186]. Ο Morrison και οι συνεργάτες παρατήρησαν μειωμένα επίπεδα GSH στο BAL ασθενών με ΧΑΠ υποδηλώνοντας πιθανή συσχέτιση με την αύξηση της διαπερατότητας του επιθηλίου που προκαλείται από το κάπνισμα[187, 188]. Παρομοίως, οι ερευνητές μέτρησαν τις σημαντικές αντιοξειδωτικές ουσίες πλάσματος σε καπνιστές και έδειξαν την ελαχιστοποίηση του ασκορβικού οξέος, της βιταμίνης E, του β-καροτενίου και του σεληνίου στον ορό χρόνιων καπνιστών[188].

3.5.6 Ιδιοπαθής Πνευμονική Ίνωση (IPF)

Οι ιδιοπαθείς διάμεσες πνευμονίες αποτελούν μια υποομάδα των διάχυτων παρεγχυματικών πνευμονοπαθειών (διάμεσες πνευμονοπάθειες). Η ομάδα αυτή περιλαμβάνει μια ποικιλία κλινικοπαθολογοανατομικών οντοτήτων, οι οποίες εμφανίζουν πολλά κοινά χαρακτηριστικά αλλά διαφέρουν αρκετά μεταξύ τους με αποτέλεσμα να ορίζονται ως διαφορετικές νόσοι. Μεταξύ αυτών είναι και η ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση (IPF), η οποία ορίζεται ως η ειδική μορφή της χρόνιας ινωδοποιού διάμεσης πνευμονίας, της οποίας η ιστολογική διάγνωση είναι εκείνη της συνήθους διαμέσου πνευμονίας (UIP)[111].

Στην παθογένεια της ιδιοπαθούς πνευμονικής ίνωσης εμπλέκονται διάφοροι παράγοντες, όπως περιβαλλοντικοί, γενετικοί και ανοσολογικοί. Ωστόσο η θέση εμπλοκής του εκάστοτε από αυτούς, δεν φαίνεται να είναι γνωστή, ούτε ο ακριβής ρόλος του. Σε πρόσφατες σχετικά μελέτες, αξιολογήθηκε ιδιαίτερα ο ρόλος τον οποίο μπορεί να παίξουν τα ανοσοσυμπλέγματα, τα οποία σχηματίζονται μετά από την αρχική αλλοίωση του τοιχώματος των κυψελίδων, την οποία ακολουθεί η βλαπτική επίδραση ενός εξωγενούς ή ενδογενούς παράγοντα. Τα σχηματιζόμενα ανοσοσυμπλέγματα φαίνεται ότι αποτελούν χημειοτακτικό παράγοντα για τα ουδετερόφιλα και την ενεργοποίηση των κυψελιδικών μακροφάγων. Η ενεργοποίηση των μακροφάγων έχει σαν αποτέλεσμα την παραγωγή χημειοτακτικών παραγόντων που οδηγούν στη συγκέντρωση σημαντικού αριθμού

ουδετερόφιλων και ηωσινόφιλων κυττάρων, τα οποία με τη σειρά τους, μέσω της παραγωγής ελεύθερων ριζών οξυγόνου προκαλούν τοπική πνευμονική βλάβη[111].

Υπάρχουν πολλές μελέτες που δείχνουν ότι το οξειδωτικό φορτίο των πνευμόνων σε ασθενείς με ιδιοπαθή πνευμονική ίνωση είναι αυξημένο και ότι τα φλεγμονώδη κύτταρα αυτών των ασθενών παράγουν περισσότερες ελεύθερες ρίζες από τα κύτταρα άλλων ασθενών[189-191]. Επιπλέον, τα φλεγμονώδη κύτταρα στις παθήσεις αυτές παράγουν υψηλά επίπεδα συνθετάσης του οξειδίου του αζώτου, το οποίο πιθανόν να προκαλεί βλάβη σε πολλά κύτταρα του πνεύμονα[192]. Το συστηματικό οξειδωτικό stress είναι αυξημένο σε ασθενείς με ιδιοπαθή πνευμονική ίνωση[193]. Ο εκπνεόμενος αέρας ασθενών με ιδιοπαθή ίνωση περιέχει αυξημένα επίπεδα 8-isoprostane και H_2O_2 [194], ενώ BAL περιέχει μειωμένα επίπεδα έκφρασης της MnSOD[195].

3.5.7 Σαρκοείδωση

Η σαρκοείδωση είναι μια χρόνια, πολυοργανική φλεγμονώδης νόσος αγνώστου αιτιολογίας, η οποία ιστολογικά χαρακτηρίζεται από ιστική βλάβη του πνεύμονα και σχηματισμό μη τυροειδοποιημένου κοκκιώματος από επιθηλιοειδή κύτταρα και τη συσσώρευση T-λεμφοκυττάρων και μονοπύρηνων. Η νόσος θεωρείται ότι είναι αποτέλεσμα έκθεσης, γενετικά προδιατεθειμένων ατόμων σε ειδικά περιβαλλοντικά αντιγόνα, τα οποία ενεργοποιούν την ανοσολογική κυτταρική αντίδραση των Th1 λεμφοκυττάρων, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό του κοκκιώματος[196].

Το κύτταρο που παίζει τον αρχικό και έναν από τους βασικότερους ρόλους στην παθογένεια της σαρκοείδωσης είναι το κυψελιδικό μακροφάγο το οποίο ενεργοποιείται και λειτουργεί ως αντιγονο-παρουσιαστικό κύτταρο. Η ενεργοποίηση των μακροφάγων στη σαρκοείδωση, χαρακτηρίζεται: α) από τη συσσώρευση λεμφοκυττάρων γύρω από τα μακροφάγα β) από την επεξεργασία διαφόρων κυτταροκινών γ) από την επεξεργασία διαφόρων μορίων συγκόλλησης. Τα μόρια συγκόλλησης προάγουν τη μετανάστευση και ενεργοποίηση διαφόρων κυττάρων, όπως είναι τα λεμφοκύτταρα, τα πολυμορφοπύρρηνα, οι ινοβλάστες και συμμετέχουν στη φλεγμονώδη εξεργασία και ίνωση. Οι απελευθερούμενες κυτταροκίνες περιλαμβάνουν τις ιντερλευκίνες IL-1, IL-2, IL-6, IL-8 και τον TNF- α , την χημειοτακτική πρωτεΐνη των μονοκυττάρων (MCP-1) και τον αυξητικό

παράγοντα 1. Τέλος οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου που παράγονται και απελευθερώνονται από τα ενεργοποιημένα φλεγμονώδη κύτταρα, μπορούν επίσης να συνεργήσουν στην πρόκληση της ιστικής βλάβης και την επακολουθούσα ίνωση[111, 196].

Μελέτες δείξαν ότι το συστηματικό οξειδωτικό stress είναι αυξημένο σε ασθενείς με μη ενεργό σαρκοείδωση[197]. Ακόμη, τα φλεγμονώδη κύτταρα των ασθενών με σαρκοείδωση παράγουν περισσότερες ελεύθερες ρίζες από τα κύτταρα υγιών ανθρώπων[198]. Επιπλέον, το EBC ασθενών με σαρκοείδωση παρουσίασε υψηλές συγκεντρώσεις 8-isoprostane[199]. Οι *Lakari et al* έδειξαν ότι τα επίπεδα έκφρασης της CuZnSOD στο βρογχικό επιθήλιο ασθενών με σαρκοείδωση ήταν ίδια με εκείνα των υγιών μαρτύρων[200]. Η ίδια ομάδα σε άλλη μελέτη, παρουσίασε υψηλά επίπεδα έκφρασης της MnSOD στο βρογχικό επιθήλιο ασθενών με σαρκοείδωση σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες[147].

3.5.8 Υπεζωκοτικές συλλογές

Ως υπεζωκοτική συλλογή χαρακτηρίζεται η συσσώρευση υγρού εντός της υπεζωκοτικής κοιλότητας, για την οποία ευθύνονται διαταραχές στη σχέση παραγωγής-απορρόφησης του υπεζωκοτικού υγρού. Κατά την ανάπτυξη των εξιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών, φλεγμονώδεις διαδικασίες συμβάλλουν στην αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας και την εισροή του υπεζωκοτικού υγρού. Επιπλέον, οι τοπικά παραγόμενες κυτοκίνες, με τη σειρά τους ενεργοποιούν τοπικά τα μεσοθηλιακά κύτταρα με αποτέλεσμα την άμεση συσσώρευση φλεγμονωδών κυττάρων στην υπεζωκοτική κοιλότητα[205].

Περιορισμένες είναι οι μελέτες που αφορούν τα επίπεδα του οξειδωτικού stress σε ασθενείς με υπεζωκοτική συλλογή. Οι *Liu et al*, έδειξαν ότι σε ασθενείς με φυματιώδη υπεζωκοτική συλλογή το ποσοστό των μονοκυττάρων στο πλευριτικό υγρό ήταν υψηλότερο σε σχέση με το ποσοστό στο αίμα, ενώ τα επίπεδα της TAC βρέθηκαν χαμηλά σε σχέση με τα επίπεδά της στο αίμα. Επίσης, το ποσοστό των μονοκυττάρων και της MDA στο πλάσμα ήταν υψηλότερα συγκριτικά με εκείνα των υγιών μαρτύρων, ενώ τα επίπεδα της TAC στο πλάσμα ήταν χαμηλότερα, σε σχέση με τα επίπεδα των υγιών μαρτύρων. Η ίδια μελέτη έδειξε ότι στις φυματιώδεις πλευρίτιδες υπάρχει αρνητική συσχέτιση της TAC με το ποσοστό των μονοκυττάρων και τη MDA, ενώ βρέθηκε θετική η συσχέτιση του ποσοστού των μονοκυττάρων με τη MDA υποδηλώνοντας ότι τα μονοκύτταρα είναι

υπεύθυνα για την αύξηση του οξειδωτικού φορτίου στην υπεζωκοτική κοιλότητα[206].

Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου έχει βρεθεί ότι εμπλέκονται στην παθογένεση των υπεζωκοτικών συλλογών που επάγονται από ίνες αμιάντου. Οι *Choe N et al* έδειξαν ότι οι ίνες αμιάντου επάγουν την παραγωγή υπεροξειδίου του νιτρώδους άλατος (ONOO^-) σε καλλιέργειες μεσοθηλιακών κυττάρων τοιχωματικού υπεζωκότα ποντικού. Η λειτουργικότητα των μακροφάγων του υπεζωκότα ποντικού φαίνεται ότι επάγεται μετά την εισπνοή αμιάντου, όπως έχει αποδειχθεί, αφού ακολουθεί αύξηση στην παραγωγή της ρίζας του νιτρικού οξειδίου (NO^-) και του $\text{TNF-}\alpha$ στα συγκεκριμένα κύτταρα[207].

Το κακόηθες μεσοθηλίωμα του υπεζωκότα εκπροσωπεί μία πολύ επιθετική μορφή κακοήθειας με ανθεκτικότητα στην ακτινοβολία και τη χημειοθεραπεία. Η παθογένειά του συσχετίζεται ισχυρά με τις ελεύθερες ρίζες. Οι *Kinnula et al* έδειξαν ότι η έκφραση της MnSOD είναι αυξημένη στα μιτοχόνδρια κυττάρων του κακόηθους μεσοθηλιώματος. Οι περισσότερες περιπτώσεις μεσοθηλιώματος αναπτύσσονται μετά από εκτεταμένη έκθεση σε ίνες αμιάντου, οι οποίες έχουν τη δυνατότητα να παράγουν ελεύθερες ρίζες οξυγόνου είτε άμεσα, είτε έμμεσα ενεργοποιώντας φλεγμονώδη κύτταρα. Η MnSOD επάγεται από τις ίνες αμιάντου καθώς επίσης και από πολλές κυττοκίνες. Επομένως, η υψηλή αυτή έκφραση του ενζύμου υποδηλώνει την επαγωγή του από τις κυττοκίνες και τα οξειδωτικά. Η ίδια μελέτη επίσης προσδιόρισε ένα δείκτη οξειδωτικού stress, τη νιτροτυροσίνη, την οποία συσχέτισε με την ένταση της έκφρασης της MnSOD. Αν και η συσχέτιση δεν ήταν σημαντική, το αποτέλεσμα ωστόσο υποδείκνυε ένα σημαντικό συμπέρασμα[208].

Η υπεζωκοτική κοιλότητα είναι ένας κλειστός χώρος ο οποίος είναι απομονωμένος από το υπόλοιπο αναπνευστικό σύστημα, αλληλεπιδρά όμως με τον πνεύμονα σε διάφορες ασθένειες. Οι *Parageorgiou et al* προσδιόρισαν τα επίπεδα του οξειδωτικού stress σε ασθενείς με υπεζωκοτική συλλογή και βρήκαν ότι τα εξιδρώματα ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα από τα διιδρώματα. Οι υψηλές συγκεντρώσεις οξειδωτικού stress στα εξιδρώματα υποδηλώνουν την έντονη παραγωγή ελευθέρων ριζών στην υπεζωκοτική κοιλότητα. Υποστηρίζανε ακόμη ότι το υψηλό οξειδωτικό φορτίο τοπικά, συσχετίζεται με τη φύση της κάθε ασθένειας. Η ίδια μελέτη έδειξε ότι δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική

διαφορά μεταξύ των υποομάδων των εξιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών[134].

Οι παραπνευμονικές συλλογές χαρακτηρίζονται από μεγάλο αριθμό φλεγμονωδών κυττάρων, κυρίως ουδετερόφιλων. Οι *Gogou et al* έδειξαν ότι τα επίπεδα του ασκορβικού οξέος και του μεταβολίτη του, δεϋδροασκορβικού οξέος, είναι υψηλά στις παραπνευμονικές συλλογές. Ειδικότερα, το ασκορβικό οξύ (AA) παίζει σημαντικό ρόλο στην εξάλειψη των ελευθέρων ριζών με σκοπό την προστασία των ουδετερόφιλων και των μεσοθηλιακών κυττάρων από την οξειδωτική βλάβη, ενώ το δεϋδροασκορβικό οξύ (DHA) μεταβάλλει τη διαπερατότητα του σπλαχνικού και του τοιχωματικού υπεζωκότα προβάτου. Κατά τη διάρκεια φλεγμονωδών διεργασιών, το ασκορβικό οξύ έχει διπλό προστατευτικό ρόλο αφού προστατεύει τα μεσοθηλιακά κύτταρα από την οξειδωτική βλάβη, καθώς επίσης και την υπεζωκοτική κοιλότητα από την αυξημένη συσσώρευση υπεζωκοτικού υγρού, μειώνοντας τη διαπερατότητα του υπεζωκότα[209].

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Σκοπός

Στηριζόμενοι λοιπόν στην υπόθεση ότι τα εξιδρώματα παρουσιάζουν υψηλότερα επίπεδα οξειδωτικού stress σε σχέση με τα διιδρώματα, εκφράζοντας με τον τρόπο αυτό, την αυξημένη τοπική παραγωγή των ελευθέρων ριζών από τα ενεργοποιημένα φλεγμονώδη κύτταρα, όπως τα κυψελιδικά μακροφάγα και τα ουδετερόφιλα, σκοπός της μελέτης μας ήταν να εκτιμήσουμε κατά πόσο τα επίπεδα του 8-isoprostane και της CuZnSOD στο υπεζωκοτικό υγρό και στο αίμα ασθενών με υπεζωκοτική συλλογή, μπορούν να συμβάλλουν στη διαφοροδιάγνωση και παθογένεση των υπεζωκοτικών συλλογών. Επιπλέον μελετήθηκε η χρησιμότητα αυτών των δεικτών στη διάκριση μεταξύ επιπλεγμένων και μη επιπλεγμένων παραπνευμονικών συλλογών σε μια προσπάθεια να διευκρινιστεί ο ρόλος τους στην κλιμάκωση της φλεγμονής, ώστε να παρέχουμε επιπλέον βοήθεια στην καθημερινή κλινική πράξη.

4. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

▪ Πληθυσμός

Στη μελέτη έλαβαν μέρος 214 ασθενείς, οι οποίοι νοσηλεύτηκαν στην Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας, για διαγνωστική διερεύνηση υπεζωκοτικής συλλογής κατά το χρονικό διάστημα Σεπτέμβριο 2005 έως Οκτώβριο 2008. Σε όλους τους ασθενείς συμπληρώθηκε κοινό πρωτόκολλο στο οποίο καταγράφηκαν τα ακόλουθα:

1- Η αιτία εισόδου, ο εντοπισμός της υπεζωκοτικής συλλογής (Αριστερά, Δεξιά, Άμφω) και η τελική διάγνωση.

2- Η βιοψία υπεζωκότα για τις περιπτώσεις όπου υπήρχε ένδειξη.

3- Η κυτταρολογική του υπεζωκοτικού υγρού.

4- Η μικροβιολογική εξέταση του υπεζωκοτικού υγρού.

5- Η καλλιέργεια του υπεζωκοτικού υγρού.

6- Η γενική αίματος (αριθμός και τύπος λευκών αιμοσφαιρίων, T.K.E.).

7- Ο προσδιορισμός του σακχάρου, LDH, ολικών λευκωμάτων και ολικής ADA στο υπεζωκοτικό υγρό και το αίμα.

Η διάκριση των συλλογών σε εξιδρώματα ή διιδρώματα έγινε σύμφωνα με τα κριτήρια του Light: (i) η σχέση των πρωτεϊνών του υπεζωκοτικού υγρού προς τις πρωτεΐνες του αίματος είναι >0.5 (ii) η σχέση της LDH του υπεζωκοτικού υγρού προς την LDH του αίματος είναι >0.6 (iii) η απόλυτη τιμή της LDH στο υπεζωκοτικό υγρό είναι $>2/3$ των ανώτερων φυσιολογικών τιμών του πλάσματος.

▪ Κριτήρια διάγνωσης

Ο προσδιορισμός της αιτίας που προκάλεσε την υπεζωκοτική συλλογή βασίστηκε στη κλινική εικόνα, τον εργαστηριακό έλεγχο και την ανταπόκριση στη φαρμακευτική αγωγή. Μια συλλογή χαρακτηρίστηκε ως λεμφοκυτταρικό εξίδρωμα με βάση τα κριτήρια του Light και αν ο αριθμός των λεμφοκυττάρων στο υπεζωκοτικό υγρό ήταν πάνω από 50%. Οι συλλογές ταξινομήθηκαν στις ακόλουθες ομάδες σύμφωνα με τη τελική διάγνωση:

♦ **Παραπνευμονική συλλογή (n=68)**

Η διάγνωση στηρίχθηκε στη παρουσία λοίμωξης του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος. Ως μη επιπλεγμένες παραπνευμονικές συλλογές χαρακτηρίστηκαν εκείνες, οι οποίες ανταποκρίνονταν στη θεραπεία με αντιβιοτικά, ενώ ως επιπλεγμένες χαρακτηρίστηκαν οι μη πυώδεις συλλογές, οι οποίες απαιτούσαν τη χρήση θωρακικού σωλήνα ή κάποιας άλλης μεθόδου παροχέτευσης για την θεραπεία τους. Εμπύημα είναι η συλλογή πύου στην υπεζωκοτική κοιλότητα. Η τελική απόφαση σχετικά με την παροχέτευση του υπεζωκοτικού υγρού ήταν του γιατρού.

♦ **Κακοήθεις συλλογές (n=88)**

Η διάγνωση τέθηκε σε όλους τους ασθενείς με τη θετική κυτταρολογική εξέταση του υπεζωκοτικού υγρού ή τη βιοψία υπεζωκότα.

♦ **Φυματιώδης πλευρίτιδα (n=24)**

Η τελική διάγνωση τέθηκε με απομόνωση του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης: α) στην καλλιέργεια πτυέλων και υπεζωκοτικού υγρού β) με χρώση Zielh-Neelsen και γ) με βιοψία υπεζωκότα.

♦ **Συμφορητική Καρδιακή Ανεπάρκεια (Διίδρωμα) (n=34)**

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

♦ **Συλλογή και ανάλυση δειγμάτων**

Από κάθε ασθενή πριν την έναρξη της θεραπείας συλλέχθηκε το υπεζωκοτικό υγρό της πρώτης παρακέντησης και ταυτόχρονα 10 mL φλεβικού αίματος. 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 μικροσκοπία. Όλα τα δείγματα υποβλήθηκαν σε κυτταρολογική εξέταση και καλλιέργεια για αερόβια και αναερόβια

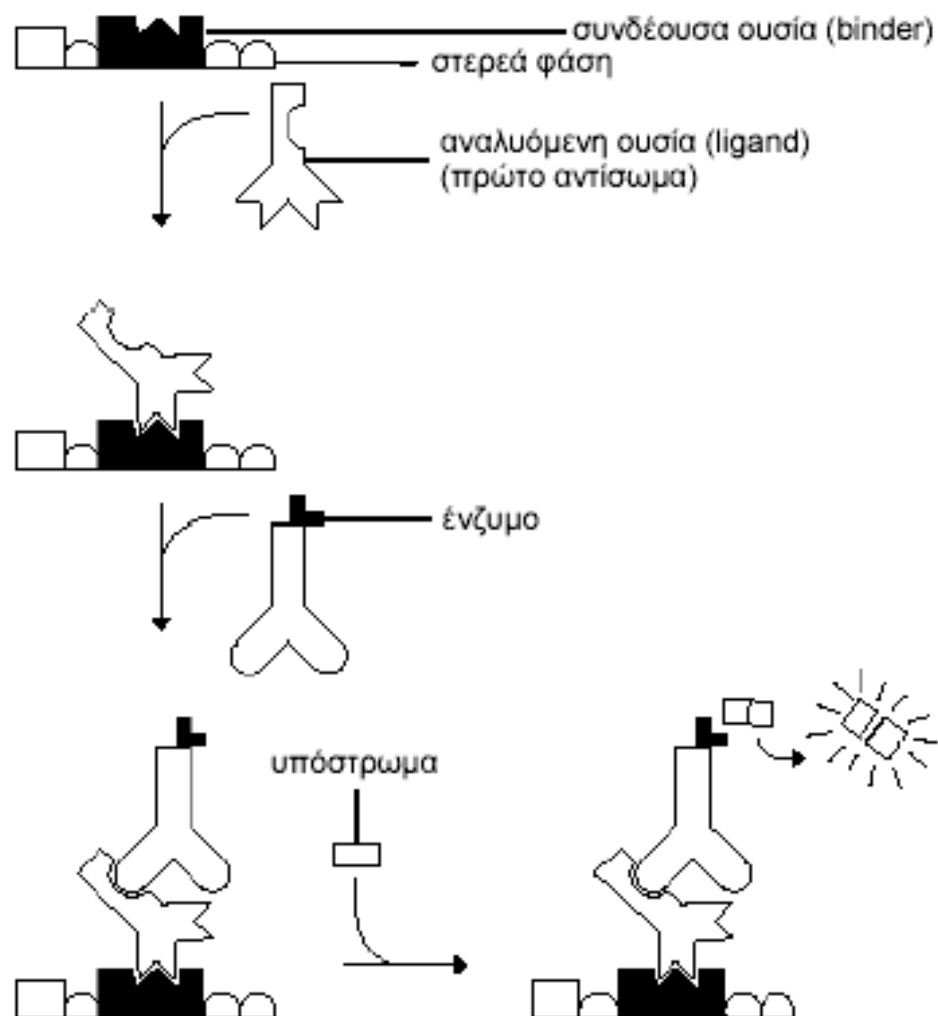
βακτήρια. Το υπεζωκοτικό υγρό και το αίμα που προοριζόταν για τον προσδιορισμό του 8-isoprostane και της CuZnSOD, αμέσως μετά την λήψη τους υποβάλλονταν σε φυγοκέντρηση στις 1500 στροφές για 15 λεπτά στους 4°C και το υπερκείμενο αποθηκεύονταν στους -80°C μέχρι τη στιγμή της ανάλυσης.

▪ **Μέθοδος προσδιορισμού 8-Isoprostane και Cu/Zn SOD**

Οι συγκεντρώσεις του 8-isoprostane και της CuZnSOD προσδιορίστηκαν με εμπορικά διαθέσιμα kits (Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA και Bender MedSystems, Austria, Europe, αντίστοιχα) και σύμφωνα με τις αρχές του πρωτοκόλλου της κατασκευάστριας εταιρείας. Το χαμηλότερο όριο ανίχνευσης για το 8-isoprostane ήταν 2.7 pg/mL και για την CuZnSOD 0.04 ng/mL. Ο ποσοτικός προσδιορισμός των παραπάνω δεικτών επιτεύχθηκε με την χρήση της ανοσοπροσροφητικής ανάλυσης στερεάς φάσεως με σύνδεση ενζύμου (*Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assays, ELISA*).

▪ **Αρχή της μεθόδου**

Η βασική αρχή της μεθόδου (*Εικόνα 3*) στηρίζεται σε ένα ολιγοκλωνικό σύστημα, στο οποίο μονοκλωνικά αντισώματα στοχεύουν συγκεκριμένα επίτοπα του αντιγόνου. Τα αντιγόνα επωάζονται σε ισότονο διάλυμα αλάτων μέσα στα βοθρία της μικροπλάκας, με αποτέλεσμα να προσδένονται στα παγιδευμένα αντισώματα (*MAbsI*). Το ελεύθερο αντιγόνο απομακρύνεται με πλύση. Το πρώτο αντίσωμα (*MAbI*) ανιχνεύεται από ένα δεύτερο αντίσωμα (*MAbII*) σημασμένο με υπεροξειδάση (*HRP*). Ακολουθεί επώαση κατά την οποία δημιουργείται το σύμπλοκο της μορφής: παγιδευμένο *MAbI*•αντιγόνο-*MabII*•*HRP* και στη συνέχεια η μικροπλάκα πλένεται, ώστε να απομακρυνθούν τα μη προσδεμένα σημασμένα αντισώματα. Το σημασμένο αντίσωμα καθίσταται ορατό με την προσθήκη χρωμογόνου υπό μορφή διαλύματος (*TMB+H₂O₂*), επάνω στο οποίο δρα η υπεροξειδάση για να παραχθεί ένα έγχρωμο τελικό προϊόν. Ακολουθεί επώαση και τερματισμός της αντίδρασης με την προσθήκη *H₂SO₄*. Το ποσό του υποστρώματος που έχει καταναλωθεί, προσδιορίζεται εκτιμώντας την ποσότητα του έγχρωμου τελικού προϊόντος με σάρωση της οπτικής πυκνότητας του πλακιδίου στα 450nm. Η τιμή της απορρόφησης που καταγράφεται είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του αντιγόνου (*8-isoprostane* και *CuZnSOD*) στο δείγμα.



Εικόνα 3. Διαγραμματική παράσταση της ανοσοπροσροφητικής ενζυμικής δοκιμασίας (ELISA)

5. Στατιστική Ανάλυση

Τα στοιχεία παρουσιάζονται ως μέση τιμή \pm σταθερή απόκλιση (SD). Η σύγκριση μεταξύ δύο διαφορετικών ομάδων ελέγχθηκε με τη δοκιμασία unpaired t-tests, ενώ η σύγκριση περισσότερων των δύο ομάδων ελέγχθηκε με one-way analysis of variance (Δοκιμασία Bonferroni). Ο έλεγχος της κανονικής κατανομής έγινε με τη δοκιμασία Shapiro-Wilk's test και όταν δεν υπήρχε κανονική κατανομή χρησιμοποιήθηκε η μη παραμετρική δοκιμασία κατά Mann-Whitney. Για τη διαφοροδιάγνωση μεταξύ των υπεζωκοτικών συλλογών διαφορετικής αιτιολογίας χρησιμοποιήθηκε ανάλυση ROC (Receiver operator characteristics curves). Ως καταλληλότερο όριο που προέκυψε από τη ανάλυση ROC θεωρήθηκε αυτό που παρείχε τη καλύτερη ευαισθησία και ειδικότητα και το οποίο απεικονίζεται στο ανώτερο και πιο αριστερό άκρο του διαγράμματος. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με το πρόγραμμα GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, San Diego, Ca USA) και η ROC ανάλυση με το MedCalc 9.0 (MedCalc, Mariakerke, Belgium).

6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Γενικά Χαρακτηριστικά Υπεζωκοτικών Συλλογών

Η αιτιολογία των υπεζωκοτικών συλλογών φαίνεται στον Πίνακα 6. Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά και τα χαρακτηριστικά του πλευριτικού υγρού των ασθενών που μελετήθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 7.

Το υλικό που μελετήσαμε συνολικά ήταν 214 υπεζωκοτικές συλλογές, από τις οποίες 34 διιδρωματικές (15.9%) (όλοι οι ασθενείς είχαν συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, ΣΚΑ) και 180 εξιδρωματικές (84.1%), εκ των οποίων οι 68 ήταν παραπνευμονικές συλλογές και εμπυήματα (31.7%), οι 24 φυματιώδεις πλευρίτιδες (11.2%) και οι 88 κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές (41.1%)(Πίνακας 6).

Οι ασθενείς ήταν 154 άνδρες και 60 γυναίκες. Οι ασθενείς με συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια είχαν μέση ηλικία 74.27 ± 16.70 έτη, ενώ εκείνοι με κακοήγη υπεζωκοτική συλλογή είχαν μέση ηλικία 65.93 ± 10.02 έτη. Ασθενείς με φυματιώδη πλευρίτιδα είχαν μέση ηλικία 49.22 ± 16.70 έτη, ενώ ασθενείς με παραπνευμονική συλλογή και εμπύημα είχαν 58.60 ± 16.51 έτη. Ο αριθμός των κυττάρων και των ουδετεροφίλων στο υπεζωκοτικό υγρό παρατηρήθηκε υψηλός στους ασθενείς με παραπνευμονική συλλογή και εμπύημα ενώ τον υψηλότερο αριθμό λεμφοκυττάρων παρουσίασαν οι ασθενείς με φυματιώδη πλευρίτιδα. Τα επίπεδα της γλυκόζης βρέθηκαν υψηλότερα στους ασθενείς με συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, ενώ το pH παρουσίασε σχεδόν παρόμοιες τιμές σε όλες τις ομάδες των ασθενών. Σε ό,τι αφορά τις ολικές πρωτεΐνες οι τιμές τους στο υπεζωκοτικό υγρό, στον ορό καθώς και στο λόγο υπεζωκοτικό υγρό/ορό ήταν υψηλότερες στους ασθενείς με φυματιώδη πλευρίτιδα. Οι τιμές της LDH παρατηρήθηκαν υψηλές στο υπεζωκοτικό υγρό ασθενών με παραπνευμονική συλλογή και εμπύημα, ενώ στον ορό στους ασθενείς με συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια (Πίνακας 7).

Αίτιο	Αριθμός ασθενών	%
Διιδρώματα (ΣΚΑ)	34	15,9
Εξιδρώματα	180	84,1
Παραπνευμονική + Εμπύημα	68	31,7
Φυματίωση	24	11,2
Κακοήθεια	88	41,1

Πίνακας 6. Ταξινόμηση Υπεζωκοτικών Συλλογών (n=214)

	ΣΚΑ (n=34)	Κακοήθεια (n=88)	Φυματίωση (n=24)	ΠΣ + ΕΜΠ (n=68)
Ηλικία (έτη)	74.27 ± 16.70	65.93 ± 10.02	49.22 ± 16.70	58.60 ± 16.51
Φύλο (Α/Θ)	20/14	61/27	15/9	58/10
Αριθμός κυττάρων ΥΥ	500.00 (417.5, 1000.0)	2000.00 (1325.0, 3850.0)	3394.00 ± 2325.0	6800.00 (2625.0, 30700.0)
Αριθμός λεμφοκυττάρων ΥΥ (%)	35.88 ± 30.14	58.50 (33.50, 77.25)	79.67 ± 11.62	10.00 (6.50, 26.00)
Αριθμός ουδετερόφιλων κυττάρων ΥΥ (%)	36.50 ± 32.58	10.00(3.00, 22.25)	15.00 ± 10.82	77.00 (60.00, 85.00)
Γλυκόζη ΥΥ (mmol/L)	134.8 ± 38.51	116.00 (91.50, 135.00)	78.00 (70.50, 81.00)	87.00 (22.50, 127.50)
pH ΥΥ	7.38 (7.29, 7.45)	7.41 (7.35, 7.45)	7.28 ± 0.05	7.22 (6.91, 7.37)
Ολικές πρωτεΐνες ΥΥ (g/L)	2.99 ± 0.84	4.37 (3.79, 5.09)	5.31 ± 0.49	4.47 ± 1.31
Ολικές πρωτεΐνες ορού (g/L)	6.41 ± 0.62	6.73 ± 0.91	7.25 ± 0.66	6.54 ± 0.84
Ολικές πρωτεΐνες ΥΥ/Ορού	0.48 (0.39, 0.61)	0.67 (0.57, 0.73)	0.75 ± 0.05	0.67 ± 0.19
LDH ΥΥ (UI/L)	115.0 (68.0, 193.0)	281.5 (200.8, 570.3)	751.6 ± 377.2	966.0 (367.0, 2164.0)
LDH ορού (UI/L)	251.4 ± 104.6	215.0 (191.5, 315.8)	211.7 ± 62.03	214.5 (159.3, 291.5)
LDH ΥΥ/ορού	0.49 (0.26, 0.73)	1.21 (0.81, 2.28)	3.83 ± 2.1	3.91 (1.27, 10.49)

Πίνακας 7. Δημογραφικά χαρακτηριστικά και χαρακτηριστικά υπεζωκοτικού υγρού. LDH: Γαλακτική Δεϋδρογενάση, ΥΥ: Υπεζωκοτικό Υγρό, ΣΚΑ: Συμφορητική Καρδιακή Ανεπάρκεια, ΠΣ: Παραπνευμονική Συλλογή, ΕΜΠ: Εμπύημα.

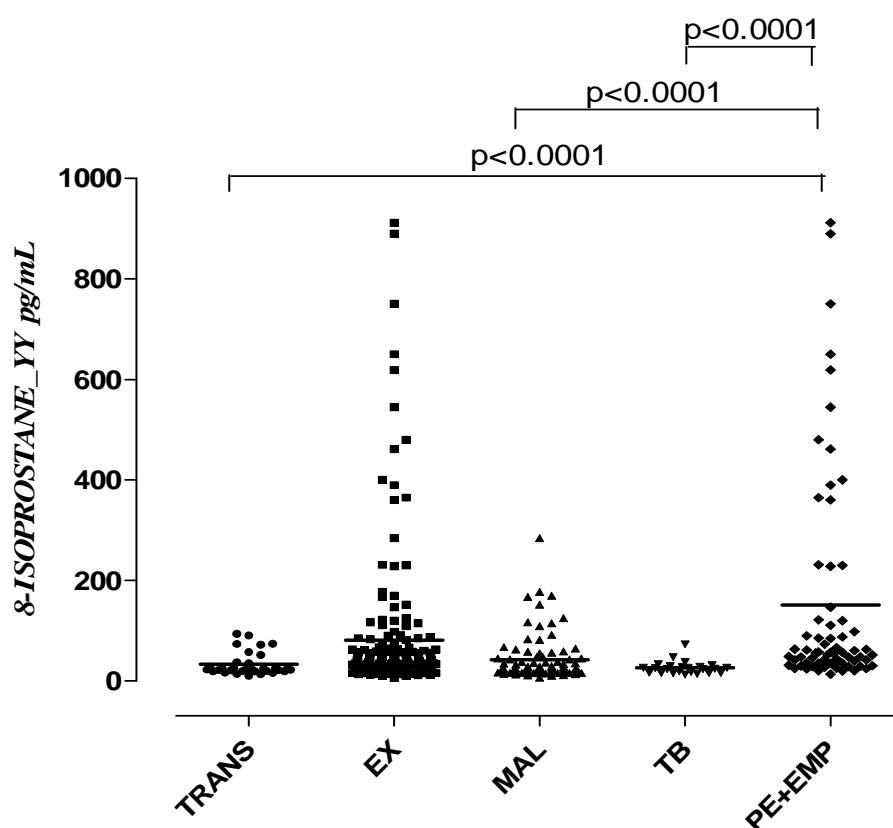
8-ΙΣΟΠΡΟΣΤΑΝΙΟ (8-Isoprostane)

Τα επίπεδα του 8-isoprostane στο υπεζωκοτικό υγρό, στον ορό και στο λόγο υπεζωκοτικό υγρό/ορό των ασθενών με διϊδρωματική και εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή διαφορετικής αιτιολογίας παρουσιάζονται στον Πίνακα 8.

	Διϊδρωμα (n=34)	Εξιδρωμα (n=180)	Κακοήθεια (n=88)	Φυματίωση (n=24)	ΠΣ + ΕΜΠ (n=68)
8-Isoprostane (pg/mL)	ΥΥ 24.02 (19.82, 36.13)	32.04 (20.83, 61.20)	25.10 (19.07, 44.96)	25.13 (16.33, 29.33)	55.71 (34.69, 121.5)
	Ορός 42.91 (21.66, 136.0)	37.17 (20.59, 82.94)	36.58 (20.86, 73.02)	32.46 (15.34, 158.9)	39.66 (22.47, 89.41)
	ΥΥ/Ορ 0.68 (0.22, 1.1)	1.1 (0.37, 2.3)	0.77 (0.36, 1.95)	0.69 (0.17, 2.1)	1.42 (0.78, 5.0)

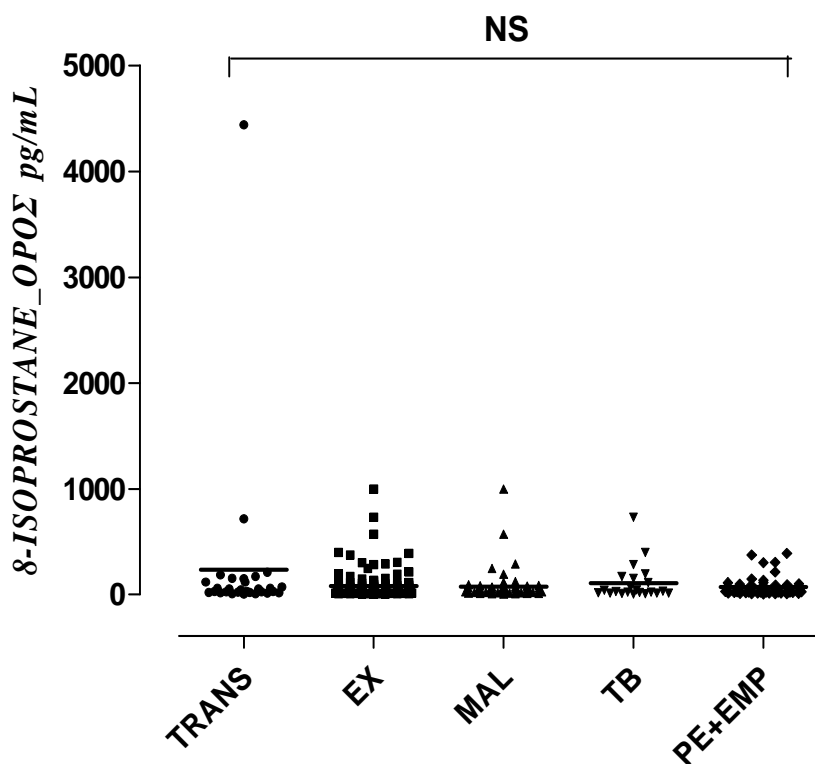
Πίνακας 8. Επίπεδα του 8-isoprostane στο υπεζωκοτικό υγρό και στον ορό των ασθενών με διϊδρωματική ή εξιδρωματική συλλογή. Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως διάμεση τιμή (25^η, 75^η εκατοστιαία τιμή). ΥΥ: Υπεζωκοτικό Υγρό, Ορ: Ορός, ΠΣ: Παραπνευμονική συλλογή, ΕΜΠ: Εμπύημα.

Τα επίπεδα του 8-isoprostane στο υπεζωκοτικό υγρό των ασθενών με παραπνευμονική υπεζωκοτική συλλογή βρέθηκαν σημαντικά αυξημένα (55.71 pg/mL) συγκρινόμενα με αυτά της κακοήθους υπεζωκοτικής συλλογής (25.10 pg/mL, $p<0.0001$) και της φυματιώδους πλευρίτιδας (25.13 pg/mL, $p<0.0001$), (Πίνακας 8, Διάγραμμα 1).



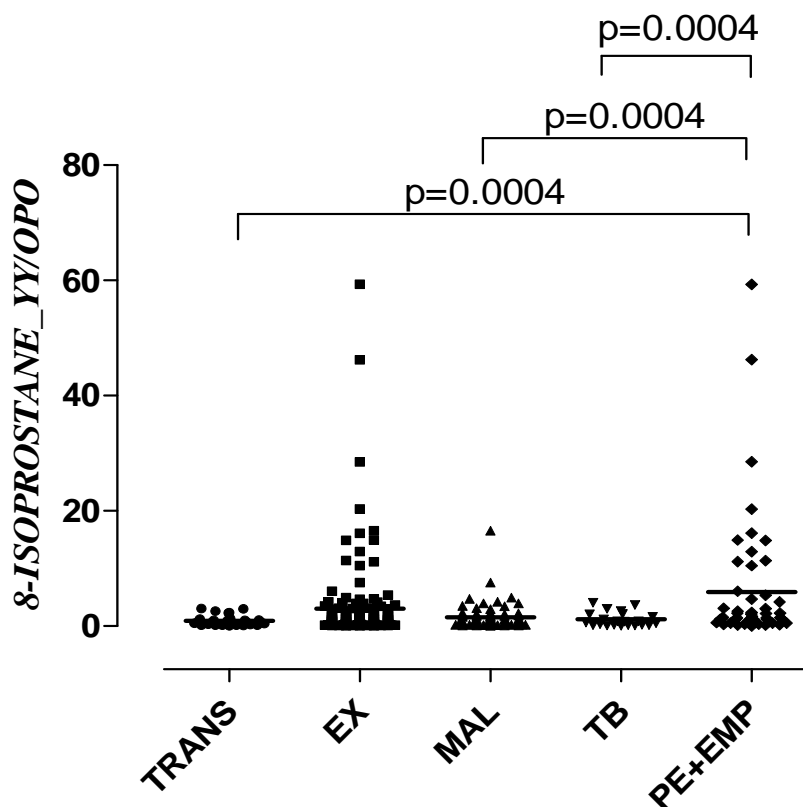
Διάγραμμα 1. Επίπεδα του 8-isoprostane στο υπεζωκοτικό υγρό ασθενών με διϊδρωματική (TRANS) και εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή (EX). MAL: Κακοήθεια TB: Φυματίωση, PE: Παραπνευμονική συλλογή, EMP: Εμπύημα. Κάθε σύμβολο απεικονίζει ένα δείγμα, ενώ η οριζόντια γραμμή απεικονίζει τη μέση τιμή.

Στον ορό, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των υποομάδων των εξιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών (Πίνακας 8, Διάγραμμα 2).



Διάγραμμα 2. Επίπεδα του 8-isoprostane στον ορό ασθενών με διϊδρωματική (TRANS) και εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή (EX). TB: Φυματίωση, MAL: Κακοήθεια, PE: Παραπνευμονική συλλογή, EMP: Εμπύημα. Κάθε σύμβολο απεικονίζει ένα δείγμα, ενώ η οριζόντια γραμμή απεικονίζει τη μέση τιμή.

Στο λόγο υπεζωκοτικό υγρό/ορό, σημαντικά αυξημένες τιμές του 8-isoprostane παρατηρήθηκαν στους ασθενείς με παραπνευμονική υπεζωκοτική συλλογή (1.42), σε σχέση με αυτές των ασθενών με κακοήγη υπεζωκοτική συλλογή (0.77, $p=0.0004$) και φυματιώδη πλευρίτιδα (0.69, $p=0.0004$), (Πίνακας 8, Διάγραμμα 3).



Διάγραμμα 3. Επίπεδα του 8-isoprostane στον ορό ασθενών με διϊδρωματική (TRANS) και εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή (EX). TB: Φυματίωση, MAL: Κακοήθεια, PE: Παραπνευμονική συλλογή, EMP: Εμπύημα. Κάθε σύμβολο απεικονίζει ένα δείγμα, ενώ η οριζόντια γραμμή απεικονίζει τη μέση τιμή.

► **Τα επίπεδα του 8-isoprostane στις παραπνευμονικές υπεζωκοτικές συλλογές**

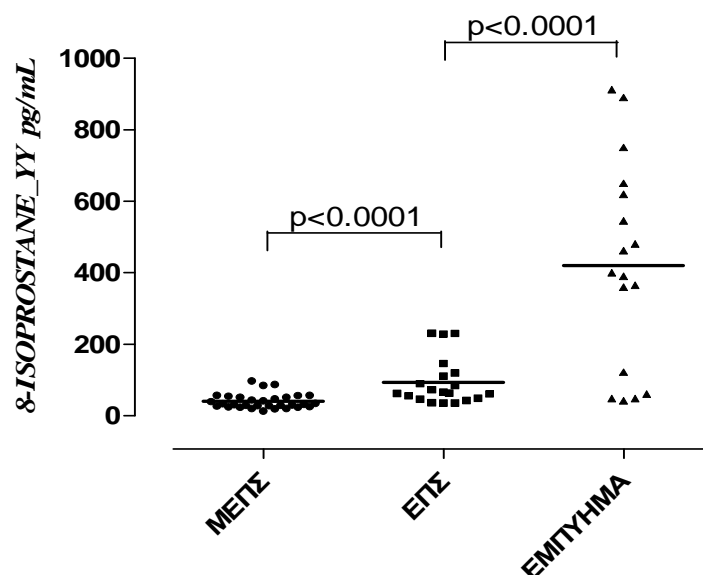
Τα επίπεδα του 8-isoprostane βρέθηκαν σημαντικά υψηλότερα στο υπεζωκοτικό υγρό των ασθενών με εμπύημα (420.2 ± 288.4 pg/mL) σε σχέση με αυτά των ασθενών με μη επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (32.32 pg/mL, $p < 0.0001$). Επίσης, σημαντικά αυξημένες βρέθηκαν οι τιμές του 8-isoprostane στο υπεζωκοτικό υγρό ασθενών με επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (65.00 pg/mL) σε σχέση με αυτές των ασθενών με μη επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (32.32 pg/mL, $p < 0.0001$) (Πίνακας 9, Διάγραμμα 4).

Στον ορό δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των υποομάδων των παραπνευμονικών υπεζωκοτικών συλλογών (Πίνακας 9, Διάγραμμα 5).

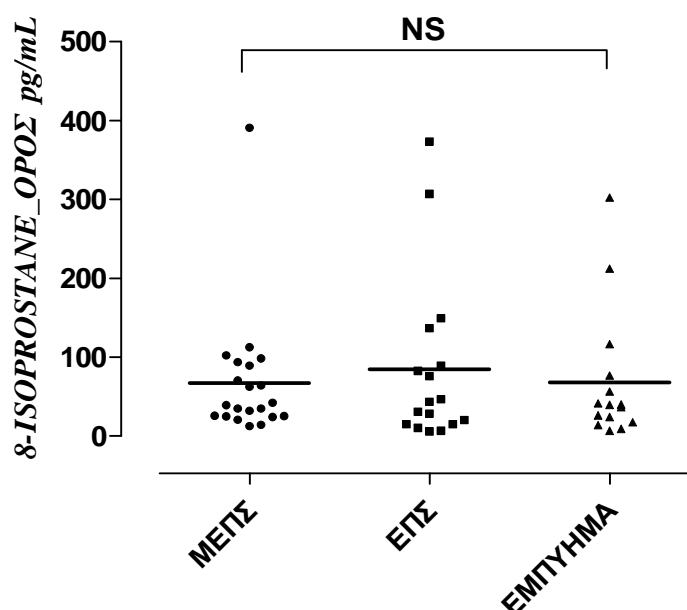
Στο λόγο υπεζωκοτικό υγρό/ορό, τα επίπεδα του 8-isoprostane βρέθηκαν υψηλότερα στους ασθενείς με εμπύημα (12.91) σε σχέση με αυτά των ασθενών με μη επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (1.0, $p < 0.0001$) και επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (2.14, $p < 0.0001$) (Πίνακας 9, Διάγραμμα 6).

		ΜΕΠΣ (n=31)	ΕΠΣ (n=20)	ΕΜΠΥΗΜΑ (n=17)
8-isoprostane (pg/mL)	ΥΥ	32.32 (25.67, 52.39)	65.00 (47.33, 117.7)	420.2 ± 288.4
	Ορός	39.18 (25.35, 91.63)	43.53 (15.10, 113.2)	39.66 (17.70, 76.85)
	ΥΥ/Ορ	1.0 (0.44, 1.38)	2.14 (0.55, 4.22)	12.91 (1.52, 20.34)

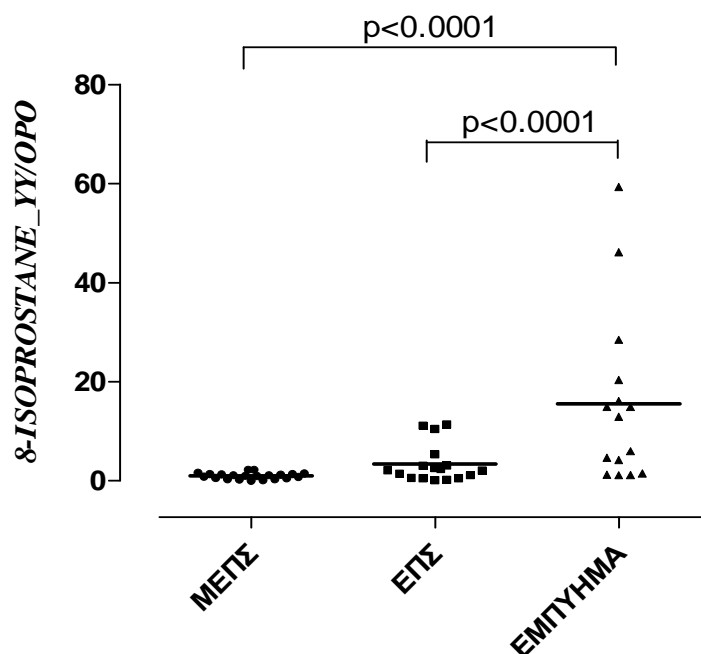
Πίνακας 9. Επίπεδα του 8-isoprostane στο υπεζωκοτικό υγρό και στον ορό των ασθενών με μη επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (ΜΕΠΣ), με επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (ΕΠΣ) και εμπύημα. Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή \pm σταθερά απόκλιση (SD) όταν η κατανομή είναι κανονική και ως διάμεση τιμή ($25^{\text{η}}$, $75^{\text{η}}$ εκατοστιαία τιμή) όταν η κατανομή δεν είναι κανονική. ΥΥ: Υπεζωκοτικό Υγρό, Ορ: Ορός.



Διάγραμμα 4. Επίπεδα του 8-isoprostane στο υπεζωκοτικό υγρό ασθενών με μη επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (ΜΕΠΣ), επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (ΕΠΣ) και εμπύημα. Κάθε σύμβολο απεικονίζει ένα δείγμα, ενώ η οριζόντια γραμμή απεικονίζει τη μέση τιμή.



Διάγραμμα 5. Επίπεδα του 8-isoprostane στον ορό ασθενών με μη επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (ΜΕΠΣ), επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (ΕΠΣ) και εμπύημα. Κάθε σύμβολο απεικονίζει ένα δείγμα, ενώ η οριζόντια γραμμή απεικονίζει τη μέση τιμή.



Διάγραμμα 6. Επίπεδα του 8-isoprostane στο λόγο υπεζωκοτικό υγρό/ορό ασθενών με μη επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (ΜΕΠΣ), επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (ΕΠΣ) και εμπύημα. Κάθε σύμβολο απεικονίζει ένα δείγμα, ενώ η οριζόντια γραμμή απεικονίζει τη μέση τιμή.

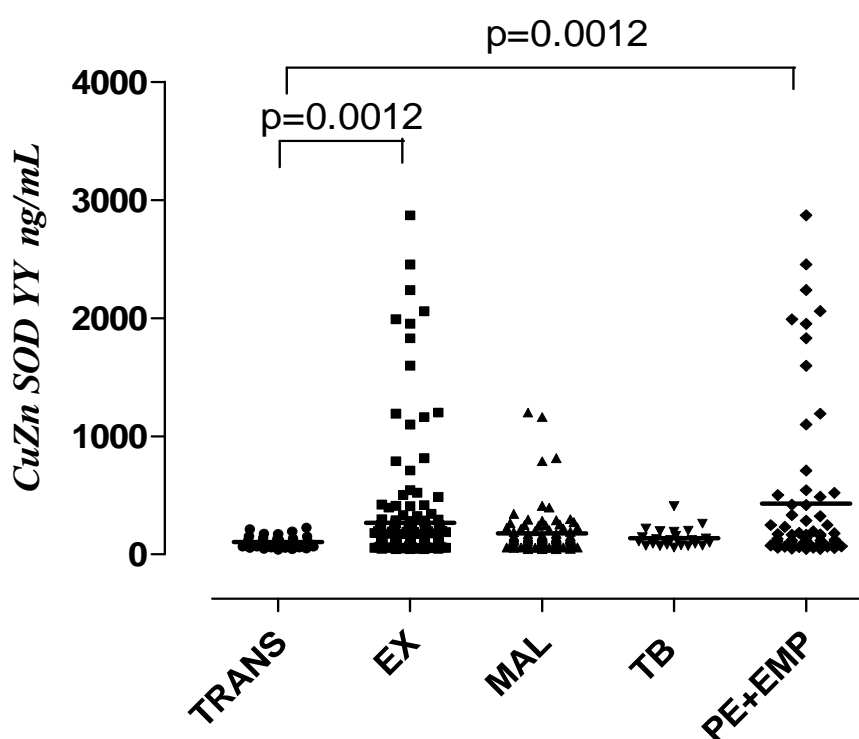
ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΚΗ ΔΙΣΜΟΥΤΑΣΗ ΧΑΛΚΟΥ/ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΥ (CuZnSOD)

Τα επίπεδα της CuZnSOD στο υπεζωκοτικό υγρό, στον ορό και στο λόγο υπεζωκοτικό υγρό/ορό των ασθενών με διϊδρωματική και εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή διαφορετικής αιτιολογίας παρουσιάζονται στον Πίνακα 10.

		Διϊδρωμα (n=34)	Εξιδρωμα (n=180)	Κακοήθεια (n=88)	Φυματίωση (n=24)	ΠΣ + ΕΜΠ (n=68)
CuZnSOD (ng/mL)	ΥΥ	83.40 (62.45, 135.5)	122.6 (80.05, 219.2)	125.3 (71.95, 201.1)	117.7 (77.55, 180.7)	126.5 (82.15, 395.3)
	Ορός	176.8 (97.0, 262.0)	129.8 (82.20, 221.9)	125.4 (82.60, 218.2)	140.6 (73.40, 229.6)	104.0 (69.40, 153.9)
	ΥΥ/Ορ	0.62 (0.36, 0.89)	1.03 (0.58, 2.13)	0.89 (0.53, 1.57)	0.98 (0.43, 1.64)	1.68 (0.81, 4.17)

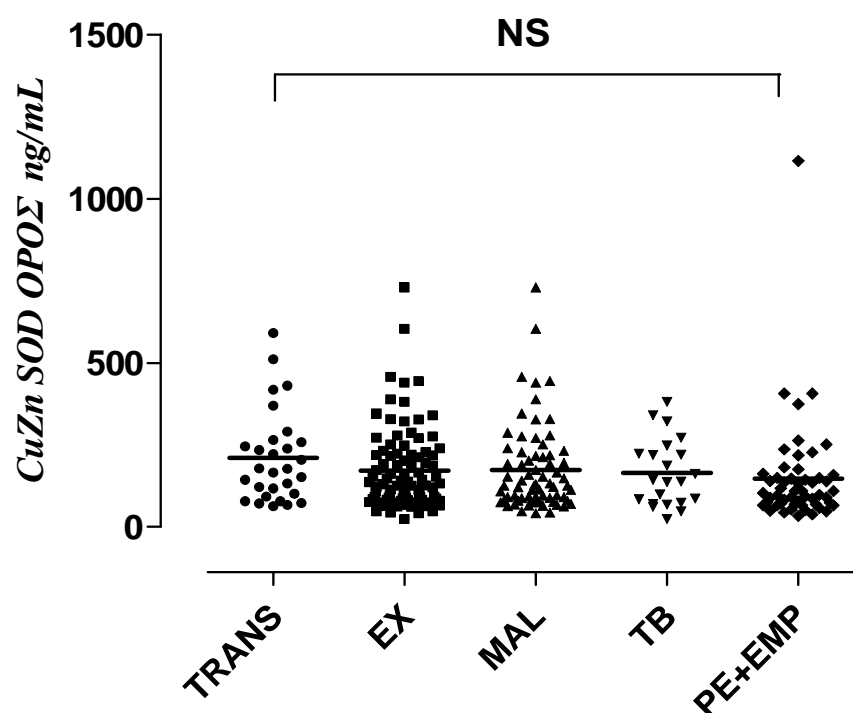
Πίνακας 10. Επίπεδα της CuZnSOD στο υπεζωκοτικό υγρό και στον ορό των ασθενών με διϊδρωματική ή εξιδρωματική συλλογή. Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως διάμεση τιμή (25^η, 75^η εκατοστιαία τιμή). ΥΥ: Υπεζωκοτικό Υγρό, Ορ: Ορός, ΠΣ: Παραπνευμονική συλλογή, ΕΜΠ: Εμπύημα.

Τα επίπεδα της CuZnSOD στο υπεζωκοτικό υγρό των ασθενών με εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή βρέθηκαν σημαντικά αυξημένα (122.6 ng/mL) συγκρινόμενα με αυτά της διϊδρωματικής υπεζωκοτικής συλλογής (83.40 ng/mL, $p=0.0012$), (Πίνακας 10, Διάγραμμα 5). Επίσης, σημαντικά αυξημένες βρέθηκαν οι τιμές της CuZnSOD στο υπεζωκοτικό υγρό των ασθενών με παραπνευμονική συλλογή (126.5 ng/mL) σε σχέση με αυτές των ασθενών με διϊδρωματική υπεζωκοτική συλλογή (83.40 ng/mL, $p=0.0012$), (Πίνακας 10, Διάγραμμα 5).



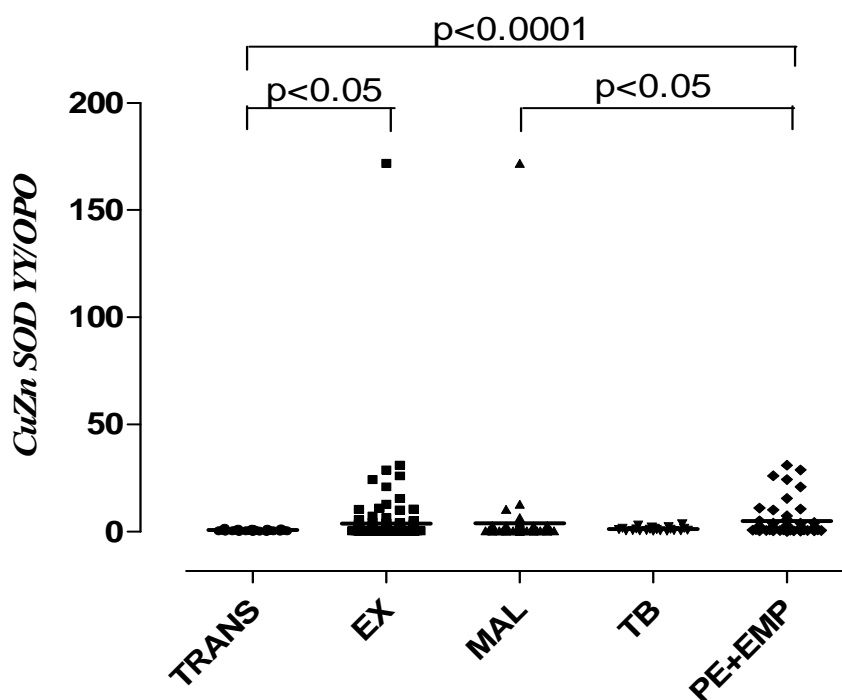
Διάγραμμα 5. Επίπεδα της CuZnSOD στο υπεζωκοτικό υγρό ασθενών με διϊδρωματική (TRANS) και εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή (EX). TB: Φυματίωση, MAL: Κακοήθεια, PE: Παραπνευμονική συλλογή, EMP: Εμπύημα.

Στον ορό, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των υποομάδων των εξιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών, (Πίνακας 10, Διάγραμμα 6).



Διάγραμμα 6. Επίπεδα της CuZnSOD στον ορό ασθενών με διϊδρωματική (TRANS) και εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή (EX). TB: Φυματίωση, MAL: Κακοήθεια, PE: Παραπνευμονική συλλογή, EMP: Εμπύημα.

Στο λόγο υπεζωκοτικό υγρό/ορό, τα επίπεδα της CuZnSOD στους ασθενείς με εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή βρέθηκαν σημαντικά αυξημένα (1.03) σε σχέση με αυτά της διϊδρωματικής υπεζωκοτικής συλλογής (0.62, $p<0.05$), (Πίνακας 10, Διάγραμμα 7). Επίσης, σημαντικά αυξημένες βρέθηκαν οι τιμές της CuZnSOD στους ασθενείς με παραπνευμονική συλλογή (1.68) σε σύγκριση με αυτές της διϊδρωματικής και της κακοήθους υπεζωκοτικής συλλογής (0.62 και 0.89, $p<0.0001$ και $p<0.05$, αντίστοιχα), (Πίνακας 10, Διάγραμμα 7).



Διάγραμμα 7. Επίπεδα της CuZnSOD στο λόγο υπεζωκοτικό υγρό/ορό ασθενών με διϊδρωματική (TRANS) και εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή (EX). TB: Φυματίωση, MAL: Κακοήθεια, PE: Παραπνευμονική συλλογή, EMP: Εμπύημα.

► **Τα επίπεδα της CuZnSOD στις παραπνευμονικές υπεζωκοτικές συλλογές**

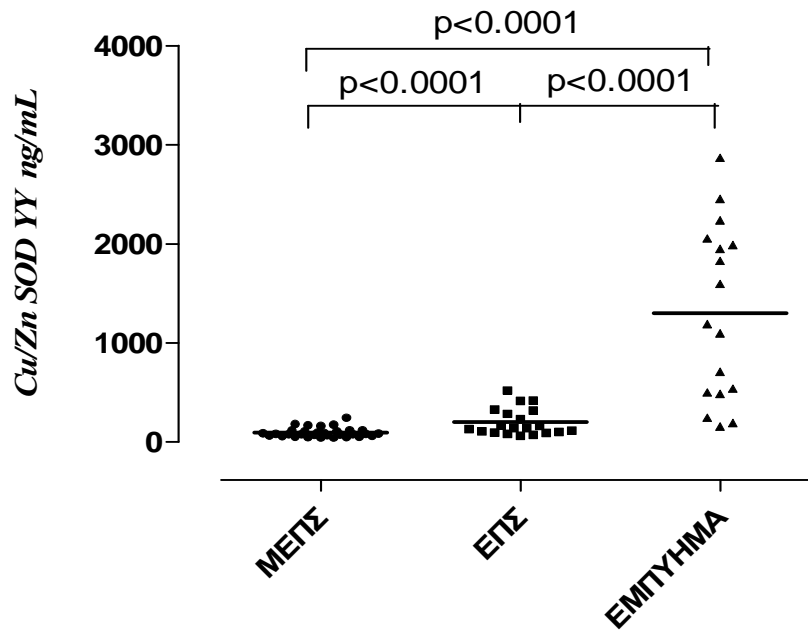
Στο υπεζωκοτικό υγρό σημαντικά αυξημένα βρέθηκαν τα επίπεδα της CuZnSOD στους ασθενείς με εμπύημα (1301 ± 881.2 ng/mL) σε σχέση με αυτά των ασθενών με επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (141.3 ng/mL, $p < 0.0001$) και μη επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (83.20 ng/mL, $p < 0.0001$), (Πίνακας 11, Διάγραμμα 7). Επίσης, σημαντικά αυξημένες βρέθηκαν οι τιμές της CuZnSOD στο υπεζωκοτικό υγρό ασθενών με επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (141.3 ng/mL) συγκριτικά με αυτές των ασθενών με μη επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (83.20 ng/mL, $p < 0.0001$), (Πίνακας 11, Διάγραμμα 7).

Στον ορό, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα της CuZnSOD μεταξύ των υποομάδων των παραπνευμονικών υπεζωκοτικών συλλογών (Πίνακας 11, Διάγραμμα 8).

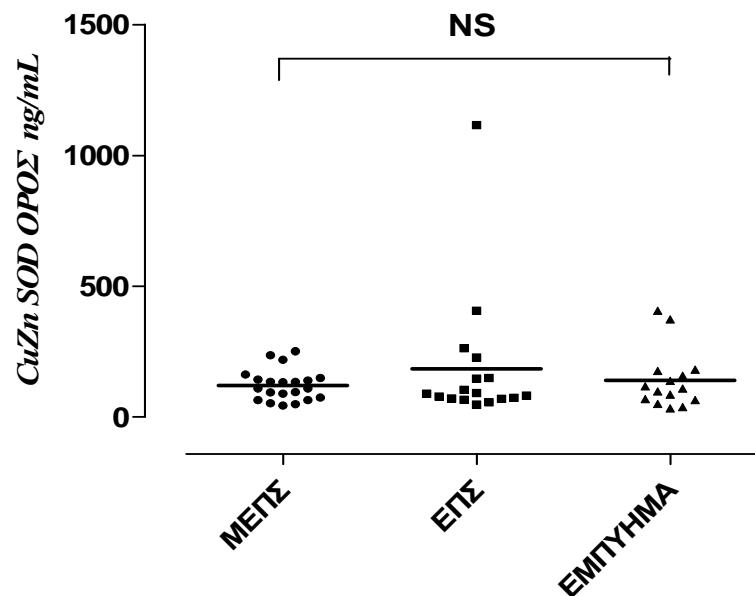
Στο λόγο υπεζωκοτικό υγρό/ορό, οι τιμές της CuZnSOD βρέθηκαν σημαντικά αυξημένες στους ασθενείς με εμπύημα (10.84) σε σχέση με αυτές των ασθενών με επιπλεγμένη (1.6, $p < 0.0001$) και μη επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (0.9, $p < 0.0001$), (Πίνακας 11, Διάγραμμα 9).

		ΜΕΠΣ (n=31)	ΕΠΣ (n=20)	ΕΜΠΥΗΜΑ (n=17)
CuZnSOD (ng/mL)	ΥΥ	83.20 (64.00, 118.6)	141.3 (98.95, 312.1)	1301 ± 881.2
	Ορός	110.2 (70.30, 146.5)	89.40 (70.50, 188.7)	109.2 (65.60, 176.6)
	ΥΥ/Ορ	0.9 (0.55, 1.63)	1.6 (0.78, 3.4)	10.84 (3.87, 24.7)

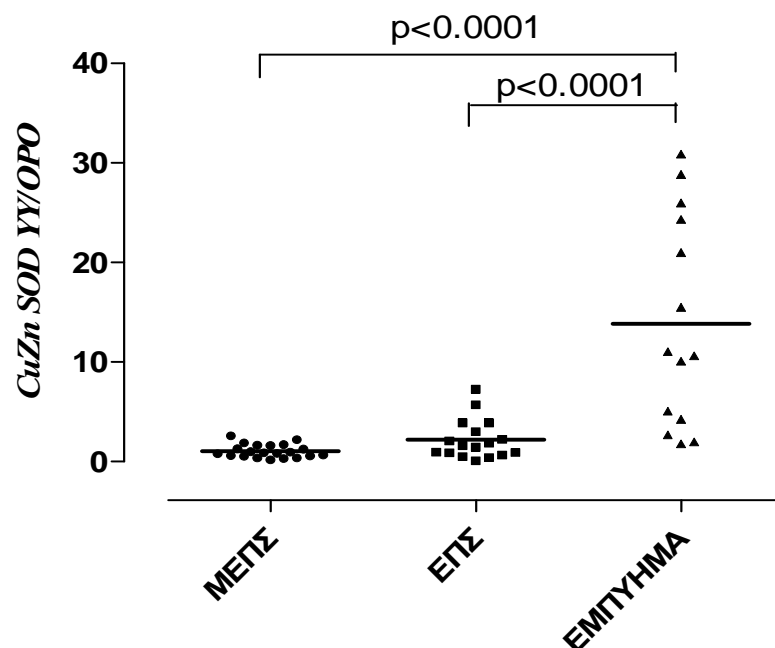
Πίνακας 11. Επίπεδα της CuZnSOD στο υπεζωκοτικό υγρό και στον ορό των ασθενών με μη επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (ΜΕΠΣ), με επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (ΕΠΣ) και εμπύημα. Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή \pm σταθερά απόκλιση (SD) όταν η κατανομή είναι κανονική και ως διάμεση τιμή ($25^{\text{η}}$, $75^{\text{η}}$ εκατοστιαία τιμή) όταν η κατανομή δεν είναι κανονική. ΥΥ: Υπεζωκοτικό Υγρό, Ορ: Ορός.



Διάγραμμα 7. Επίπεδα της CuZnSOD στο υπεζωκοτικό υγρό ασθενών με μη επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (ΜΕΠΣ), επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (ΕΠΣ) και εμπύημα.



Διάγραμμα 8. Επίπεδα της CuZnSOD στον ορό ασθενών με μη επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (ΜΕΠΣ), επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (ΕΠΣ) και εμπύημα.



Διάγραμμα 9. Επίπεδα της CuZnSOD στο λόγο υπεζωκοτικό υγρό/ορό ασθενών με μη επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (ΜΕΠΣ), επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (ΕΠΣ) και εμπύημα.

► **Το 8-isoprostane και η CuZnSOD στη διαφοροδιάγνωση μεταξύ μη επιπλεγμένων και συνδυασμού επιπλεγμένων παραπνευμονικών συλλογών με εμπύημα**

Η διαγνωστική ικανότητα του 8-isoprostane και της CuZnSOD του υπεζωκοτικού υγρού και του λόγου υπεζωκοτικό υγρό/ορό σύμφωνα με την ανάλυση ROC παρουσιάζεται στον πίνακα 14. Το 8-isoprostane στο υπεζωκοτικό υγρό παρουσιάζει βελτιωμένη διαγνωστική ικανότητα σε σχέση με το λόγο υπεζωκοτικό/ορό. Συγκεκριμένα, το 8-isoprostane και η CuZnSOD στο υπεζωκοτικό υγρό παρουσιάζουν την ίδια σχεδόν διαγνωστική ικανότητα. Χρησιμοποιώντας ως όριο την τιμή 57.6 pg/mL το 8-isoprostane παρουσίασε ευαισθησία 73.0% και ειδικότητα 90.3% στη διάκριση των επιπλεγμένων παραπνευμονικών συλλογών, ενώ η CuZnSOD παρουσίασε ευαισθησία 78.4% και ειδικότητα 83.9%, με όριο την τιμή 121.2 ng/mL.

► **Το 8-isoprostane και η CuZnSOD στη διαφοροδιάγνωση μεταξύ μη επιπλεγμένων και επιπλεγμένων παραπνευμονικών συλλογών**

Η διαγνωστική ικανότητα του 8-isoprostane και της CuZnSOD του υπεζωκοτικού υγρού και του λόγου υπεζωκοτικό υγρό/ορό σύμφωνα με την ανάλυση ROC, παρουσιάζεται στον πίνακα 14.

Οι συγκεντρώσεις του υπεζωκοτικού υγρού και στους δύο δείκτες βρέθηκαν να είναι πιο χρήσιμες σε σχέση με το λόγο υπεζωκοτικό/ορό. Συγκεκριμένα, το 8-isoprostane στο υπεζωκοτικό υγρό αποδείχτηκε ως το πιο αξιόπιστο test, καθώς με όριο την τιμή 35.1 pg/mL παρουσίασε ευαισθησία 100.0% και ειδικότητα 58.1% στη διάκριση των επιπλεγμένων από τις μη επιπλεγμένες παραπνευμονικές συλλογές.

	Optimal Cut-off point	Ευαισθησία (%)	Ειδικότητα (%)	AUC (95% CI)
Διαφοροδιάγνωση μεταξύ μη επιπλεγμένων και συνδυασμού επιπλεγμένων με εμπύημα				
PF 8-ISOPROSTANE	> 57.6 pg/mL	73.0	90.3	0.890 (0.791 - 0.953)
PF CuZnSOD	> 121.2 ng/mL	78.4	83.9	0.881 (0.780 - 0.947)
PF/S 8-ISOPROSTANE	> 2.24 pg/mL	59.4	100.0	0.811 (0.680 - 0.905)
PF/S CuZnSOD	> 1.72	71.0	85.7	0.813 (0.681 - 0.908)
Διαφοροδιάγνωση μεταξύ μη επιπλεγμένων και επιπλεγμένων				
PF 8-ISOPROSTANE	>35.1 pg/mL	100.0	58.1	0.848 (0.720 - 0.933)
PF CuZnSOD	>94 ng/mL	85.0	64.5	0.792 (0.655 - 0.893)
PF/S 8-ISOPROSTANE	>1.64	58.8	90.5	0.717 (0.548 – 0.851)
PF/S CuZnSOD	>1.72	47.1	85.7	0.674 (0.503 - 0.816)

Πίνακας 14. Διαγνωστική ικανότητα του 8-isoprostane και της CuZnSOD στη διάκριση των επιπλεγμένων από τις μη επιπλεγμένες παραπνευμονικές συλλογές. AUC: Area Under the Curve
CI: Διάστημα εμπιστοσύνης

7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Εκατομμύρια άνθρωποι κάθε χρόνο αναπτύσσουν υπεζωκοτικές συλλογές, ένα συχνό κλινικό πρόβλημα, το οποίο οφείλεται σε πολλές και ποικίλες αιτίες. Η διάγνωση όπως και η αντιμετώπιση των υπεζωκοτικών συλλογών αποτελεί μια κλινική πρόκληση με σημαντικό κόστος, τόσο για τους ασθενείς όσο και για το σύστημα υγείας[210]. Κατά τα τελευταία χρόνια, η βελτίωση μεθόδων στην ανακάλυψη και εντόπιση νόσων του υπεζωκότα, καθώς επίσης και η καλύτερη κατανόηση του μηχανισμού συλλογής υγρού στην υπεζωκοτική κοιλότητα έδωσαν τη δυνατότητα στους κλινικούς ιατρούς να καθορίζουν σε μεγάλο ποσοστό την αιτιολογική διάγνωση της υπεζωκοτικής συλλογής[211]. Στην καθημερινή κλινική πράξη, χρησιμοποιούνται διάφορες εργαστηριακές δοκιμασίες στο υπεζωκοτικό υγρό και στον ορό, οι οποίες περιλαμβάνουν τις ολικές πρωτεΐνες, την LDH, τη γλυκόζη, το pH και τον τύπο των κυττάρων[212]. Παρ' όλα αυτά ένα μεγάλο ποσοστό υπεζωκοτικών συλλογών παραμένει με αδιευκρίνιστη αιτιολογία[213]. Για το λόγο αυτό, τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει μεγάλες προσπάθειες να ερμηνευτεί η παρουσία ενός μεγάλου αριθμού βιοχημικών παραμέτρων στο υπεζωκοτικό υγρό, καθώς και οι μεταβολές τους, ανάλογα με την αιτία που προκάλεσε την υπεζωκοτική συλλογή.

Στην παρούσα μελέτη, προσδιορίστηκαν τα επίπεδα του 8-isoprostane και της CuZnSOD στο υπεζωκοτικό υγρό και στον ορό ασθενών με υπεζωκοτική συλλογή, με σκοπό να εκτιμηθεί ο ρόλος τους στη διαφοροδιάγνωση των υπεζωκοτικών συλλογών. Επιπλέον μελετήθηκε η χρησιμότητα αυτών των δεικτών στη διάκριση μεταξύ επιπλεγμένων και μη επιπλεγμένων παραπνευμονικών συλλογών σε μια προσπάθεια να διευκρινιστεί ο ρόλος τους στην ανάπτυξη των υπεζωκοτικών συλλογών και στην κλιμάκωση της φλεγμονής, ώστε να παρέχουμε επιπλέον βοήθεια στην καθημερινή κλινική πράξη.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, στους ασθενείς με εξιδρωματική συλλογή, και συγκεκριμένα με παραπνευμονική υπεζωκοτική συλλογή, οι τιμές του 8-isoprostane και της CuZnSOD βρέθηκαν υψηλότερες στο υπεζωκοτικό υγρό σε σχέση με εκείνες του ορού, πιθανότατα ως αποτέλεσμα τοπικής παραγωγής από τα κύτταρα της υπεζωκοτικής κοιλότητας. Μεταξύ των εξιδρωματικών συλλογών, οι τιμές του 8-isoprostane στο υπεζωκοτικό υγρό

βρέθηκαν σημαντικά αυξημένες στις παραπνευμονικές συλλογές σε σχέση με τις φυματιώδεις και τις κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές, ενώ οι τιμές της CuZnSOD βρέθηκαν υψηλές στις παραπνευμονικές συλλογές σε σχέση με τις φυματιώδεις και τις κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές. Επιπλέον, τα επίπεδα και των δύο δεικτών στο υπεζωκοτικό υγρό βρέθηκαν σημαντικά υψηλά στις επιπλεγμένες παραπνευμονικές συλλογές και τα εμπυήματα συγκρινόμενα με τις μη επιπλεγμένες παραπνευμονικές συλλογές, υποδηλώνοντας με τον τρόπο αυτό το αυξημένο τοπικά οξειδωτικό φορτίο.

Σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, παρουσία υπεζωκοτικής λοίμωξης (εμπύημα ή επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή) παρατηρείται αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας και απελευθέρωση φλεγμονωδών μεσολαβητών τοπικά, όπως χημειοκινών και κυττοκινών, που διαχέονται στην υπεζωκοτική κοιλότητα, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση δομικών κυττάρων, όπως τα μεσοθηλιακά κύτταρα[214, 215]. Η απευθείας μετανάστευση των κυκλοφορούντων φλεγμονωδών κυττάρων στην υπεζωκοτική κοιλότητα προκαλεί αύξηση του αριθμού των κυττάρων τοπικά. Οι επιπλεγμένες παραπνευμονικές συλλογές και τα εμπυήματα είναι τυπικά εξιδρώματα και έχουν αυξημένο αριθμό φλεγμονωδών κυττάρων, κυρίως ουδετερόφιλων, τα οποία φαίνεται πως αποτελούν την κύρια πηγή οξειδωτικού stress στις υπεζωκοτικές λοιμώξεις[209]. Σχετικά με τα νοσήματα που περιλαμβάνονται στην παρούσα μελέτη, η βιβλιογραφία είναι περιορισμένη σε ό,τι αφορά την τοπική παραγωγή οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών παραγόντων. Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα παρουσίασαν αυξημένα επίπεδα 8-isoprostane. Επιπλέον, η CuZnSOD έχει βρεθεί ότι κατέχει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της αγγειογένεσης[143], ενώ αυξημένες συγκεντρώσεις 8-isoprostane στο συμπίκνωμα του εκπνεόμενου αέρα έχουν συσχετισθεί με τις πνευμονικές λοιμώξεις[216, 217]. Τέλος, τα μεσοθηλιακά κύτταρα φαίνεται πως είναι υπεύθυνα για την απελευθέρωση των οξειδωτικών στις υπεζωκοτικές λοιμώξεις[218].

Σε αντίθεση με την εύκολη αναγνώριση του εμπυήματος, η οποία στηρίζεται στην παρουσία πύου στην υπεζωκοτική κοιλότητα των ασθενών, η διάκριση των επιπλεγμένων από τις μη επιπλεγμένες παραπνευμονικές συλλογές απαιτεί τον προσδιορισμό των κλασσικών βιοχημικών παραμέτρων του

υπεζωκοτικού υγρού, καθώς επίσης και του pH που αποτελεί τον πιο χρήσιμο δείκτη υπόδειξης της ανάγκης για άμεση παροχέτευση του υγρού σε αυτές τις συνθήκες[219]. Σύμφωνα λοιπόν με τα παραπάνω, η μη επιπλεγμένη υπεζωκοτική συλλογή χαρακτηρίζεται από $\text{pH} > 7.20$, $\text{LDH} < 1000 \text{ IU/L}$ και $\text{γλυκόζη} > 2.2 \text{ mmol/L}$ στο υπεζωκοτικό υγρό, ενώ οι αντίστοιχες τιμές στην επιπλεγμένη συλλογή είναι $\text{pH} < 7.20$, $\text{LDH} > 1000 \text{ IU/L}$ και $\text{γλυκόζη} < 2.2 \text{ mmol/L}$ [19, 21]. Οι ασθενείς με υπεζωκοτική λοίμωξη αντιμετωπίζονται με παροχέτευση του υπεζωκοτικού υγρού, ενώ η χορήγηση αντιβιοτικών επαρκεί για τη θεραπεία των ασθενών με μη επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή. Επομένως, το χαμηλό pH (< 7.20), τα χαμηλά επίπεδα γλυκόζης ($< 2.2 \text{ mmol/L}$) και η υψηλή LDH ($> 1000 \text{ IU/L}$) του υπεζωκοτικού υγρού, υποδηλώνουν την ανάγκη για άμεση παροχέτευση του υγρού[220].

Σχετική μελέτη έδειξε ότι η παρουσία χαμηλού pH υπεζωκοτικού υγρού (< 7.2) ή χαμηλής γλυκόζης ($< 60 \text{ mg/mL}$) συχνά συσχετίζεται με ανεπαρκή πρόγνωση κι επομένως απαιτούνται πιο αποτελεσματικοί θεραπευτικοί τρόποι. Οι *Heffner et al.* δήλωσαν ότι το pH του υπεζωκοτικού υγρού ($\text{AUC} = 0.89$) μπορεί να ταυτοποιήσει καλύτερα τις επιπλεγμένες παραπνευμονικές συλλογές σε σχέση με τη γλυκόζη ή την LDH ($\text{AUC} = 0.71$). Οι *Porcel et al.*[221] βρήκαν αλληλοεπικάλυψη ανάμεσα στις τιμές AUC για το pH ($\text{AUC} = 0.78$), τη γλυκόζη ($\text{AUC} = 0.82$), και την LDH ($\text{AUC} = 0.86$), με την τελευταία να παρουσιάζει καλύτερη ακρίβεια, κυρίως λόγω της μεγαλύτερης ευαισθησίας. Σύμφωνα με τη μελέτη αυτή, το 55% των ασθενών με παραπνευμονική συλλογή, στους οποίους η συλλογή είχε παροχετευθεί, παρουσίασαν pH υπεζωκοτικού υγρού μεγαλύτερο από 7.20 και γλυκόζη υψηλότερη από 2.2 mmol/L.

Εξαιτίας της χαμηλής ευαισθησίας των καθιερωμένων εργαστηριακών εξετάσεων (pH, γλυκόζη, LDH), σήμερα οι έρευνες έχουν στραφεί στη μελέτη νέων δεικτών, οι οποίοι θα μπορούσαν να διακρίνουν τις επιπλεγμένες από τις μη επιπλεγμένες παραπνευμονικές συλλογές. Σύμφωνα με μελέτες[222, 223], τα επίπεδα του TNF-α βρέθηκαν υψηλότερα στους ασθενείς με εμπύημα ή επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή σε σχέση με εκείνους που είχαν μη επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή. Οι *Porcel et al.*[221] ισχυρίζονται ότι ο TNF-α αποτελεί δείκτη φλεγμονής σε ασθενείς με υπεζωκοτική λοίμωξη, καθώς η

διαγνωστική του αξία στη διάκριση των επιλεγμένων από τις μη επιπλεγμένες παραπνευμονικές συλλογές ανταγωνίζεται εκείνη του pH και της γλυκόζης, ενώ ο συνδυασμός των συγκεντρώσεων του TNF-α και της LDH αυξάνουν ακόμη περισσότερο την ευαισθησία του. Επίσης, σχετική μελέτη έδειξε ότι οι παραπνευμονικές συλλογές χαρακτηρίζονται από υψηλά επίπεδα MPO. Συγκεκριμένα, οι *Alegre et al.*[224] ισχυρίζονται ότι η MPO του υπεζωκοτικού υγρού με όριο την τιμή 3.000 μg/L βρέθηκε να είναι ο δείκτης που διακρίνει καλύτερα τις επιπλεγμένες από τις μη επιπλεγμένες παραπνευμονικές συλλογές (ευαισθησία 87.5%, ειδικότητα 85.1%, AUC=0.91). Οι *Chen et al.*[225] παρατήρησαν ότι η CRP του υπεζωκοτικού υγρού χρησιμοποιώντας ως όριο την τιμή >8.7mg/dL έχει μεγάλη ακρίβεια (AUC=0.94) στο να συμβάλλει στην απόφαση των κλινικών ιατρών για άμεση παροχέτευση του υγρού σε ασθενείς με επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή.

Στη συνέχεια εξετάσαμε αν τα επίπεδα των δεικτών μας μπορούν να διαχωρίσουν τις μη επιπλεγμένες από τις επιπλεγμένες παραπνευμονικές συλλογές. Με βάση τη ROC ανάλυση δείξαμε ότι οι συγκεντρώσεις του υπεζωκοτικού υγρού στο 8-isoprostane και τη CuZnSOD βρέθηκαν να είναι πιο χρήσιμες σε σχέση με το λόγο υπεζωκοτικό/ορό. Συγκεκριμένα, το 8-isoprostane στο υπεζωκοτικό υγρό αποδείχτηκε ως το πιο αξιόπιστο test, καθώς με όριο την τιμή 35.1 pg/mL μπορεί να διαχωρίσει τους δύο τύπους παραπνευμονικών συλλογών με ευαισθησία 100.0% και ειδικότητα 58.1% (AUC=0.848).

Τα αυξημένα επίπεδα 8-isoprostane και CuZnSOD του υπεζωκοτικού υγρού είναι ενδεικτικά υπεζωκοτικής λοίμωξης σε ασθενείς με παραπνευμονική υπεζωκοτική συλλογή. Το 8-isoprostane του υπεζωκοτικού υγρού μπορεί να διαχωρίσει με ικανοποιητική ευαισθησία και ειδικότητα τις επιπλεγμένες από τις μη επιπλεγμένες παραπνευμονικές συλλογές. Ωστόσο αν και η μέθοδος προσδιορισμού είναι μη επεμβατική, η εφαρμογή της έχει υψηλό κόστος και απαιτεί εξειδικευμένο προσωπικό.

8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στη παρούσα εργασία φαίνεται πως ο συνδυασμός των δεικτών που μελετήθηκαν, με την κλινική εικόνα και τις συνήθεις εργαστηριακές δοκιμασίες για τις υπεζωκοτικές συλλογές, ίσως συμβάλλει στη διάκριση των επιπλεγμένων από τις μη επιπλεγμένες παραπνευμονικές συλλογές.

Συγκεκριμένα, από τα αποτελέσματα της μελέτης μπορούμε να εξάγουμε τα παρακάτω συμπεράσματα:

1. Αυξημένα επίπεδα 8-isoprostane και CuZnSOD παρατηρήθηκαν στις παραπνευμονικές συλλογές και τα εμπυήματα σε σχέση με τις λεμφοκυτταρικές υπεζωκοτικές συλλογές (κακοήθεις και φυματιώδεις υπεζωκοτικές συλλογές).

2. Αυξημένα επίπεδα 8-isoprostane και CuZnSOD παρατηρήθηκαν κατά την κλιμάκωση της φλεγμονής στο υπεζωκοτικό υγρό ασθενών με παραπνευμονική συλλογή.

3. Επίπεδα του 8-isoprostane στο υπεζωκοτικό υγρό μεγαλύτερα από 35.1 pg/mL, είναι χρήσιμα στη διάκριση των επιπλεγμένων από τις μη επιπλεγμένες παραπνευμονικές συλλογές.

4. Ο προσδιορισμός του 8-isoprostane και της CuZnSOD εκτελείται απλά και χωρίς να επιβαρύνει τον ασθενή. Ωστόσο σημαντικό μειονέκτημα είναι το υψηλό κόστος του προσδιορισμού τους.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός: Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν ο προσδιορισμός του 8-ισοπροστανίου (8-isoprostane) και της υπεροξειδικής δισμουτάσης χαλκού/ψευδαργύρου (CuZnSOD), στο υπεζωκοτικό υγρό και στον ορό ασθενών με εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή, ώστε να εκτιμηθεί ο ρόλος τους στη παθογένεση των υπεζωκοτικών συλλογών και η χρησιμότητά τους στη διάκριση των επιπλεγμένων από τις μη επιπλεγμένες παραπνευμονικές συλλογές.

Υλικό & Μέθοδος: Μελετήθηκαν 214 ασθενείς που νοσηλεύτηκαν στην Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας, οι συλλογές των οποίων ταξινομήθηκαν στις ακόλουθες ομάδες σύμφωνα με τη τελική διάγνωση. Κακοήθεια (n=88), φυματιώδης πλευρίτιδα (n=24), μη επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (ΜΕΠΣ) (n=31), επιπλεγμένη παραπνευμονική συλλογή (ΕΠΣ) (n=20), εμπύημα (n=17) και συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια (Διίδρωμα) (n=34). Το 8-ισοπροστανίο (8-isoprostane) και η Υπεροξειδική δισμουτάση χαλκού/ψευδαργύρου (CuZnSOD) προσδιορίστηκαν με την χρήση της ανοσοπροσροφητικής ανάλυσης στερεάς φάσεως με σύνδεση ενζύμου (ELISA).

Αποτελέσματα: Τα επίπεδα του 8-ισοπροστανίου στο υπεζωκοτικό υγρό των ασθενών με παραπνευμονική υπεζωκοτική συλλογή βρέθηκαν σημαντικά αυξημένα (55.71 pg/mL) συγκρινόμενα με αυτά της κακοήθους υπεζωκοτικής συλλογής (25.10 pg/mL, $p<0.0001$) και της φυματιώδους πλευρίτιδας (25.13 pg/mL, $p<0.0001$), ενώ στον ορό δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των υποομάδων των εξιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών. Ομοίως, στο λόγο υπεζωκοτικό υγρό/ορό, σημαντικά αυξημένες τιμές 8-ισοπροστανίου παρατηρήθηκαν στους ασθενείς με παραπνευμονική υπεζωκοτική συλλογή (1.42 pg/mL), σε σχέση με αυτές των ασθενών με κακοήθη υπεζωκοτική συλλογή (0.77 pg/mL, $p=0.0004$) και φυματιώδη πλευρίτιδα (0.69 pg/mL, $p=0.0004$). Η συγκέντρωση της CuZnSOD στο υπεζωκοτικό υγρό των ασθενών με παραπνευμονική συλλογή (126.5 ng/mL) βρέθηκε σημαντικά υψηλή συγκρινόμενη με εκείνη των ασθενών με διιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή (83.40 ng/mL, $p=0.0012$), ενώ στον ορό, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των υποομάδων των εξιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών. Στο λόγο υπεζωκοτικό υγρό/ορό, οι τιμές της CuZnSOD βρέθηκαν σημαντικά αυξημένες στους ασθενείς με παραπνευμονική συλλογή (1.68) σε σχέση με εκείνες της

διϊδρωματικής και της κακοήθους υπεζωκοτικής συλλογής (0.62 και 0.89, $p < 0.0001$ και $p < 0.05$, αντίστοιχα). Επιπλέον, το 8-isoprostane βρέθηκε σημαντικά υψηλό στο υπεζωκοτικό υγρό των ασθενών με εμπύημα (420.2 ± 288.4 pg/mL) συγκρινόμενο με εκείνο των ασθενών με ΜΕΠΣ (32.32 pg/mL, $p < 0.0001$). Επίσης, η συγκέντρωση του 8-isoprostane βρέθηκε σημαντικά υψηλή στο υπεζωκοτικό υγρό ασθενών με ΕΠΣ (65.00 pg/mL) σε σχέση με εκείνη των ασθενών με ΜΕΠΣ (32.32 pg/mL, $p < 0.0001$). Οι τιμές της CuZnSOD στο υπεζωκοτικό υγρό βρέθηκαν σημαντικά αυξημένες στους ασθενείς με εμπύημα (1301 ± 881.2 ng/mL) συγκρινόμενες με εκείνες των ασθενών με ΕΠΣ (141.3 ng/mL, $p < 0.0001$) και ΜΕΠΣ (83.20 ng/mL, $p < 0.0001$). Επίσης, σημαντικά αυξημένες βρέθηκαν οι συγκεντρώσεις της CuZnSOD στο υπεζωκοτικό υγρό ασθενών με ΕΠΣ (141.3 ng/mL) συγκριτικά με αυτές των ασθενών με ΜΕΠΣ (83.20 ng/mL, $p < 0.0001$). Σε ότι αφορά το λόγο υπεζωκοτικό υγρό/ορό, τα επίπεδα του 8-isoprostane και της CuZnSOD βρέθηκαν υψηλότερα στους ασθενείς με εμπύημα (12.91 και 10.84, αντίστοιχα) σε σχέση με αυτά των ασθενών με ΜΕΠΣ (1.0 και 1.6, $p < 0.0001$ και $p < 0.0001$, αντίστοιχα) και ΕΠΣ (2.14 και 0.9, $p < 0.0001$ και $p < 0.0001$, αντίστοιχα). Εξετάζοντας την ικανότητά τους να διακρίνουν τις επιπλεγμένες από τις μη επιπλεγμένες παραπνευμονικές συλλογές στο υπεζωκοτικό υγρό, το 8-isoprostane με όριο την τιμή 35.1 pg/mL, παρουσίασε ευαισθησία 100.0% και ειδικότητα 58.1% (AUC=0.848).

Συμπεράσματα: Αυξημένα επίπεδα 8-isoprostane και CuZnSOD παρατηρήθηκαν στις παραπνευμονικές συλλογές και τα εμπυήματα σε σχέση με τις κακοήθεις και τις φυματιώδεις υπεζωκοτικές συλλογές. Ο προσδιορισμός των παραπάνω δεικτών πιθανόν μπορεί να βοηθήσει στην διάκριση των επιπλεγμένων από τις μη επιπλεγμένες παραπνευμονικές συλλογές, καθώς επίπεδα του 8-isoprostane στο υπεζωκοτικό υγρό μεγαλύτερα από 35.1 pg/mL διακρίνουν με σημαντικά αυξημένη ευαισθησία και ειδικότητα τις δύο αυτές ομάδες ασθενών.

ABSTRACT

Study objectives: The assessment of 8-isoprostane and Copper/Zinc Superoxide Dismutase (CuZnSOD) in pleural fluid and serum of patients with exudative pleural effusion in order to examine their role in the pathogenesis of pleural effusions and their diagnostic value in the differentiation between complicated and uncomplicated parapneumonic effusions.

Materials and methods: We studied 214 consecutive patients with pleural effusions were admitted in the Respiratory Department of the University Hospital of Larissa. The effusions were classified as malignant (n=88), tuberculous (n=24), uncomplicated parapneumonic effusions (UPPE) (n=31), complicated parapneumonic effusions (CPPE) (n=20), empyema (n=17), and congestive heart failure (Transudates) (n=34). 8-isoprostane and CuZnSOD levels were measured with enzyme-linked immunoabsorbent assays (ELISA).

Results: Pleural fluid 8-isoprostane levels were significantly higher in patients with parapneumonic pleural effusion (55.71 pg/mL) compared to those with malignant (25.10 pg/mL, $p<0.0001$) and tuberculous pleural effusion (25.13 pg/mL, $p<0.0001$). Interestingly, pleural fluid to serum 8-isoprostane was significantly higher in patients with parapneumonic pleural effusion (1.42), compared to those with malignant (0.77, $p=0.0004$) and tuberculous pleural effusion (0.69, $p=0.0004$). The concentration of CuZnSOD in the pleural fluid was significantly higher in patients with parapneumonic pleural effusion (126.5 ng/mL) compared to those with transudative pleural effusion (83.40 ng/mL, $p=0.0012$), while pleural fluid to serum CuZnSOD was significantly higher in patients with parapneumonic pleural effusion (1.68) compared to those with transudative and malignant pleural effusion (0.62 and 0.89, $p<0.0001$ and $p<0.05$, respectively). In addition, 8-isoprostane levels were found significantly higher in the pleural fluid of patients with empyema (420.2 ± 288.4 pg/mL) compared to those with CPPE (32.32 pg/mL, $p<0.0001$). The concentration of 8-isoprostane in the pleural fluid was significantly higher in patients with CPPE (65.00 pg/mL) compared to those with UPPE (32.32 pg/mL, $p<0.0001$). Additionally, the concentration of CuZnSOD in the pleural fluid was significantly higher in patients with empyema (1301 ± 881.2 ng/mL) compared to those with UPPE (83.20 ng/mL, $p<0.0001$) and CPPE (141.3 ng/mL, $p<0.0001$). Additionally, pleural fluid CuZnSOD was significantly higher in patients with CPPE

(141.3 ng/mL) compared to those with UPPE (83.20 ng/mL, $p<0.0001$). Comparable findings were observed for the pleural fluid to serum ratio. Specifically, 8-isoprostane and CuZnSOD concentrations were significantly higher in patients with empyema (12.91 and 10.84, respectively) compared to UPPE (1.0 and 1.6, $p<0.0001$ and $p<0.0001$, respectively) and CPPE (2.14 and 0.9, $p<0.0001$ and $p<0.0001$, respectively). Pleural fluid 8-isoprostane was the best marker to differentiate between complicated and uncomplicated parapneumonic effusions, with a sensitivity of 100.0% and a specificity of 58.1% at a cut-off point of 35.1 (AUC=0.848).

Conclusions: Pleural fluid 8-isoprostane and CuZnSOD levels were higher in parapneumonic pleural effusions and empyemas than in malignant and tuberculous pleural effusions. High levels of pleural fluid 8-isoprostane might be used as marker for the differential diagnosis of complicated parapneumonic effusions. The levels of pleural 8-isoprostane >35.1 pg/mL represent a good marker for the differentiation between complicated and uncomplicated parapneumonic pleural effusions.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Jones JS: **The pleura in health and disease.** *Lung* 2001, **179**:397-413.
2. Antony VB: **Immunological mechanisms in pleural disease.** *Eur Respir J* 2003, **21**:539-544.
3. Lai-Fook SJ: **Pleural mechanics and fluid exchange.** *Physiol Rev* 2004, **84**:385-410.
4. Wang NS: **Anatomy of the pleura.** *Clin Chest Med* 1998, **19**:229-240.
5. Lai-Fook SJ, Kaplowitz MR: **Pleural space thickness in situ by light microscopy in five mammalian species.** *J Appl Physiol* 1985, **59**:603-610.
6. Wang NS: **The preformed stomas connecting the pleural cavity and the lymphatics in the parietal pleura.** *Am Rev Respir Dis* 1975, **111**:12-20.
7. Noppen M, De Waele M, Li R, Gucht KV, D'Haese J, Gerlo E, Vincken W: **Volume and cellular content of normal pleural fluid in humans examined by pleural lavage.** *Am J Respir Crit Care Med* 2000, **162**:1023-1026.
8. Davies CW, Gleeson FV, Davies RJ: **BTS guidelines for the management of pleural infection.** *Thorax* 2003, **58 Suppl 2**:ii18-28.
9. Zocchi L: **Physiology and pathophysiology of pleural fluid turnover.** *Eur Respir J* 2002, **20**:1545-1558.
10. Sahn SA: **State of the art. The pleura.** *Am Rev Respir Dis* 1988, **138**:184-234.
11. Tarn AC, Lapworth R: **Biochemical analysis of pleural fluid: what should we measure?** *Ann Clin Biochem* 2001, **38**:311-322.
12. Rahman NM, Chapman SJ, Davies RJ: **Pleural effusion: a structured approach to care.** *Br Med Bull* 2004, **72**:31-47.
13. Light RW: **Pleural diseases.** *Curr Opin Pulm Med* 2003, **9**:251-253.
14. Marel M, Zrustova M, Stasny B, Light RW: **The incidence of pleural effusion in a well-defined region. Epidemiologic study in central Bohemia.** *Chest* 1993, **104**:1486-1489.
15. Diaz-Guzman E, Dweik RA: **Diagnosis and management of pleural effusions: a practical approach.** *Compr Ther* 2007, **33**:237-246.
16. Mitrouska I, Bouros D: **The trans-exudative pleural effusion.** *Chest* 2002, **122**:1503-1505.
17. Roth BJ, O'Meara TF, Cragun WH: **The serum-effusion albumin gradient in the evaluation of pleural effusions.** *Chest* 1990, **98**:546-549.

18. Cohen M, Sahn SA: **Resolution of pleural effusions.** *Chest* 2001, **119**:1547-1562.
19. Odeh M, Makhoul B, Sabo E, Srujo I, Oliven A: **The role of pleural fluid-serum gradient of tumor necrosis factor-alpha concentration in discrimination between complicated and uncomplicated parapneumonic effusion.** *Lung* 2005, **183**:13-27.
20. Ferrer J, Roldan J: **Clinical management of the patient with pleural effusion.** *Eur J Radiol* 2000, **34**:76-86.
21. Chapman SJ, Davies RJ: **The management of pleural space infections.** *Respirology* 2004, **9**:4-11.
22. Ozol D, Oktem S, Erdinc E: **Complicated parapneumonic effusion and empyema thoracis: microbiologic and therapeutic aspects.** *Respir Med* 2006, **100**:286-291.
23. Sasse S, Nguyen TK, Mulligan M, Wang NS, Mahutte CK, Light RW: **The effects of early chest tube placement on empyema resolution.** *Chest* 1997, **111**:1679-1683.
24. Collice M, D'Aliberti G, Arena O, Solaini C, Fontana RA, Talamonti G: **Surgical treatment of intracranial dural arteriovenous fistulae: role of venous drainage.** *Neurosurgery* 2000, **47**:56-66; discussion 66-57.
25. Sudre P, ten Dam G, Kochi A: **Tuberculosis: a global overview of the situation today.** *Bull World Health Organ* 1992, **70**:149-159.
26. Rieder HL, Snider DE, Jr., Cauthen GM: **Extrapulmonary tuberculosis in the United States.** *Am Rev Respir Dis* 1990, **141**:347-351.
27. Vidal R, de Gracia J, Ruiz J, Fite E, Monso E, Martin N: **[Controlled study of 637 patients with tuberculosis. Diagnosis and therapeutic results with 9- and 6-month regimens].** *Med Clin (Barc)* 1986, **87**:368-370.
28. Ferrer J: **Pleural tuberculosis.** *Eur Respir J* 1997, **10**:942-947.
29. Seibert AF, Haynes J, Jr., Middleton R, Bass JB, Jr.: **Tuberculous pleural effusion. Twenty-year experience.** *Chest* 1991, **99**:883-886.
30. Aoe K, Hiraki A, Murakami T, Eda R, Maeda T, Sugi K, Takeyama H: **Diagnostic significance of interferon-gamma in tuberculous pleural effusions.** *Chest* 2003, **123**:740-744.
31. Valdes L, San Jose E, Alvarez D, Sarandeses A, Pose A, Chomon B, Alvarez-Dobano JM, Salgueiro M, Rodriguez Suarez JR: **Diagnosis of tuberculous**

- pleurisy using the biologic parameters adenosine deaminase, lysozyme, and interferon gamma. *Chest* 1993, 103:458-465.**
32. Kochi A: **The global tuberculosis situation and the new control strategy of the World Health Organization. *Tubercle* 1991, 72:1-6.**
33. Valdes L, Alvarez D, San Jose E, Penela P, Valle JM, Garcia-Pazos JM, Suarez J, Pose A: **Tuberculous pleurisy: a study of 254 patients. *Arch Intern Med* 1998, 158:2017-2021.**
34. Sahn SA: **Immunologic diseases of the pleura. *Clin Chest Med* 1985, 6:83-102.**
35. Nagesh BS, Sehgal S, Jindal SK, Arora SK: **Evaluation of polymerase chain reaction for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in pleural fluid. *Chest* 2001, 119:1737-1741.**
36. Antunes G, Neville E, Duffy J, Ali N: **BTS guidelines for the management of malignant pleural effusions. *Thorax* 2003, 58 Suppl 2:ii29-38.**
37. Sahn SA: **Management of malignant pleural effusions. *Monaldi Arch Chest Dis* 2001, 56:394-399.**
38. Assi Z, Caruso JL, Herndon J, Patz EF, Jr.: **Cytologically proved malignant pleural effusions: distribution of transudates and exudates. *Chest* 1998, 113:1302-1304.**
39. Lee YC, Light RW: **Management of malignant pleural effusions. *Respirology* 2004, 9:148-156.**
40. Sahn SA, Good JT, Jr.: **Pleural fluid pH in malignant effusions. Diagnostic, prognostic, and therapeutic implications. *Ann Intern Med* 1988, 108:345-349.**
41. Heffner JE, Heffner JN, Brown LK: **Multilevel and continuous pleural fluid pH likelihood ratios for evaluating malignant pleural effusions. *Chest* 2003, 123:1887-1894.**
42. Fentiman IS: **Diagnosis and treatment of malignant pleural effusions. *Cancer Treat Rev* 1987, 14:107-118.**
43. Menzies R, Charbonneau M: **Thoracoscopy for the diagnosis of pleural disease. *Ann Intern Med* 1991, 114:271-276.**
44. Joseph J, Sahn SA: **Connective tissue diseases and the pleura. *Chest* 1993, 104:262-270.**

45. Pettersson T, Klockars M, Hellstrom PE: **Chemical and immunological features of pleural effusions: comparison between rheumatoid arthritis and other diseases.** *Thorax* 1982, **37**:354-361.
46. Lillington GA, Carr DT, Mayne JG: **Rheumatoid pleurisy with effusion.** *Arch Intern Med* 1971, **128**:764-768.
47. Glovsky MM, Louie JS, Pitts WH, Jr., Alenty A: **Reduction of pleural fluid complement activity in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis.** *Clin Immunol Immunopathol* 1976, **6**:31-41.
48. Halla JT, Schrohenloher RE, Volanakis JE: **Immune complexes and other laboratory features of pleural effusions: a comparison of rheumatoid arthritis, systemic lupus erythematosus, and other diseases.** *Ann Intern Med* 1980, **92**:748-752.
49. Good JT, Jr., King TE, Antony VB, Sahn SA: **Lupus pleuritis. Clinical features and pleural fluid characteristics with special reference to pleural fluid antinuclear antibodies.** *Chest* 1983, **84**:714-718.
50. Hunder GG, McDuffie FC, Hepper NG: **Pleural fluid complement in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis.** *Ann Intern Med* 1972, **76**:357-363.
51. McKnight KM, Adair NE, Agudelo CA: **Successful use of tetracycline pleurodesis to treat massive pleural effusion secondary to systemic lupus erythematosus.** *Arthritis Rheum* 1991, **34**:1483-1484.
52. Light RW, Macgregor MI, Luchsinger PC, Ball WC, Jr.: **Pleural effusions: the diagnostic separation of transudates and exudates.** *Ann Intern Med* 1972, **77**:507-513.
53. Valdes L, Pose A, Suarez J, Gonzalez-Juanatey JR, Sarandeses A, San Jose E, Alvarez Dobana JM, Salgueiro M, Rodriguez Suarez JR: **Cholesterol: a useful parameter for distinguishing between pleural exudates and transudates.** *Chest* 1991, **99**:1097-1102.
54. 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.

55. 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, **98**:141-144.
56. Garcia-Pachon E, Padilla-Navas I, Sanchez JF, Jimenez B, Custardoy J: **Pleural fluid to serum cholinesterase ratio for the separation of transudates and exudates.** *Chest* 1996, **110**:97-101.
57. Burgess LJ, Maritz FJ, Taljaard JJ: **Comparative analysis of the biochemical parameters used to distinguish between pleural transudates and exudates.** *Chest* 1995, **107**:1604-1609.
58. Conner BD, Lee YC, Branca P, Rogers JT, Rodriguez RM, Light RW: **Variations in pleural fluid WBC count and differential counts with different sample containers and different methods.** *Chest* 2003, **123**:1181-1187.
59. Maskell NA, Butland RJ: **BTS guidelines for the investigation of a unilateral pleural effusion in adults.** *Thorax* 2003, **58 Suppl 2**:ii8-17.
60. Sassoon CS, Light RW: **Chylothorax and pseudochylothorax.** *Clin Chest Med* 1985, **6**:163-171.
61. Ferrer A, Osset J, Alegre J, Surinach JM, Crespo E, Fernandez de Sevilla T, Fernandez F: **Prospective clinical and microbiological study of pleural effusions.** *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999, **18**:237-241.
62. Diaz-Guzman E, Culver DA, Stoller JK: **Transudative chylothorax: report of two cases and review of the literature.** *Lung* 2005, **183**:169-175.
63. Miller KS, Wooten S, Sahn SA: **Urinothorax: a cause of low pH transudative pleural effusions.** *Am J Med* 1988, **85**:448-449.
64. Stark DD, Shanes JG, Baron RL, Koch DD: **Biochemical features of urinothorax.** *Arch Intern Med* 1982, **142**:1509-1511.
65. San Jose ME, Valdes L, Saavedra MJ, De Vega JM, Alvarez D, Vinuela J, Penela P, Valle JM, Seoane R: **Lymphocyte populations in tuberculous pleural effusions.** *Ann Clin Biochem* 1999, **36 (Pt 4)**:492-500.
66. Strauss G, Guckel B, Wallwiener D, Moldenhauer G: **Without prior stimulation, tumor-associated lymphocytes from malignant effusions lyse autologous tumor cells in the presence of bispecific antibody HEA125xOKT3.** *Clin Cancer Res* 1999, **5**:171-180.

67. Light RW, Ball WC, Jr.: **Glucose and amylase in pleural effusions.** *JAMA* 1973, **225**:257-260.
68. Escudero Bueno C, Garcia Clemente M, Cuesta Castro B, Molinos Martin L, Rodriguez Ramos S, Gonzalez Panizo A, Martinez Glez-Rio J: **Cytologic and bacteriologic analysis of fluid and pleural biopsy specimens with Cope's needle. Study of 414 patients.** *Arch Intern Med* 1990, **150**:1190-1194.
69. Xiol X, Castellvi JM, Guardiola J, Sese E, Castellote J, Perello A, Cervantes X, Iborra MJ: **Spontaneous bacterial empyema in cirrhotic patients: a prospective study.** *Hepatology* 1996, **23**:719-723.
70. Maartens G, Wood MJ: **The clinical presentation and diagnosis of invasive fungal infections.** *J Antimicrob Chemother* 1991, **28 Suppl A**:13-22.
71. Lee YC, Rogers JT, Rodriguez RM, Miller KD, Light RW: **Adenosine deaminase levels in nontuberculous lymphocytic pleural effusions.** *Chest* 2001, **120**:356-361.
72. Ocana I, Ribera E, Martinez-Vazquez JM, Ruiz I, Bejarano E, Pigrau C, Pahissa A: **Adenosine deaminase activity in rheumatoid pleural effusion.** *Ann Rheum Dis* 1988, **47**:394-397.
73. Villena V, Lopez-Encuentra A, Echave-Sustaeta J, Martin-Escribano P, Ortuno-de-Solo B, Estenoz-Alfaro J: **Interferon-gamma in 388 immunocompromised and immunocompetent patients for diagnosing pleural tuberculosis.** *Eur Respir J* 1996, **9**:2635-2639.
74. Good JT, Jr., Taryle DA, Maulitz RM, Kaplan RL, Sahn SA: **The diagnostic value of pleural fluid pH.** *Chest* 1980, **78**:55-59.
75. Valdes L, Pose A, San Jose E, Marti, nez Vazquez JM: **Tuberculous pleural effusions.** *Eur J Intern Med* 2003, **14**:77-88.
76. Light RW, Ferrer J: **[Diagnosis of pleural tuberculosis].** *Arch Bronconeumol* 1999, **35**:105-107.
77. Prakash UB, 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.
78. de Groot M, Walther G: **Thoracoscopy in undiagnosed pleural effusions.** *S Afr Med J* 1998, **88**:706-711.

79. Emad A, Rezaian GR: **Diagnostic value of closed percutaneous pleural biopsy vs pleuroscopy in suspected malignant pleural effusion or tuberculous pleurisy in a region with a high incidence of tuberculosis: a comparative, age-dependent study.** *Respir Med* 1998, **92**:488-492.
80. Upham JW, Mitchell CA, Armstrong JG, Kelly WT: **Investigation of pleural effusion: the role of bronchoscopy.** *Aust N Z J Med* 1992, **22**:41-43.
81. Chang SC, Perng RP: **The role of fiberoptic bronchoscopy in evaluating the causes of pleural effusions.** *Arch Intern Med* 1989, **149**:855-857.
82. Gerschman R, Gilbert DL, Nye SW, Dwyer P, Fenn WO: **Oxygen poisoning and x-irradiation: a mechanism in common.** *Science* 1954, **119**:623-626.
83. Commoner B, Townsend J, Pake GE: **Free radicals in biological materials.** *Nature* 1954, **174**:689-691.
84. Harman D: **Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry.** *J Gerontol* 1956, **11**:298-300.
85. Harman D: **The aging process.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 1981, **78**:7124-7128.
86. McCord JM, Fridovich I: **Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein).** *J Biol Chem* 1969, **244**:6049-6055.
87. Beckman KB, Ames BN: **The free radical theory of aging matures.** *Physiol Rev* 1998, **78**:547-581.
88. Mittal CK, Murad F: **Activation of guanylate cyclase by superoxide dismutase and hydroxyl radical: a physiological regulator of guanosine 3',5'-monophosphate formation.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 1977, **74**:4360-4364.
89. Storz G, Tartaglia LA, Ames BN: **Transcriptional regulator of oxidative stress-inducible genes: direct activation by oxidation.** *Science* 1990, **248**:189-194.
90. Schreck R, Rieber P, Baeuerle PA: **Reactive oxygen intermediates as apparently widely used messengers in the activation of the NF-kappa B transcription factor and HIV-1.** *EMBO J* 1991, **10**:2247-2258.
91. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M: **Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer.** *Chem Biol Interact* 2006, **160**:1-40.
92. Kirilin WG, Cai J, Thompson SA, Diaz D, Kavanagh TJ, Jones DP: **Glutathione redox potential in response to differentiation and enzyme inducers.** *Free Radic Biol Med* 1999, **27**:1208-1218.

93. Lee J, Godon C, Lagniel G, Spector D, Garin J, Labarre J, Toledano MB: **Yap1 and Skn7 control two specialized oxidative stress response regulons in yeast.** *J Biol Chem* 1999, **274**:16040-16046.
94. Kovacic P, Jacintho JD: **Reproductive toxins: pervasive theme of oxidative stress and electron transfer.** *Curr Med Chem* 2001, **8**:863-892.
95. Ridnour LA, Isenberg JS, Espey MG, Thomas DD, Roberts DD, Wink DA: **Nitric oxide regulates angiogenesis through a functional switch involving thrombospondin-1.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005, **102**:13147-13152.
96. Valko M, Morris H, Mazur M, Rapta P, Bilton RF: **Oxygen free radical generating mechanisms in the colon: do the semiquinones of vitamin K play a role in the aetiology of colon cancer?** *Biochim Biophys Acta* 2001, **1527**:161-166.
97. Klatt P, Lamas S: **Regulation of protein function by S-glutathiolation in response to oxidative and nitrosative stress.** *Eur J Biochem* 2000, **267**:4928-4944.
98. Schulz JB, Lindenau J, Seyfried J, Dichgans J: **Glutathione, oxidative stress and neurodegeneration.** *Eur J Biochem* 2000, **267**:4904-4911.
99. Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE: **Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now?** *J Lab Clin Med* 1992, **119**:598-620.
100. Gutteridge JM, Halliwell B: **Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future.** *Ann N Y Acad Sci* 2000, **899**:136-147.
101. Halliwell B: **Oxidants and human disease: some new concepts.** *FASEB J* 1987, **1**:358-364.
102. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J: **Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease.** *Int J Biochem Cell Biol* 2007, **39**:44-84.
103. Halliwell B: **Free radicals, proteins and DNA: oxidative damage versus redox regulation.** *Biochem Soc Trans* 1996, **24**:1023-1027.
104. Rahman I, Biswas SK, Kode A: **Oxidant and antioxidant balance in the airways and airway diseases.** *Eur J Pharmacol* 2006, **533**:222-239.
105. Kinnula VL, Crapo JD, Raivio KO: **Generation and disposal of reactive oxygen metabolites in the lung.** *Lab Invest* 1995, **73**:3-19.
106. Lambert AJ, Brand MD: **Reactive oxygen species production by mitochondria.** *Methods Mol Biol* 2009, **554**:165-181.

107. Lenaz G: **The mitochondrial production of reactive oxygen species: mechanisms and implications in human pathology.** *IUBMB Life* 2001, **52**:159-164.
108. Del Maestro RF: **An approach to free radicals in medicine and biology.** *Acta Physiol Scand Suppl* 1980, **492**:153-168.
109. Diplock AT: **Antioxidants and disease prevention.** *Mol Aspects Med* 1994, **15**:293-376.
110. Halliwell B: **Biochemistry of oxidative stress.** *Biochem Soc Trans* 2007, **35**:1147-1150.
111. Kinnula VL, Crapo JD: **Superoxide dismutases in the lung and human lung diseases.** *Am J Respir Crit Care Med* 2003, **167**:1600-1619.
112. Thannickal VJ, Fanburg BL: **Reactive oxygen species in cell signaling.** *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000, **279**:L1005-1028.
113. Crapo JD, Tierney DF: **Superoxide dismutase and pulmonary oxygen toxicity.** *Am J Physiol* 1974, **226**:1401-1407.
114. Holmgren A: **Antioxidant function of thioredoxin and glutaredoxin systems.** *Antioxid Redox Signal* 2000, **2**:811-820.
115. Powis G, Mustacich D, Coon A: **The role of the redox protein thioredoxin in cell growth and cancer.** *Free Radic Biol Med* 2000, **29**:312-322.
116. Miller DM, Buettner GR, Aust SD: **Transition metals as catalysts of "autoxidation" reactions.** *Free Radic Biol Med* 1990, **8**:95-108.
117. Valko M, Morris H, Cronin MT: **Metals, toxicity and oxidative stress.** *Curr Med Chem* 2005, **12**:1161-1208.
118. Kharitonov SA, Barnes PJ: **Biomarkers of some pulmonary diseases in exhaled breath.** *Biomarkers* 2002, **7**:1-32.
119. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P: **Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors.** *Clin Chem* 1997, **43**:1209-1214.
120. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H: **Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes.** *Free Radic Biol Med* 1991, **11**:81-128.

121. Yazdanpanah M, Luo X, Lau R, Greenberg M, Fisher LJ, Lehotay DC: **Cytotoxic aldehydes as possible markers for childhood cancer.** *Free Radic Biol Med* 1997, **23**:870-878.
122. Roberts LJ, 2nd, Morrow JD: **Products of the isoprostane pathway: unique bioactive compounds and markers of lipid peroxidation.** *Cell Mol Life Sci* 2002, **59**:808-820.
123. 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**:S25-30.
124. Janssen LJ: **Isoprostanes: an overview and putative roles in pulmonary pathophysiology.** *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001, **280**:L1067-1082.
125. Collins CE, Quaggiotto P, Wood L, O'Loughlin EV, Henry RL, Garg ML: **Elevated plasma levels of F2 alpha isoprostane in cystic fibrosis.** *Lipids* 1999, **34**:551-556.
126. Ciabattoni G, Davi G, Collura M, Iapichino L, Pardo F, Ganci A, Romagnoli R, Macclouf J, Patrono C: **In vivo lipid peroxidation and platelet activation in cystic fibrosis.** *Am J Respir Crit Care Med* 2000, **162**:1195-1201.
127. Pratico D, Basili S, Vieri M, Cordova C, Violi F, Fitzgerald GA: **Chronic obstructive pulmonary disease is associated with an increase in urinary levels of isoprostane F2alpha-III, an index of oxidant stress.** *Am J Respir Crit Care Med* 1998, **158**:1709-1714.
128. Montuschi P, Kharitonov SA, Ciabattoni G, Corradi M, van Rensen L, Geddes DM, Hodson ME, Barnes PJ: **Exhaled 8-isoprostane as a new non-invasive biomarker of oxidative stress in cystic fibrosis.** *Thorax* 2000, **55**:205-209.
129. 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, **158**:1524-1527.
130. Montuschi P, Corradi M, Ciabattoni 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.
131. Montuschi P, Collins JV, Ciabattoni G, Lazzeri N, Corradi M, Kharitonov SA, Barnes PJ: **Exhaled 8-isoprostane as an in vivo biomarker of lung oxidative stress in patients with COPD and healthy smokers.** *Am J Respir Crit Care Med* 2000, **162**:1175-1177.

132. Morrow JD: **The isoprostanes: their quantification as an index of oxidant stress status in vivo.** *Drug Metab Rev* 2000, **32**:377-385.
133. Barreto M, Villa MP, Olita C, Martella S, Ciabattini G, Montuschi P: **8-Isoprostane in exhaled breath condensate and exercise-induced bronchoconstriction in asthmatic children and adolescents.** *Chest* 2009, **135**:66-73.
134. Papageorgiou E, Kostikas K, Kiropoulos T, Karetsi E, Mpatavanis G, Gourgoulianis KI: **Increased oxidative stress in exudative pleural effusions: a new marker for the differentiation between exudates and transudates?** *Chest* 2005, **128**:3291-3297.
135. Crapo JD, Oury T, Rabouille C, Slot JW, Chang LY: **Copper,zinc superoxide dismutase is primarily a cytosolic protein in human cells.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992, **89**:10405-10409.
136. Keller GA, Warner TG, Steimer KS, Hallewell RA: **Cu,Zn superoxide dismutase is a peroxisomal enzyme in human fibroblasts and hepatoma cells.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991, **88**:7381-7385.
137. Johnson F, Giulivi C: **Superoxide dismutases and their impact upon human health.** *Mol Aspects Med* 2005, **26**:340-352.
138. Kim HT, Kim YH, Nam JW, Lee HJ, Rho HM, Jung G: **Study of 5'-flanking region of human Cu/Zn superoxide dismutase.** *Biochem Biophys Res Commun* 1994, **201**:1526-1533.
139. Epstein CJ, Avraham KB, Lovett M, Smith S, Elroy-Stein O, Rotman G, Bry C, Groner Y: **Transgenic mice with increased Cu/Zn-superoxide dismutase activity: animal model of dosage effects in Down syndrome.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987, **84**:8044-8048.
140. Larsen GL, White CW, Takeda K, Loader JE, Nguyen DD, Joetham A, Groner Y, Gelfand EW: **Mice that overexpress Cu/Zn superoxide dismutase are resistant to allergen-induced changes in airway control.** *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000, **279**:L350-359.
141. Comhair SA, Bhathena PR, Dweik RA, Kavuru M, Erzurum SC: **Rapid loss of superoxide dismutase activity during antigen-induced asthmatic response.** *Lancet* 2000, **355**:624.

142. Dobashi K, Asayama K, Hayashibe H, Munim A, Kawaoi A, Morikawa M, Nakazawa S: **Immunohistochemical study of copper-zinc and manganese superoxide dismutases in the lungs of human fetuses and newborn infants: developmental profile and alterations in hyaline membrane disease and bronchopulmonary dysplasia.** *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1993, **423**:177-184.
143. Marikovsky M, Nevo N, Vadai E, Harris-Cerruti C: **Cu/Zn superoxide dismutase plays a role in angiogenesis.** *Int J Cancer* 2002, **97**:34-41.
144. Zhang Y, Zhao W, Zhang HJ, Domann FE, Oberley LW: **Overexpression of copper zinc superoxide dismutase suppresses human glioma cell growth.** *Cancer Res* 2002, **62**:1205-1212.
145. Grzenkowicz-Wydra J, Cisowski J, Nakonieczna J, Zarebski A, Udilova N, Nohl H, Jozkowicz A, Podhajska A, Dulak J: **Gene transfer of CuZn superoxide dismutase enhances the synthesis of vascular endothelial growth factor.** *Mol Cell Biochem* 2004, **264**:169-181.
146. Chang LY, Kang BH, Slot JW, Vincent R, Crapo JD: **Immunocytochemical localization of the sites of superoxide dismutase induction by hyperoxia in rat lungs.** *Lab Invest* 1995, **73**:29-39.
147. Lakari E, Paakko P, Pietarinen-Runtti P, Kinnula VL: **Manganese superoxide dismutase and catalase are coordinately expressed in the alveolar region in chronic interstitial pneumonias and granulomatous diseases of the lung.** *Am J Respir Crit Care Med* 2000, **161**:615-621.
148. Oberley TD, Oberley LW: **Antioxidant enzyme levels in cancer.** *Histol Histopathol* 1997, **12**:525-535.
149. Brady TC, Chang LY, Day BJ, Crapo JD: **Extracellular superoxide dismutase is upregulated with inducible nitric oxide synthase after NF-kappa B activation.** *Am J Physiol* 1997, **273**:L1002-1006.
150. Stralin P, Marklund SL: **Multiple cytokines regulate the expression of extracellular superoxide dismutase in human vascular smooth muscle cells.** *Atherosclerosis* 2000, **151**:433-441.
151. Nakane T, Asayama K, Kodera K, Hayashibe H, Uchida N, Nakazawa S: **Effect of selenium deficiency on cellular and extracellular glutathione peroxidases:**

- immunochemical detection and mRNA analysis in rat kidney and serum.** *Free Radic Biol Med* 1998, **25**:504-511.
152. Kirkman HN, Gaetani GF: **Catalase: a tetrameric enzyme with four tightly bound molecules of NADPH.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 1984, **81**:4343-4347.
153. Chelikani P, Fita I, Loewen PC: **Diversity of structures and properties among catalases.** *Cell Mol Life Sci* 2004, **61**:192-208.
154. Takahashi K, Cohen HJ: **Selenium-dependent glutathione peroxidase protein and activity: immunological investigations on cellular and plasma enzymes.** *Blood* 1986, **68**:640-645.
155. Holben DH, Smith AM: **The diverse role of selenium within selenoproteins: a review.** *J Am Diet Assoc* 1999, **99**:836-843.
156. Engin KN: **Alpha-tocopherol: looking beyond an antioxidant.** *Mol Vis* 2009, **15**:855-860.
157. Alberg AJ, Samet JM: **Epidemiology of lung cancer.** *Chest* 2003, **123**:21S-49S.
158. Ozlu T, Bulbul Y: **Smoking and lung cancer.** *Tuberk Toraks* 2005, **53**:200-209.
159. Rahman I, MacNee W: **Role of oxidants/antioxidants in smoking-induced lung diseases.** *Free Radic Biol Med* 1996, **21**:669-681.
160. Hoffmann D, Hoffmann I: **The changing cigarette, 1950-1995.** *J Toxicol Environ Health* 1997, **50**:307-364.
161. Pryor WA, Hales BJ, Premovic PI, Church DF: **The radicals in cigarette tar: their nature and suggested physiological implications.** *Science* 1983, **220**:425-427.
162. Leanderson P, Tagesson C: **Cigarette smoke-induced DNA damage in cultured human lung cells: role of hydroxyl radicals and endonuclease activation.** *Chem Biol Interact* 1992, **81**:197-208.
163. Schectman G, Byrd JC, Hoffmann R: **Ascorbic acid requirements for smokers: analysis of a population survey.** *Am J Clin Nutr* 1991, **53**:1466-1470.
164. Gonenc A, Ozkan Y, Torun M, Simsek B: **Plasma malondialdehyde (MDA) levels in breast and lung cancer patients.** *J Clin Pharm Ther* 2001, **26**:141-144.
165. Kaynar H, Meral M, Turhan H, Keles M, Celik G, Akcay F: **Glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase, catalase, xanthine oxidase, Cu-Zn superoxide dismutase activities, total glutathione, nitric oxide, and malondialdehyde levels in erythrocytes of patients with small cell and non-small cell lung cancer.** *Cancer Lett* 2005, **227**:133-139.

166. Ho JC, Mak JC, Ho SP, Ip MS, Tsang KW, Lam WK, Chan-Yeung M: **Manganese superoxide dismutase and catalase genetic polymorphisms, activity levels, and lung cancer risk in Chinese in Hong Kong.** *J Thorac Oncol* 2006, **1**:648-653.
167. Kwiatkowska S, Szkudlarek U, Luczynska M, Nowak D, Zieba M: **Elevated exhalation of hydrogen peroxide and circulating IL-18 in patients with pulmonary tuberculosis.** *Respir Med* 2007, **101**:574-580.
168. Madebo T, Lindtjorn B, Aukrust P, Berge RK: **Circulating antioxidants and lipid peroxidation products in untreated tuberculosis patients in Ethiopia.** *Am J Clin Nutr* 2003, **78**:117-122.
169. Schon T, Elmberger G, Negesse Y, Pando RH, Sundqvist T, Britton S: **Local production of nitric oxide in patients with tuberculosis.** *Int J Tuberc Lung Dis* 2004, **8**:1134-1137.
170. Restrepo MI, Anzueto A: **Severe community-acquired pneumonia.** *Infect Dis Clin North Am* 2009, **23**:503-520.
171. Majewska E, Kasielski M, Luczynski R, Bartosz G, Bialasiewicz P, Nowak D: **Elevated exhalation of hydrogen peroxide and thiobarbituric acid reactive substances in patients with community acquired pneumonia.** *Respir Med* 2004, **98**:669-676.
172. Cemek M, Caksen H, Bayiroglu F, Cemek F, Dede S: **Oxidative stress and enzymic-non-enzymic antioxidant responses in children with acute pneumonia.** *Cell Biochem Funct* 2006, **24**:269-273.
173. Katsoulis K, Kontakiotis T, Baltopoulos G, Kotsovili A, Legakis IN: **Total antioxidant status and severity of community-acquired pneumonia: are they correlated?** *Respiration* 2005, **72**:381-387.
174. Wood LG, Garg ML, Simpson JL, Mori TA, Croft KD, Wark PA, Gibson PG: **Induced sputum 8-isoprostane concentrations in inflammatory airway diseases.** *Am J Respir Crit Care Med* 2005, **171**:426-430.
175. Loukides S, Bouros D, Papatheodorou G, Lachanis S, Panagou P, Siafakas NM: **Exhaled H₂O₂ in steady-state bronchiectasis: relationship with cellular composition in induced sputum, spirometry, and extent and severity of disease.** *Chest* 2002, **121**:81-87.
176. Shahid SK, Kharitonov SA, Wilson NM, Bush A, Barnes PJ: **Exhaled 8-isoprostane in childhood asthma.** *Respir Res* 2005, **6**:79.

177. Corradi M, Rubinstein I, Andreoli R, Manini P, Caglieri A, Poli D, Alinovi R, Mutti A: **Aldehydes in exhaled breath condensate of patients with chronic obstructive pulmonary disease.** *Am J Respir Crit Care Med* 2003, **167**:1380-1386.
178. Nadeem A, Chhabra SK, Masood A, Raj HG: **Increased oxidative stress and altered levels of antioxidants in asthma.** *J Allergy Clin Immunol* 2003, **111**:72-78.
179. Misso NL, Powers KA, Gillon RL, Stewart GA, Thompson PJ: **Reduced platelet glutathione peroxidase activity and serum selenium concentration in atopic asthmatic patients.** *Clin Exp Allergy* 1996, **26**:838-847.
180. Comhair SA, Xu W, Ghosh S, Thunnissen FB, Almasan A, Calhoun WJ, Janocha AJ, Zheng L, Hazen SL, Erzurum SC: **Superoxide dismutase inactivation in pathophysiology of asthmatic airway remodeling and reactivity.** *Am J Pathol* 2005, **166**:663-674.
181. MacNee W: **Pulmonary and systemic oxidant/antioxidant imbalance in chronic obstructive pulmonary disease.** *Proc Am Thorac Soc* 2005, **2**:50-60.
182. Biernacki WA, Kharitonov SA, Barnes PJ: **Increased leukotriene B4 and 8-isoprostane in exhaled breath condensate of patients with exacerbations of COPD.** *Thorax* 2003, **58**:294-298.
183. Kostikas K, Papatheodorou G, Psathakis K, Panagou P, Loukides S: **Oxidative stress in expired breath condensate of patients with COPD.** *Chest* 2003, **124**:1373-1380.
184. Kluchova Z, Petrasova D, Joppa P, Dorkova Z, Tkacova R: **The association between oxidative stress and obstructive lung impairment in patients with COPD.** *Physiol Res* 2007, **56**:51-56.
185. Nadeem A, Raj HG, Chhabra SK: **Increased oxidative stress and altered levels of antioxidants in chronic obstructive pulmonary disease.** *Inflammation* 2005, **29**:23-32.
186. Sahin U, Unlu M, Ozguner F, Sutcu R, Akkaya A, Delibas N: **Lipid peroxidation and glutathione peroxidase activity in chronic obstructive pulmonary disease exacerbation: prognostic value of malondialdehyde.** *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 2001, **12**:59-68.
187. Morrison D, Rahman I, Lannan S, MacNee W: **Epithelial permeability, inflammation, and oxidant stress in the air spaces of smokers.** *Am J Respir Crit Care Med* 1999, **159**:473-479.

188. Li XY, Rahman I, Donaldson K, MacNee W: **Mechanisms of cigarette smoke induced increased airspace permeability.** *Thorax* 1996, **51**:465-471.
189. Nemery B, Bast A, Behr J, Borm PJ, Bourke SJ, Camus PH, De Vuyst P, Jansen HM, Kinnula VL, Lison D, et al: **Interstitial lung disease induced by exogenous agents: factors governing susceptibility.** *Eur Respir J Suppl* 2001, **32**:30s-42s.
190. Sherson D, Nielsen H, Frederiksen J, Milman N, Struve-Christensen E, Petersen BN: **Superoxide anion release from blood monocytes and alveolar macrophages in patients with diffuse lung fibrosis.** *APMIS* 1992, **100**:408-414.
191. Strausz J, Muller-Quernheim J, Stepling H, Nagel M, Ferlinz R: **[Oxygen radical production by alveolar macrophages in sarcoidosis in relation to activity status of bronchoalveolar lavage lymphocytes].** *Pneumologie* 1990, **44 Suppl 1**:222-223.
192. Saleh D, Barnes PJ, Giaid A: **Increased production of the potent oxidant peroxynitrite in the lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis.** *Am J Respir Crit Care Med* 1997, **155**:1763-1769.
193. 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**:26-31.
194. 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, **36**:362-367.
195. Lenz AG, Hinze-Heyn H, Schneider A, Behr J, Haussinger K, Heindi S, Stanzel F, Maier KL: **Influence of inflammatory mechanisms on the redox balance in interstitial lung diseases.** *Respir Med* 2004, **98**:737-745.
196. Baughman RP: **Pulmonary sarcoidosis.** *Clin Chest Med* 2004, **25**:521-530, vi.
197. Koutsokera A, Papaioannou AI, Malli F, Kiropoulos TS, Katsabeki A, Kerenidi T, Gourgoulisanis KI, Daniil ZD: **Systemic oxidative stress in patients with pulmonary sarcoidosis.** *Pulm Pharmacol Ther* 2009.
198. Cassatella MA, Berton G, Agostini C, Zambello R, Trentin L, Cipriani A, Semenzato G: **Generation of superoxide anion by alveolar macrophages in sarcoidosis: evidence for the activation of the oxygen metabolism in patients with high-intensity alveolitis.** *Immunology* 1989, **66**:451-458.

199. Psathakis K, Papatheodorou G, Plataki M, Panagou P, Loukides S, Siafakas NM, Bouros D: **8-Isoprostane, a marker of oxidative stress, is increased in the expired breath condensate of patients with pulmonary sarcoidosis.** *Chest* 2004, **125**:1005-1011.
200. Lakari E, Paakko P, Kinnula VL: **Manganese superoxide dismutase, but not CuZn superoxide dismutase, is highly expressed in the granulomas of pulmonary sarcoidosis and extrinsic allergic alveolitis.** *Am J Respir Crit Care Med* 1998, **158**:589-596.
201. Kinnula VL: **Oxidant and antioxidant mechanisms of lung disease caused by asbestos fibres.** *Eur Respir J* 1999, **14**:706-716.
202. Oury TD, Day BJ, Crapo JD: **Extracellular superoxide dismutase: a regulator of nitric oxide bioavailability.** *Lab Invest* 1996, **75**:617-636.
203. Haddad IY, Ischiropoulos H, Holm BA, Beckman JS, Baker JR, Matalon S: **Mechanisms of peroxynitrite-induced injury to pulmonary surfactants.** *Am J Physiol* 1993, **265**:L555-564.
204. Khalil N: **TGF-beta: from latent to active.** *Microbes Infect* 1999, **1**:1255-1263.
205. Miserocchi G: **Physiology and pathophysiology of pleural fluid turnover.** *Eur Respir J* 1997, **10**:219-225.
206. Liu W, Liu XJ, Yu Q, Zhao J, Lei ZL, Li L: **[A study on oxidative DNA damage and lipid peroxidation in patients with tuberculous pleurisy].** *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi* 2003, **26**:781-784.
207. 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.
208. Kinnula VL, Torkkeli T, Kristo P, Sormunen R, Soini Y, Paakko P, Ollikainen T, Kahlos K, Hirvonen A, Knuutila S: **Ultrastructural and chromosomal studies on manganese superoxide dismutase in malignant mesothelioma.** *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004, **31**:147-153.
209. Gogou E, Hatzoglou C, Chamos V, Zarogiannis S, Gourgoulisanis KI, Molyvdas PA: **The contribution of ascorbic acid and dehydroascorbic acid to the protective role of pleura during inflammatory reactions.** *Med Hypotheses* 2007, **68**:860-863.

210. Marel M, Stastny B, Melinova L, Svandova E, Light RW: **Diagnosis of pleural effusions. Experience with clinical studies, 1986 to 1990.** *Chest* 1995, **107**:1598-1603.
211. Zaric B, Kuruc V, Milovancev A, Markovic M, Sarcev T, Canak V, Pavlovic S: **Differential diagnosis of tuberculous and malignant pleural effusions: what is the role of adenosine deaminase?** *Lung* 2008, **186**:233-240.
212. Ernam D, Atalay F, Hasanoglu HC, Kaplan O: **Role of biochemical tests in the diagnosis of exudative pleural effusions.** *Clin Biochem* 2005, **38**:19-23.
213. Romero S, Martinez A, Hernandez L, Fernandez C, Espasa A, Candela A, Martin C: **Light's criteria revisited: consistency and comparison with new proposed alternative criteria for separating pleural transudates from exudates.** *Respiration* 2000, **67**:18-23.
214. Aleman C, Alegre J, Monasterio J, Segura RM, Armadans L, Angles A, Varela E, Ruiz E, Fernandez de Sevilla T: **Association between inflammatory mediators and the fibrinolysis system in infectious pleural effusions.** *Clin Sci (Lond)* 2003, **105**:601-607.
215. Kroegel C, Antony VB: **Immunobiology of pleural inflammation: potential implications for pathogenesis, diagnosis and therapy.** *Eur Respir J* 1997, **10**:2411-2418.
216. Dalaveris E, Kerenidi T, Katsabeki-Katsafli A, Kiropoulos T, Tanou K, Gourgoulialis KI, Kostikas K: **VEGF, TNF-alpha and 8-isoprostane levels in exhaled breath condensate and serum of patients with lung cancer.** *Lung Cancer* 2009, **64**:219-225.
217. Romero PV, Rodriguez B, Martinez S, Canizares R, Sepulveda D, Manresa F: **[Analysis of oxidative stress in exhaled breath condensate from patients with severe pulmonary infections].** *Arch Bronconeumol* 2006, **42**:113-119.
218. Antony VB, Mohammed KA: **Pathophysiology of pleural space infections.** *Semin Respir Infect* 1999, **14**:9-17.
219. Light RW: **A new classification of parapneumonic effusions and empyema.** *Chest* 1995, **108**:299-301.
220. Colice GL, Curtis A, Deslauriers J, Heffner J, Light R, Littenberg B, Sahn S, Weinstein RA, Yusef RD: **Medical and surgical treatment of parapneumonic effusions : an evidence-based guideline.** *Chest* 2000, **118**:1158-1171.

221. Porcel JM, Vives M, Esquerda A: **Tumor necrosis factor-alpha in pleural fluid: a marker of complicated parapneumonic effusions.** *Chest* 2004, **125**:160-164.
222. Utine GE, Ozcelik U, Yalcin E, Dogru D, Kiper N, Aslan A, Kanra G: **Childhood parapneumonic effusions: biochemical and inflammatory markers.** *Chest* 2005, **128**:1436-1441.
223. Odeh M, Sabo E, Oliven A, Srugo I: **Role of tumor necrosis factor-alpha in the differential diagnosis of parapneumonic effusion.** *Int J Infect Dis* 2000, **4**:38-41.
224. Alegre J, Jufresa J, Segura R, Ferrer A, Armadans L, Aleman C, Marti R, Ruiz E, Fernandez de Sevilla T: **Pleural-fluid myeloperoxidase in complicated and noncomplicated parapneumonic pleural effusions.** *Eur Respir J* 2002, **19**:320-325.
225. Chen SC, Chen W, Hsu WH, Yu YH, Shih CM: **Role of pleural fluid C-reactive protein concentration in discriminating uncomplicated parapneumonic pleural effusions from complicated parapneumonic effusion and empyema.** *Lung* 2006, **184**:141-145.