



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ



ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΠΝΕΥΜΟΝΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθυντής: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Ι ΓΟΥΡΓΟΥΛΙΑΝΗΣ

Διδακτορική Διατριβή

**"Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΑΓΓΕΙΑΚΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΟΥ ΑΥΞΗΤΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ
(VEGF) ΣΤΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΑΔΙΑΓΝΩΣΤΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ
ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΩΝ ΣΥΛΛΟΓΩΝ"**

ΑΓΓΕΛΙΚΗ Δ. ΨΑΘΑ

Ειδικευόμενη Πνευμονολογίας και Φυματιολογίας 2016

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των

απαιτήσεων για την απόκτηση του

Διδακτορικού Διπλώματος

Λάρισα, 2016



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΠΝΕΥΜΟΝΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθυντής: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Ι ΓΟΥΡΓΟΥΛΙΑΝΗΣ

Διδακτορική Διατριβή

**"Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΑΓΓΕΙΑΚΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΟΥ ΑΥΞΗΤΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ
(VEGF) ΣΤΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΑΔΙΑΓΝΩΣΤΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ
ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΩΝ ΣΥΛΛΟΓΩΝ"**

ΑΓΓΕΛΙΚΗ Δ. ΨΑΘΑ

Ειδικευόμενη Πνευμονολογίας και Φυματιολογίας 2016

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των

απαιτήσεων για την απόκτηση του

Διδακτορικού Διπλώματος

Λάρισα, 2016

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα (Ν. 5343/32 αρ. 202 παρ. 2).

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

- 1^{ος} Εξεταστής** Δρ. Ζωή Δανιήλ
(Επιβλέπουσα) Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Πνευμονολογίας, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- 2^{ος} Εξεταστής** Δρ. Κωνσταντίνος Ι. Γουργουλιάνης
Καθηγητής Πνευμονολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας
- 3^{ος} Εξεταστής** Δρ. Λάζαρος Σακκάς
Καθηγητής Ρευματολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας
- 4^{ος} Εξεταστής** Δρ. Δημοσθένης Μακρής
Επίκουρος Καθηγητής Μονάδας Εντατικής Θεραπείας, Τμήμα
Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- 5^{ος} Εξεταστής** Δρ. Αναστάσιος Γερμενής
Καθηγητής Εργαστηριακής Ανοσολογίας, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- 6^{ος} Εξεταστής** Δρ. Θεοδώρα Κερενίδη
Επίκουρος Καθηγήτρια Πνευμονολογίας, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
- 7^{ος} Εξεταστής** Δρ. Σωτήριος Ζαρογιάννης
Επίκουρος Καθηγητής Φυσιολογίας, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή είναι αποτέλεσμα συνεργασίας με αξιόλογους επιστήμονες, τους οποίους είχα την τύχη να γνωρίσω και στους οποίους θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου.

Κατ'αρχήν, θα ήθελα να αναφερθώ στον καθηγητή μου κο Κωνσταντίνο Γουργουλιάνη και να τον ευχαριστήσω για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με την έρευνα, την επιμονή και την υπομονή του.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω την αναπληρώτρια καθηγήτρια κα Ζωή Δανιήλ που με την υποστήριξη και καθοδήγησή της υπήρξε πολύτιμος συμπαραστάτης.

Παράλληλα, ευχαριστώ θερμά τον καθηγητή κο Λάζαρο Σακκά για τη βοήθεια που μου παρείχε μέσω του Ιατρείου Ρευματολογίας

Θα ήθελα ακόμα να ευχαριστήσω τον επίκουρο καθηγητή κο Δημοσθένη Μακρή για τις σημαντικές παρατηρήσεις του στο σχεδιασμό και δομή της μελέτης, την επίκουρο καθηγήτριά μου κα Θεοδώρα Κερενίδη για την καθοριστική συμβολή της στην ολοκλήρωση της παρούσας διατριβής, καθώς και τον κλινικό βιοχημικό κο Θεόδωρο Κυρόπουλο για την εργαστηριακή του συμβολή στη διεξαγωγή της παρούσας μελέτης.

Ευχαριστώ τέλος την πολύτιμη οικογένειά μου για την αμέριστη κατανόηση και στήριξη που μου παρείχε καθ'όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διδακτορικής μου διατριβής.

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Όνοματεπώνυμο: **Ψαθά Αγγελική**

Υπηκοότητα: **Ελληνική**

Ημερομηνία γέννησης: **28/02/1980**

Τόπος Γεννήσεως: **Κύμη Ευβοίας**

Οικογενειακή κατάσταση: **έγγαμη, 2 παιδιά**

Παρούσα Διεύθυνση: **Οικονόμου 52, Τ.Κ. 38334, Βόλος**

Αριθμός τηλεφώνου: **24210-60025, 6972008579**

E-mail: **apsatha1@gmail.com**

ΣΠΟΥΔΕΣ

1999-2005: Φοίτηση στο Τμήμα Ιατρικής του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης

2005: Πτυχίο Ιατρικής (Βαθμός αποφοίτησης: Λίαν Καλώς)

2008- : Υποψήφια διδάκτορας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

Αγγλικά : Lower Cambridge (1992), Proficiency Cambridge (1994)

Γερμανικά : A1 Grunstufe Deutsch (A1GD1) (1995)

ΓΝΩΣΗ Η/Υ

Cambridge International Diploma in it skills (2006)

ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ

2009: Έπαινος στο 17^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος για την εργασία με θέμα: “Ο ρόλος του VEGF σε αδιάγνωστες λεμφοκυτταρικές συλλογές”

ΕΡΓΑΣΙΑ

15/11/2012- : Ειδικευόμενη ιατρός στην Πανεπιστημιακή Πνευμονολογική Κλινική Νοσοκομείου Λάρισας

03/09/2008-06/12/2009: Ειδικευόμενη ιατρός στο Πνευμονολογικό Τμήμα του Αντικαρκινικού Νοσοκομείου Θεσσαλονίκης Θεαγένειο

10/2007- 05/2008: Διδασκαλία ανατομίας και πρώτων βοηθειών στη σχολή του ΕΚΑΒ (Βόλος)

27/06/2006-10/09/2007: Ιατρός Υπηρεσίας Υπαίθρου στο Κέντρο Υγείας Ζαγοράς

27/03/2006-27/06/2006: Εργασία στο Αχιλλοπούλειο Γενικό Νοσοκομείο Βόλου ως ιατρός τρίμηνης άσκησης πριν την εκπλήρωση της υπηρεσίας υπαίθρου

2005: Φεστιβάλ κινηματογράφου Θεσσαλονίκης

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

Δημοσιεύσεις στο PubMed

1. SUPRADIAPHRAGMATIC LIGATION OF THE THORACIC DUCT FOR PREVENTION OF POSTOPERATIVE CHYLOTHORAX.

Nikolaos Barbetakis, Christos Asterios, **Aggeliki Psatha**, Dimosthenis Vlaikos.

Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery 2010;10:139-140

2. A POTENTIAL ROLE FOR VEGF IN THE DIAGNOSTIC APPROACH OF PLEURAL EFFUSIONS.

Aggeliki Psatha, Demosthenes Makris, Theodora Kerenidi, Zoe Daniil, Theodoros Kiropoulos, Konstantinos Gourgoulianis.

Journal of Thoracic Disease 2016;8:1681-1687

ΔΙΔΑΚΤΙΚΟ ΕΡΓΟ

2007-2008: Διδασκαλία ανατομίας και πρώτων βοηθειών στη Σχολή του ΕΚΑΒ Βόλου

ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

**ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΩΝ ΣΕΜΙΝΑΡΙΩΝ
ΕΞΩΤΕΡΙΚΟΥ**

2015: Thoracic CT course British Thoracic Society course, Edinburgh, 2-4/09/2015

**ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΩΝ ΣΕΜΙΝΑΡΙΩΝ
ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΥ**

2016: Παρακολούθηση φροντιστηριακού σεμιναρίου με θέμα

“ Καρκίνος πνεύμονα”

2015: Παρακολούθηση φροντιστηριακού σεμιναρίου με θέμα “Διαθωρακικός υπέρηχος”

2014: Παρακολούθηση φροντιστηριακού σεμιναρίου με θέμα “Μη επεμβατικός μηχανικός αερισμός (Μη-ΕΜΑ)”

2013: παρακολούθηση και ολοκλήρωση σεμιναρίου ΚΕΚ Πανεπιστημίου Θεσσαλίας “Διαγνωστική Νοσημάτων του Αναπνευστικού Συστήματος (Επίλυση Κλινικών Προβλημάτων) Ακ. Έτος 2012-2013”

2010: εκπαιδευτικό φροντιστήριο “Εκπαίδευση στην Πνευμονολογία: Συνδυάζοντας την τεκμηριωμένη θεωρία με την κλινική πράξη”

2005: εκπαιδευτικό πρόγραμμα στη βασική υποστήριξη της ζωής και την αυτόματη εξωτερική απινίδωση (BLS)

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΑ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ

2010: Effect of QVA149 Versus NVA237 and Tiotropium on Chronic Obstructive Pulmonary Disorder (COPD) Exacerbations, Novartis (SPARK)

2007: Double blind, double dummy placebo control trial about the effect of

budesonide/formoterol versus budesonide, versus placebo in patients with severe COPD

Astra Zeneca

ΛΟΙΠΕΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΕΣ

2007-2016: Συμμετοχή σε προγράμματα έγκαιρης διάγνωσης και αποκατάστασης της Χρόνιας Αποφρακτικής Πνευμονοπάθειας σε κατοίκους της υπαίθρου της περιφέρειας Θεσσαλίας

07/2003 και 07/2005 : Εθελοντική εργασία στο Κέντρο Υγείας Σκύρου και Νάξου στα πλαίσια συμμετοχής στο πρόγραμμα “Εξόρμηση στην άγριη γραμμή” που οργάνωσε η Επιστημονική Εταιρία Φοιτητών Ιατρικής Ελλάδος

**"Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΑΓΓΕΙΑΚΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΟΥ ΑΥΞΗΤΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ
(VEGF) ΣΤΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΑΔΙΑΓΝΩΣΤΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΙΚΩΝ
ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΩΝ ΣΥΛΛΟΓΩΝ"**

ΨΑΘΑ ΑΓΓΕΛΙΚΗ

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής 2016

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1. Δρ. Ζωή Δανιήλ, *Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Πνευμονολογίας, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας (Επιβλέπουσα)*

2. Δρ. Κωνσταντίνος Ι. Γουργουλιάνης, *Καθηγητής Πνευμονολογίας, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*

3. Δρ. Λάζαρος Σακκάς, *Καθηγητής Ρευματολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας*

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ	5
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ	11
<i>A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</i>	14
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΕΣ ΣΥΛΛΟΓΕΣ	15
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΑΓΓΕΙΑΚΟΣ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΟΣ ΑΥΞΗΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ (Vascular Endothelial Growth Factor)	32
2.1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ	32
2.2. ΜΕΛΗ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ VEGF	34
2.3. ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΙΣΟΜΟΡΦΩΝ ΤΟΥ VEGF	35
2.4. ΡΥΘΜΙΣΤΕΣ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ VEGF-A	38
Συγκέντρωση οξυγόνου	38
Ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια	38
Κυτταροκίνες και άλλοι μεσολαβητές	39
Ορμόνες	39
Άλλοι παράγοντες	40
2.5. ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΟΥ VEGF (VEGFRs)	42
VEGFR-1	44
VEGFR-2	45
VEGFR-3	45
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΟΥ VEGF-A	47
3.1. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΝΕΩΝ ΑΓΓΕΙΩΝ	47
3.1.1 ΠΡΩΙΜΗ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ VEGF-A ΣΤΟ ΑΓΓΕΙΑΚΟ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟ:	

ΑΥΞΗΣΗ ΤΗΣ ΑΓΓΕΙΑΚΗΣ ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑΣ	49
3.1.2 ΟΨΙΜΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΟΥ VEGF-A ΣΤΟ ΑΓΓΕΙΑΚΟ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟ	54
3.2 ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ VEGF-A ΣΕ ΑΛΛΑ ΚΥΤΤΑΡΑ	55
3.3 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ VEGF ΜΕ ΑΛΛΟΥΣ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΤΙΚΟΥΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ.....	55
3.4. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ VEGF ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ	56
3.5 ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ VEGF ΚΑΙ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΤΟΥ ΣΤΟΝ ΠΝΕΥΜΟΝΑ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ.....	57
3.6 ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΥΓΡΑ ΚΑΤΑΛΛΗΛΑ ΓΙΑ ΤΗ ΜΕΤΡΗΣΗ VEGF.....	58
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. Ο VEGF ΣΕ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ ΚΑΙ ΤΟΥ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ	59
4.1.1. ΟΞΕΙΑ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΒΛΑΒΗ ΚΑΙ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΟΞΕΙΑΣ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΗΣ ΔΥΣΧΕΡΕΙΑΣ.....	59
4.1.2. ΑΣΘΜΑ	61
4.1.3. ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΥΠΕΡΤΑΣΗ.....	62
4.1.4. ΙΔΙΟΠΑΘΗΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΙΝΩΣΗ.....	64
4.1.5 ΣΑΡΚΟΕΙΔΩΣΗ.....	65
4.1.6 ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΑΠΟΦΡΑΚΤΙΚΗΣ ΑΠΝΟΙΑΣ ΣΤΟΝ ΥΠΝΟ	66
4.1.7. ΦΥΜΑΤΙΩΣΗ.....	67
4.1.8 ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΝΕΟΠΛΑΣΙΑΣ, ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ.....	67
4.2. ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ.....	69
4.2.1 ΚΑΚΟΗΘΕΙΣ ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΕΣ ΣΥΛΛΟΓΕΣ.....	70

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ. Προσδιορισμός της τιμής του VEGF στο υπεζωκοτικό υγρό και τον ορό ασθενών με αδιάγνωστες λεμφοκυτταρικές υπεζωκοτικές

συλλογές	73
2. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	95
3. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	101
4. ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ	121
4. ΑΓΓΛΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ	124

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΕΣ ΣΥΛΛΟΓΕΣ

Η υπεζωκοτική κοιλότητα αποτελεί ένα συνδετικό σύστημα μεταξύ του πνεύμονα και του θωρακικού τοιχώματος. Το λεπτό στρώμα υγρού, που φυσιολογικά διαχωρίζει τον τοιχωματικό από το σπλαχνικό υπεζωκότα, θεωρείται ότι διευκολύνει τις κινήσεις του πνεύμονα μέσα στη θωρακική κοιλότητα και προέρχεται από τα τριχοειδή του τοιχωματικού υπεζωκότα (1). Σχεδόν όλο αυτό το υγρό απομακρύνεται με τα λεμφαγγεία του τοιχωματικού υπεζωκότα, τα οποία έχουν την ικανότητα να απομακρύνουν τουλάχιστον 0.20 mL/Kg/h. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η ικανότητα των λεμφαγγείων να απομακρύνουν το υγρό ξεπερνά το φυσιολογικό ρυθμό παραγωγής του κατά 20 φορές.

ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΩΝ ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΩΝ ΣΥΛΛΟΓΩΝ

Μια υπεζωκοτική συλλογή δημιουργείται όταν ο ρυθμός παραγωγής του υπεζωκοτικού υγρού ξεπεράσει το ρυθμό απορρόφησής του. Οι κύριοι παράγοντες που οδηγούν σε αυξημένη παραγωγή του υπεζωκοτικού υγρού ή μειωμένη απορρόφησή του απεικονίζεται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1. Γενικά Αίτια Υπεζωκοτικών Συλλογών

Αυξημένη παραγωγή υπεζωκοτικού υγρού

Αυξημένη ποσότητα διάμεσου υγρού στον πνεύμονα

Ανεπάρκεια της αριστεράς κοιλίας, πνευμονία και πνευμονική εμβολή

Αυξημένη ενδαγγειακή πίεση στον υπεζωκότα

Ανεπάρκεια της δεξιάς ή της αριστεράς κοιλίας, σύνδρομο άνω κοίλης φλέβας

Αυξημένη διαπερατότητα των τριχοειδών του υπεζωκότα

Φλεγμονή του υπεζωκότα

Αυξημένα επίπεδα αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα

Αυξημένα επίπεδα πρωτεϊνών στο υπεζωκοτικό υγρό

Μειωμένη υπεζωκοτική πίεση

Ατελεκτασία πνεύμονα ή αυξημένη ελαστική επαναφορά του πνεύμονα

Αυξημένο υγρό στην περιτοναϊκή κοιλότητα

Ασκίτης ή περιτοναϊκή κάθαρση

Ρήξη του θωρακικού πόρου

Ρήξη αιμοφόρων αγγείων στο θώρακα

Μειωμένη απορρόφηση του υπεζωκοτικού υγρού

Απόφραξη λεμφαγγείων που παροχετεύουν τον τοιχωματικό υπεζωκότα

Αύξηση των συστηματικών αγγειακών πιέσεων

Σ.Α.Κ.Φ. ή δεξιά κοιλιακή ανεπάρκεια

Ρήξη του συστήματος των υδατοπορινών του υπεζωκότα

ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΔΙΔΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΑΠΟ ΤΙΣ ΕΞΙΔΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΣΥΛΛΟΓΕΣ

Υπεζωκοτική συλλογή μπορεί να εμаниστεί ως επιπλοκή πολλών διαφορετικών παθήσεων (Πίνακας 2.)

Η συγκέντρωση κλινικά ανιχνεύσιμης ποσότητας υπεζωκοτικού υγρού είναι ευκρινώς παθολογική. Θα πρέπει να επιχειρείται διαγνωστική παρακέντηση του θώρακα οποτεδήποτε το πάχος του υπεζωκοτικού υγρού στο υπερηχογράφημα ή στην κατακεκλιμένη ακτινογραφία είναι μεγαλύτερο από 10 mm ή οποτεδήποτε αναδεικνύεται στο υπερηχογράφημα εγκυστωμένη υπεζωκοτική συλλογή εκτός εάν η αιτιολογία της συλλογής είναι γνωστή. Μια διαγνωστική παρακέντηση του θώρακα που πραγματοποιείται σωστά διαρκεί λιγότερο από 10 λεπτά και δε θα πρέπει να προκαλεί περισσότερη νοσηρότητα σε σχέση με τη φλεβοκέντηση. Οι διαθέσιμες πληροφορίες από την εξέταση του υπεζωκοτικού υγρού είναι πολύτιμες για την αντιμετώπιση του ασθενή.

Οι υπεζωκοτικές συλλογές διαιρούνται κλασσικά σε διδρώματα και εξιδρώματα. Οι Light και συν. (2,3) έχουν αποδείξει ότι με τη χρήση ταυτόχρονης λήψης των τιμών των πρωτεϊνών και της γαλακτικής δεϋδρογενάσης (LDH) του ορού και του υπεζωκοτικού υγρού, μπορεί να ταξινομηθεί σωστά το 99 % των υπεζωκοτικών συλλογών είτε ως διδρώματα ή ως εξιδρώματα. Οι εξιδρωματικές υπεζωκοτικές συλλογές πληρούν τουλάχιστον ένα από τα ακόλουθα κριτήρια, ενώ οι διδρωματικές υπεζωκοτικές συλλογές δεν πληρούν κανένα (κριτήρια του Light):

1. Λόγος πρωτεϊνών του υπεζωκοτικού υγρού προς τις πρωτεΐνες ορού μεγαλύτερος από 0.5
2. Λόγος LDH υπεζωκοτικού υγρού προς την LDH του ορού μεγαλύτερος από 0.6
3. Τιμή LDH υπεζωκοτικού υγρού μεγαλύτερη από τα δύο τρίτα του ανώτερου ορίου της

φυσιολογικής τιμής LDH του ορού

Πρόσφατα, άλλες εξετάσεις έχουν προταθεί για το διαχωρισμό των διδρωμάτων από τα εξιδρώματα. Οι εξετάσεις που έχουν προταθεί για την ανάδειξη των υπεζωκοτικών εξιδρωμάτων περιλαμβάνουν επίπεδα χοληστερόλης του υπεζωκοτικού υγρού μεγαλύτερα από 60 mg/dl, επίπεδα χοληστερόλης υπεζωκοτικού υγρού μεγαλύτερα από 45 mg/dl, διαφορά μεταξύ των επιπέδων αλβουμίνης του υπεζωκοτικού υγρού και του ορού μικρότερη από 1.2 g/dl, αναλογία επιπέδων χολερυθρίνης του υπεζωκοτικού υγρού σε σχέση με του ορού άνω του 0.6, υψηλό ιξώδες του υπεζωκοτικού υγρού, υψηλό επίπεδο δεικτών του οξειδωτικού stress, διαλυτή σελεκτίνη λευκοκυττάρων, κυτταροκίνες, ουρικό οξύ και αναλογία επιπέδων χοληστερενάσης του υπεζωκοτικού υγρού σε σχέση με του ορού άνω του 0.23 (3,4).

Το πρώτο ερώτημα όσον αφορά στην αποτίμηση ενός ασθενούς με υπεζωκοτική συλλογή είναι εάν η συλλογή είναι διίδρωμα ή εξίδρωμα. Μια διδρωματική υπεζωκοτική συλλογή αναπτύσσεται όταν οι συστηματικοί παράγοντες που επηρεάζουν το σχηματισμό ή την απορρόφηση του υπεζωκοτικού υγρού μεταβάλλονται έτσι ώστε να συσσωρεύεται υπεζωκοτικό υγρό. Εάν η συλλογή είναι διίδρωμα, δεν είναι αναγκαίες περαιτέρω διαγνωστικές διαδικασίες του υπεζωκότα και η θεραπεία στοχεύει στην υποκείμενη ΣΚΑ, κίρρωση ή νεφρική νόσο. Στην αντίθετη περίπτωση που η συλλογή αποδειχτεί ότι είναι εξίδρωμα, ενδείκνυται μια περισσότερο ενδελεχής διαγνωστική διερεύνηση για την εξακρίβωση της αιτίας της συλλογής.

Πίνακας 2. Διαφορική διάγνωση υπεζωκοτικών συλλογών

I. Διυδροματική υπεζωκοτική συλλογή

A. Συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια

B. Κίρρωση

C. Νεφρωσικό σύνδρομο

D. Σύνδρομο άνω κοίλης φλέβας

E. Χειρουργική επέμβαση Fontan

F. Ουροθώρακας

G. Περιτοναϊκή κάθαρση

H. Σπειραματονεφρίτιδα

I. Μυξοίδημα

J. Διαρροή ENY στον υπεζωκότα

K. Υπολευκωματιναιμία

L. Σαρκοείδωση

II. Εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή

A. Νεοπλασματικά νοσήματα

1. Μεταστατική νόσος

2. Μεσοθηλίωμα

3. Λέμφωμα σε κοιλότητες του σώματος

B. Λοιμώδη νοσήματα

1. Βακτηριακές λοιμώξεις

2. Φυματίωση

3. Μυκητιασικές λοιμώξεις

2. Υπεζωκοτική συλλογή εμβρύου

3. Υπεζωκοτική συλλογή λοχειάς

4. Σύνδρομο Meigs

5. Ενδομητρίωση

G. Νοσήματα του κολλαγόνου

1. Ρευματοειδής πλευρίτιδα

2. Συστηματικός Ερυθηματώδης

Λύκος (SLE)

3. Φαρμακευτικός λύκος

4. Ανοσοβλαστική λεμφαδενοπάθεια

5. Σύνδρομο Sjogren

6. Οικογενής μεσογειακός πυρετός

7. Σύνδρομο Churg-Strauss

8. Κοκκιωμάτωση Wegener

H. Σχετιζόμενη με φάρμακα νόσος

1. Νιτροφουραντοΐνη

2. Δαντρολένιο

3. Μεθυλσεργίδη

4. Παράγωγα εργοταμίνης

5. Αμιωδαρόνη

6. Ιντερλευκίνη-2

7. Προκαρβαζίνη

8. Μεθοτρεξάτη

4. Παρασιτικές λοιμώξεις

5. Ιογενείς λοιμώξεις

C. Πνευμονική εμβολή

D. Γαστρεντερική νόσος

1. Παγκρεατική νόσος

2. Υποδιαφραγματικό απόστημα

3. Ενδοηπατικό απόστημα

4. Ενδοσπληνικό απόστημα

5. Ρήξη οισοφάγου

6. Μετά από χειρουργική επέμβαση στην
κοιλιά

8. Ενδοσκοπική κίρσοειδής σκλήρυνση

9. Μετά από μεταμόσχευση ήπατος

E. Καρδιακά νοσήματα

1. Αορτοστεφανιαία παράκαμψη

2. Σύνδρομο μετά καρδιοτομή

3. Περικαρδιακή νόσος

F. Μαιευτικά, γυναικολογικά νοσήματα

1. Σύνδρομο υπερδιέγερσης ωοθηκών

9. Κλοζαπίνη

I. Διάφορα νοσήματα

1. Έκθεση σε αμίαντο

2. Μεταμόσχευση πνεύμονα

3. Μεταμόσχευση μυελού οστών

4. Σύνδρομο κίτρινων ούχων

5. Σαρκοείδωση

6. Ουραιμία

7. Θωρακισμένος πνεύμονας

8. Σύνδρομο οξείας αναπνευστικής
δυσχέρειας

9. Πνιγμός

10. Αμυλοείδωση

11. Ηλεκτρικά εγκαύματα

12. Εξωμυελική αιμοποίηση

13. Ρήξη κύστης μεσοθωρακίου

14. Νόσος Whipple

J. Αιμοθώρακας

K. Χυλοθώρακας

ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ ΡΟΥΤΙΝΑΣ ΣΤΟ ΕΞΙΔΡΩΜΑΤΙΚΟ ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΟ ΥΓΡΟ

Όταν ένας ασθενής έχει μια αδιάγνωστη εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή θα πρέπει να πραγματοποιείται μια σειρά από διαγνωστικές εξετάσεις οι οποίες περιλαμβάνουν την καταμέτρηση των κυττάρων του υγρού και τον προσδιορισμό του τύπου τους, τον υπολογισμό των επιπέδων της γλυκόζης και της LDH, την εξέταση του υγρού για την πιθανή παρουσία καρκινικών κυττάρων και τον έλεγχο ενός δείκτη για τη διάγνωση της φυματίωσης.

Προσδιορισμός των Κυττάρων του Υπεζωκοτικού Υγρού

Σε ασθενείς με εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή, ο αριθμός και ο τύπος των κυττάρων παρέχουν πληροφορίες για την αιτιολογία της υπεζωκοτικής συλλογής. Όταν υπερτερούν τα ουδετερόφιλα στο υπεζωκοτικό υγρό, μια οξεία πάθηση έχει προκαλέσει τη συλλογή του υγρού και για το λόγο αυτό θα πρέπει να πραγματοποιείται ακτινογραφία θώρακα για να διαπιστωθεί η ύπαρξη πνευμονικών διηθημάτων. Η παρουσία διηθημάτων υποδηλώνει ότι ο ασθενής πιθανώς έχει παραπνευμονική συλλογή παρόλο που τα πνευμονικά έμβολα και το βρογχογενές καρκίνωμα θα πρέπει επίσης να ληφθούν υπόψη σαν πιθανές διαγνώσεις. Σε περίπτωση που ο ασθενής με εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή η οποία περιέχει κυρίως πολυμορφοπύρηνα λευκοκύτταρα δεν εμφανίζει παρεγχυματικά διηθήματα είναι πιθανότερο να πάσχει από πνευμονική εμβολή, ιογενή λοίμωξη, γαστρεντερική νόσο, υπεζωκοτική συλλογή λόγω αμιάντωσης ή οξεία φυματιώδη πλευρίτιδα. Σύμφωνα με τα παραπάνω, ο ασθενής θα πρέπει να υποβάλλεται σε αξονική τομογραφία πνευμονικών αγγείων ή σε σπινθηρογράφημα αιμάτωσης για την αποκάλυψη πνευμονικής εμβολής. Θα πρέπει να λαμβάνεται προσεκτικά το ιστορικό προκειμένου να αποκαλυφθεί εάν υπάρχει έκθεση σε

αμιάντο. Ένας δείκτης για τη φυματίωση αδενοδιαμινάση [ADA] ή ιντερφερόνη γάμμα) θα αποκαλύψει εάν ο ασθενής έχει φυματίωση, ενώ η κυτταρολογική εξέταση αποτελεί την πρώτη προσέγγιση για τη διαπίστωση κακοήθειας (5).

Ο ασθενής με εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή η οποία αποτελείται κυρίως από μονοπύρηννα κύτταρα έχει μια χρόνια νόσο η οποία αφορά την υπεζωκοτική κοιλότητα. Η κακοήθεια, η πνευμονική εμβολή, η υπεζωκοτική συλλογή μετά από αορτοστεφανιαία παράκαμψη και η φυματίωση αποτελούν τις τέσσερις συχνότερες αιτίες αυτής της εικόνας του υπεζωκοτικού υγρού. Και στην περίπτωση αυτή, η κυτταρολογική εξέταση του υπεζωκοτικού υγρού αποτελεί το πρώτο βήμα για τη διαπίστωση πιθανής κακοήθειας. Το ιστορικό του ασθενή θα αποκαλύψει την πραγματοποίηση αορτοστεφανιαίας παράκαμψης κατά το προηγούμενο έτος. Αυξημένα επίπεδα ADA ή ιντερφερόνης γάμμα στο υπεζωκοτικό υγρό θέτουν τη διάγνωση της φυματιώδους πλευρίτιδας. Αν καμία από τις παραπάνω εξετάσεις δεν είναι θετική, η πιθανότητα πνευμονικής εμβολής θα πρέπει να εκτιμάται με την πραγματοποίηση αξονικής τομογραφίας πνευμονικών αγγείων ή σπινθηρογράφηματος αιμάτωσης πνευμόνων (5,6).

Η γλυκόζη του Υπεζωκοτικού Υγρού

Συνιστάται η μέτρηση της γλυκόζης του υπεζωκοτικού υγρού διότι η παρουσία χαμηλών επιπέδων γλυκόζης στο υπεζωκοτικό υγρό (<60 mg/Dl) μειώνει δραματικά το φάσμα των διαγνωστικών πιθανοτήτων. Οι περισσότεροι ασθενείς με χαμηλά επίπεδα γλυκόζης στο υπεζωκοτικό υγρό (<60 mg/Dl) πάσχουν από μια από τις παρακάτω τέσσερις κατηγορίες: παραπνευμονική συλλογή, κακοήθη υπεζωκοτική συλλογή, φυματιώδη πλευρίτιδα ή ρευματοειδή αρθρίτιδα (5,7). Άλλες σπάνιες αιτίες υπεζωκοτικής συλλογής με χαμηλά επίπεδα γλυκόζης είναι η παραγονιμίαση, το σύνδρομο Churg-Strauss, ο ουροθώρακας και

σπανιότερα η πλευρίτιδα του λύκου. Οι περισσότεροι ασθενείς με χαμηλά επίπεδα γλυκόζης στο υπεζωκοτικό υγρό έχουν επιπλέον και χαμηλά επίπεδα pH και αυξημένα επίπεδα LDH στο υπεζωκοτικό υγρό.

Ασθενείς με παραπνευμονική συλλογή ή φυματιώδη πλευρίτιδα μπορεί να έχουν έναρξη οξείας νόσου, η οποία χαρακτηρίζεται από πυρετό, βήχα και άλγος πλευριτικού τύπου καθώς και χαμηλά επίπεδα γλυκόζης στο υπεζωκοτικό υγρό. Ο διαφορετικός τύπος κυττάρων στο υπεζωκοτικό υγρό είναι χρήσιμη πληροφορία για τη διαφορική διάγνωση, γιατί οι περισσότεροι ασθενείς με παραπνευμονική συλλογή έχουν κυρίως ουδετερόφιλα στο υπεζωκοτικό υγρό ενώ οι περισσότεροι ασθενείς με φυματιώδη πλευρίτιδα έχουν κυρίως λεμφοκύτταρα.

Ασθενείς με υποξεία ή χρόνια συμπτώματα, με χαμηλά επίπεδα γλυκόζης στο υπεζωκοτικό υγρό μπορεί να έχουν κακοήθη υπεζωκοτική συλλογή, ρευματοειδή αρθρίτιδα, φυματίωση ή χρόνια βακτηριακή λοίμωξη. Η διάγνωση της ρευματοειδούς πλευρίτιδας είναι συνήθως εύκολη. Η διαφορική διάγνωση ανάμεσα στη φυματίωση, την κακοήθεια και τη χρόνια βακτηριακή λοίμωξη μπορεί να είναι δυσκολότερη. Η κυτταρολογική εξέταση του υπεζωκοτικού υγρού είναι συνήθως θετική για την ύπαρξη κακοήθων κυττάρων σε ασθενείς με κακοήθη υπεζωκοτική συλλογή και χαμηλά επίπεδα γλυκόζης στο υπεζωκοτικό υγρό. Ένας δείκτης του υπεζωκοτικού υγρού για τη φυματίωση θα πρέπει να είναι θετικός στην περίπτωση της φυματιώδους πλευρίτιδας ενώ τα ουδετερόφιλα θα πρέπει να επικρατούν στο υπεζωκοτικό υγρό των ασθενών με χρόνια βακτηριακή λοίμωξη.

Γαλακτική δεϋδρογενάση του Υπεζωκοτικού Υγρού

Τα επίπεδα της LDH στο υπεζωκοτικό υγρό αποτελούν έναν αξιόπιστο δείκτη του βαθμού της φλεγμονής του υπεζωκότα. Εάν σε επαναλαμβανόμενες παρακεντήσεις, τα επίπεδα της

LDH αυξάνονται, ο βαθμός της φλεγμονής της υπεζωκοτικής κοιλότητας βαθμιαία επιδεινώνεται και θα πρέπει να επιδιώκεται ταχύτερα η διάγνωση. Αντίθετα, εάν τα επίπεδα της LDH στο υπεζωκοτικό υγρό μειώνονται με τις επαναλαμβανόμενες παρακεντήσεις, ο βαθμός της φλεγμονής στην υπεζωκοτική κοιλότητα σταδιακά υποχωρεί και για το λόγο αυτό δεν χρειάζεται επιθετικότητα στην αντιμετώπιση του ασθενούς.

Κυτταρολογική Εξέταση του Υπεζωκοτικού Υγρού

Εάν ένας ασθενής έχει κακοήθεια, η κυτταρολογική εξέταση του υγρού είναι γρήγορη, αποτελεσματική και ελάχιστα επεμβατική μέθοδος με την οποία τίθεται η διάγνωση. Το ποσοστό των κακοήθων κυττάρων στο υπεζωκοτικό υγρό, το οποίο διαπιστώνεται με την κυτταρολογική εξέταση έχει αναφερθεί ότι κυμαίνεται μεταξύ 40-87 %. Υπάρχουν διάφοροι παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν τη διαγνωστική προσέγγιση με κυτταρολογική εξέταση. Τα περισσότερα αδενοκαρκινώματα διαγιγνώσκονται με την κυτταρολογική εξέταση, αλλά η επιτυχία είναι μικρότερη με τα πλακώδη καρκινώματα, τη νόσο του Hodgkin's και τα σαρκώματα. Εξαρτάται από την έκταση του όγκου-όσο μεγαλύτερη είναι η έκταση του όγκου στην υπεζωκοτική κοιλότητα τόσο πιθανότερο είναι η κυτταρολογική εξέταση να είναι θετική (6,205).

Δείκτες Υπεζωκοτικού Υγρού για τη Διάγνωση της Φυματίωσης

Κατά τη διάρκεια των τελευταίων 40ετών η διάγνωση της φυματιώδους πλευρίτιδας τίθονταν συνήθως με την πραγματοποίηση βιοψίας του υπεζωκότα με βελόνη. Σήμερα

ωστόσο, είναι πιθανή η διάγνωση της φυματιώδους πλευρίτιδας με τη μέτρηση της ADA ή των επιπέδων ιντερφερόνης-γ στο υπεζωκοτικό υγρό.

Επίπεδα αδενοδεαμινάσης (ADA) στο υπεζωκοτικό υγρό

Η διάγνωση της φυματίωσης τίθεται όταν τα επίπεδα της ADA στο υπεζωκοτικό υγρό είναι πάνω από 40 U/L και ο ασθενής έχει κυρίως λεμφοκύτταρα στο υπεζωκοτικό υγρό. Όσο υψηλότερα είναι τα επίπεδα της ADA στο υγρό τόσο πιθανότερο είναι ο ασθενής να παρουσιάζει φυματιώδη πλευρίτιδα. Οι δύο άλλες παθολογικές καταστάσεις οι οποίες τείνουν να εμφανίζουν υψηλά επίπεδα ADA στο υπεζωκοτικό υγρό είναι το εμπύημα και η ρευματοειδής πλευρίτιδα, οι οποίες μπορούν να διακριθούν από τη φυματιώδη πλευρίτιδα με τη βοήθεια της κλινικής εικόνας (8).

Επίπεδα ιντερφερόνης-γ στο υπεζωκοτικό υγρό

Τα επίπεδα της ιντερφερόνης-γ στο υπεζωκοτικό υγρό είναι επίσης αυξημένα στη φυματιώδη πλευρίτιδα. Τα επίπεδα ιντερφερόνης-γ στο υπεζωκοτικό υγρό είναι πολύ χρήσιμα στη διαφοροδιάγνωση της φυματιώδους από τη μη φυματιώδη υπεζωκοτική συλλογή. Χρησιμοποιώντας το όριο των 3.7 U/mL, οι Villena και συν. έδειξαν ότι η εξέταση αυτή εμφάνισε ευαισθησία 0.98 και ειδικότητα 0.98 σε μια σειρά 595 περιστατικών με υπεζωκοτική συλλογή συμπεριλαμβανομένων 82 φυματιωδών συλλογών (6).

ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΕΣ ΛΥΣΕΙΣ ΟΤΑΝ ΔΕΝ ΤΙΘΕΤΑΙ Η ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΡΧΙΚΗ ΠΑΡΑΚΕΝΤΗΣΗ ΤΟΥ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ

Αν δεν τεθεί διάγνωση μετά την αρχική παρακέντηση του θώρακα, η οποία περιλαμβάνει και τη μέτρηση ενός δείκτη του υγρού για τη φυματίωση και την πραγματοποίηση κυτταρολογικής εξέτασης, το πρώτο πράγμα το οποίο συνιστάται είναι η πραγματοποίηση αξονικής τομογραφίας πνευμονικών αγγείων. Με την πραγματοποίηση αξονικής τομογραφίας πνευμονικών αγγείων η πιθανότητα πνευμονικής εμβολής μπορεί να εκτιμηθεί και η παρουσία πνευμονικών διηθημάτων, μάζας του υπεζωκότα ή λεμφαδενοπάθειας του μεσοθωρακίου μπορεί επίσης να διαπιστωθεί. Εάν η αξονική τομογραφία πνευμονικών αγγείων δεν αναδείξει πνευμονική εμβολή, υπάρχουν άλλες πέντε δυνατότητες για τον ιατρό, οι οποίες περιλαμβάνουν την παρακολούθηση, τη βρογχοσκόπηση, τη θωρακοσκόπηση, την πραγματοποίηση βιοψίας του υπεζωκότα με βελόνα ή τη θωρακοτομή με ανοικτή βιοψία (6,9).

ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ

Αυτή αποτελεί πιθανώς την καλύτερη επιλογή εάν ο ασθενής βελτιώνεται και δεν υπάρχουν παρεγχυματικά διηθήματα. Να λαμβάνεται υπόψη ότι η διάγνωση δεν τίθεται τελικά περίπου στο 15 % των ασθενών με εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή. Εάν ο ασθενής έχει κακοήθεια, είναι απίθανο να συμβεί αυτόματη βελτίωση. Εάν ο ασθενής έχει πνευμονική εμβολή, η διάγνωση θα πρέπει να τεθεί με την πραγματοποίηση αξονικής τομογραφίας πνευμονικών αγγείων, ενώ εάν ο ασθενής έχει φυματιώδη πλευρίτιδα, ένας από τους ειδικούς

δείκτες του υπεζωκοτικού υγρού για φυματίωση θα πρέπει να είναι ειδικός.

ΒΡΟΓΧΟΣΚΟΠΗΣΗ

Η βρογχοσκόπηση είναι χρήσιμη για τη διάγνωση των υπεζωκοτικών συλλογών μόνο εάν υπάρχει μια από τις τέσσερις παρακάτω καταστάσεις: (α) Υπάρχει πνευμονικό διήθημα στην ακτινογραφία θώρακα ή στην αξονική τομογραφία θώρακα. Στην περίπτωση αυτή θα πρέπει να υπάρχει μεγάλη προσοχή στην περιοχή στην οποία εντοπίζεται το διήθημα (β) Υπάρχει αιμόπτυση. Η αιμόπτυση σε συνδυασμό με την παρουσία υπεζωκοτικής συλλογής συνηγορεί υπέρ της ύπαρξης ενδοβρογχικής βλάβης (γ) Η υπεζωκοτική συλλογή είναι μαζική, δηλαδή καταλαμβάνει πάνω από τα τρία τέταρτα του ημιθωρακίου (δ) Το μεσοθωράκιο έλκεται προς την πλευρά της συλλογής. Στην περίπτωση αυτή είναι πιθανόν να υπάρχει ενδοβρογχική βλάβη. Σε ασθενείς με υπεζωκοτική συλλογή και θετική κυτταρολογική αλλά χωρίς αιμόπτυση ή παρεγχυματικά διηθήματα, η βρογχοσκόπηση δε θα αποκαλύψει τον πρωτοπαθή όγκο (7).

ΘΩΡΑΚΟΣΚΟΠΗΣΗ

Στη διάγνωση των παθήσεων του υπεζωκότα οι θωρακοσκοπικές τεχνικές – θωρακοσκόπηση υπό τοπική αναισθησία (medical thoracoscopy) και θωρακοσκοπική χειρουργική με τη βοήθεια video (VATS) – θα πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο όταν οι

λιγότερο επεμβατικές μέθοδοι όπως η παρακέντηση του θώρακα, η κυτταρολογική εξέταση και η μέτρηση των δεικτών της φυματίωσης δεν επιτυγχάνουν να θέσουν τη διάγνωση. Εάν ο ασθενής έχει κακοήθεια, η θωρακοσκόπηση θα θέσει τη διάγνωση σε περισσότερο από το 90 % των περιπτώσεων και η διάγνωση του μεσοθελιώματος είναι πιο εύκολο να τεθεί με θωρακοσκόπηση. Η θωρακοσκόπηση μπορεί να θέσει και τη διάγνωση της φυματίωσης. Ένα πλεονέκτημα της θωρακοσκόπησης στη διάγνωση των παθήσεων του υπεζωκότα είναι ότι κατά τη διάρκεια της επέμβασης μπορεί να πραγματοποιηθεί πλευρόδεση. Θα πρέπει να τονισθεί ωστόσο, ότι η θωρακοσκόπηση σπάνια θέτει τη διάγνωση των καλοήθων νοσημάτων. Η θωρακοσκόπηση ενδείκνυται σε ασθενείς με αδιάγνωστη υπεζωκοτική συλλογή η οποία δεν βελτιώνεται αυτόματα και σε εκείνους οι οποίοι έχουν αυξημένη πιθανότητα να πάσχουν από κακοήθεια ή φυματίωση (205-206).

ΒΙΟΨΙΑ ΤΟΥ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ ΜΕ ΒΕΛΟΝΗ

Η κύρια χρήση της βιοψίας του υπεζωκότα με βελόνα τα τελευταία 40 έτη ήταν για τη διάγνωση της φυματιώδους πλευρίτιδας. Ωστόσο, οι δείκτες για τη φυματίωση οι οποίοι προσδιορίζονται στο υπεζωκοτικό υγρό είναι αποτελεσματικοί για να θέσουν τη διάγνωση. Τα τελευταία χρόνια, με την εμφάνιση της πολυανθεκτικής φυματίωσης, οι καλλιέργειες για το μυκοβακτηρίδιο της φυματίωσης είναι πολύ σημαντικές για την καθοδήγηση της θεραπείας. Μερικοί συνιστούν την πραγματοποίηση βιοψίας με βελόνα έτσι ώστε το δείγμα του υπεζωκότα να μπορεί να καλλιεργηθεί. Ωστόσο, μόνο το 33 % των ασθενών με φυματιώδη πλευρίτιδα έχουν θετική καλλιέργεια της βιοψίας και αρνητική καλλιέργεια του υπεζωκοτικού υγρού.

Η βιοψία υπεζωκότα μπορεί επίσης να θέσει τη διάγνωση της κακοήθους υπεζωκοτικής

συλλογής. Ωστόσο, στις περισσότερες σειρές που μελετήθηκαν, η κυτταρολογική εξέταση του υπεζωκοτικού υγρού είναι πολύ πιο ευαίσθητη για την πραγματοποίηση της διάγνωσης. Εάν η κυτταρολογική εξέταση του υγρού είναι αρνητική, η βιοψία του υπεζωκότα συνήθως δεν είναι διαγνωστική. Επειδή η θωρακοσκόπηση είναι διαγνωστική σε ποσοστό υψηλότερο από το 90 % των ασθενών με κακοήθεια του υπεζωκότα και αρνητική κυτταρολογική εξέταση, αποτελεί τη διαγνωστική εξέταση επιλογής για έναν ασθενή με αρνητική κυτταρολογική εξέταση του υπεζωκοτικού υγρού στον οποίο τίθεται υποψία κακοήθειας. Επομένως, η βιοψία του υπεζωκότα με βελόνη ενδείκνυται στην περίπτωση που ο ασθενής έχει αδιάγνωστη υπεζωκοτική συλλογή η οποία δεν βελτιώνεται και δεν υπάρχει η δυνατότητα θωρακοσκόπησης. Επίσης, ενδείκνυται σε περίπτωση που τίθεται υποψία φυματίωσης και κανένας δείκτης φυματίωσης του υπεζωκοτικού υγρού δεν είναι διαγνωστικός η διαθέσιμος (206).

ΑΝΟΙΚΤΗ ΒΙΟΨΙΑ ΤΟΥ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ

Η ανοικτή θωρακοτομή με άμεση βιοψία του υπεζωκότα έχει αντικατασταθεί από τη θωρακοσκόπηση στα περισσότερα κέντρα. Η κύρια ένδειξη για την πραγματοποίηση ανοικτής βιοψίας υπεζωκότα (ή για τη θωρακοσκόπηση) είναι η προοδευτική αδιάγνωστη νόσος του υπεζωκότα. Αν και οι δύο εξετάσεις είναι διαθέσιμες, η θωρακοσκόπηση συνήθως προτιμάται εξαιτίας του ότι παρουσιάζει μικρότερη νοσηρότητα (6).

ΚΥΤΤΑΡΟΚΙΝΕΣ ΚΑΙ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑΣ

Οι κυτταροκίνες είναι διαλυτά πεπτίδια που εκκρίνονται από κύτταρα τα οποία επηρεάζουν τη συμπεριφορά είτε των ίδιων είτε γειτονικών κυττάρων μέσω μη ενζυμικών μέσων. Συχνά, είναι γλυκοπεπτίδια και εκλύουν τυπικά τις δράσεις τους σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις της τάξης των πικο-γραμμαρίων και νανο-γραμμαρίων. Σε αυτή την ευρεία τάξη υπάρχει ένας αριθμός υποκατηγοριών, συμπεριλαμβανομένων των αυξητικών παραγόντων των πολυπεπτιδίων, των ιντερλευκινών (ILs), των ιντερφερόνων και των παραγόντων ενεργοποίησης αποικιών. Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει αρκετές μελέτες σχετικά με την κατανόηση του ρόλου αυτών των πεπτιδίων. Για αυτό το λόγο δεν προκαλεί έκπληξη το γεγονός ότι υπάρχουν πολλές αναφορές που εκτιμούν τη διαγνωστική χρησιμότητα των επιπέδων διαφορετικών κυτταροκινών στο υπεζωκοτικό υγρό, όπως της ιντερλευκίνης-1,-2,-3,-4,-5,-6,-7,-8,-10,-12,-13,-16, του παράγοντα νέκρωσης των όγκων-α (TNF-α), του μετατρεπτικού παράγοντα β (TGF-β), του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF), του αυξητικού παράγοντα βασικών ινοβλαστών, της ενδοστατίνης, του παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (PAF), των μεταλλοπρωτεϊνών και των ιστικών αναστολέων των μεταλλοπρωτεϊνών (10,11,12). Γενικά, η μελέτη τους έχει δώσει ιδέες σχετικά με την παθογένεια και την ανάλυση της υπεζωκοτικής βλάβης. Πρακτικά, η διαγνωστική χρησιμότητα των επιπέδων των κυτταροκινών στο υπεζωκοτικό υγρό δεν έχει αποδειχθεί. Ως εκ τούτου, είναι επιτακτική η ανάγκη της εισαγωγής και περαιτέρω μελέτης κυτταροκινών που σχετίζονται με υπεζωκοτικές συλλογές και περαιτέρω κατανόησης του ρόλου τους στην ανίχνευση μιας πιθανής κακοήθειας που αποτελεί και την πιο σημαντική πρόκληση σε μια υπεζωκοτική συλλογή που παραμένει χωρίς διάγνωση.

Ο VEGF, επίσης γνωστός ως αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας, είναι μια

πολυλειτουργική κυτταροκίνη, η οποία έχει συνοπτικά τις εξής λειτουργίες: α) αυξάνει τη διαπερατότητα της κυκλοφορίας και β) είναι σημαντικός αγγειογενετικός και λεμφογενετικός παράγοντας (10-13). Έχει επίσης διατυπωθεί η υπόθεση ότι ο VEGF είναι σημαντικός στην αύξηση της διαπερατότητας των τριχοειδών του υπεζωκότα και στην αύξηση της ταχύτητας σχηματισμού του πλευριτικού υγρού. Ανιχνεύσιμα επίπεδα VEGF υπάρχουν σε όλες τις υπεζωκοτικές συλλογές. Έχουν δημοσιευτεί πολλές μελέτες οι οποίες ερευνούν το ρόλο του VEGF στις υπεζωκοτικές συλλογές με άλλοτε ενθαρρυντικά και άλλοτε απογοητευτικά αποτελέσματα. Γενικά, σε ασθενείς με εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή, τα επίπεδα στο υπεζωκοτικό υγρό είναι αρκετές φορές υψηλότερα σε σχέση με τον ορό υποδηλώνοντας τοπική παραγωγή. Τα επίπεδα του VEGF είναι υψηλότερα στα εξιδρώματα σε σχέση με τα διδρώματα, αλλά υπάρχει σημαντική αλληλοεπικάλυψη, ενώ τα επίπεδα του VEGF τείνουν να είναι υψηλότερα σε κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές συγκριτικά με τις φυματιώδεις ή τις παραπνευμονικές συλλογές, αλλά υπάρχει σημαντική αλληλοεπικάλυψη ώστε να μπορούν οι διαφορές αυτές να είναι χρήσιμες διαγνωστικά.

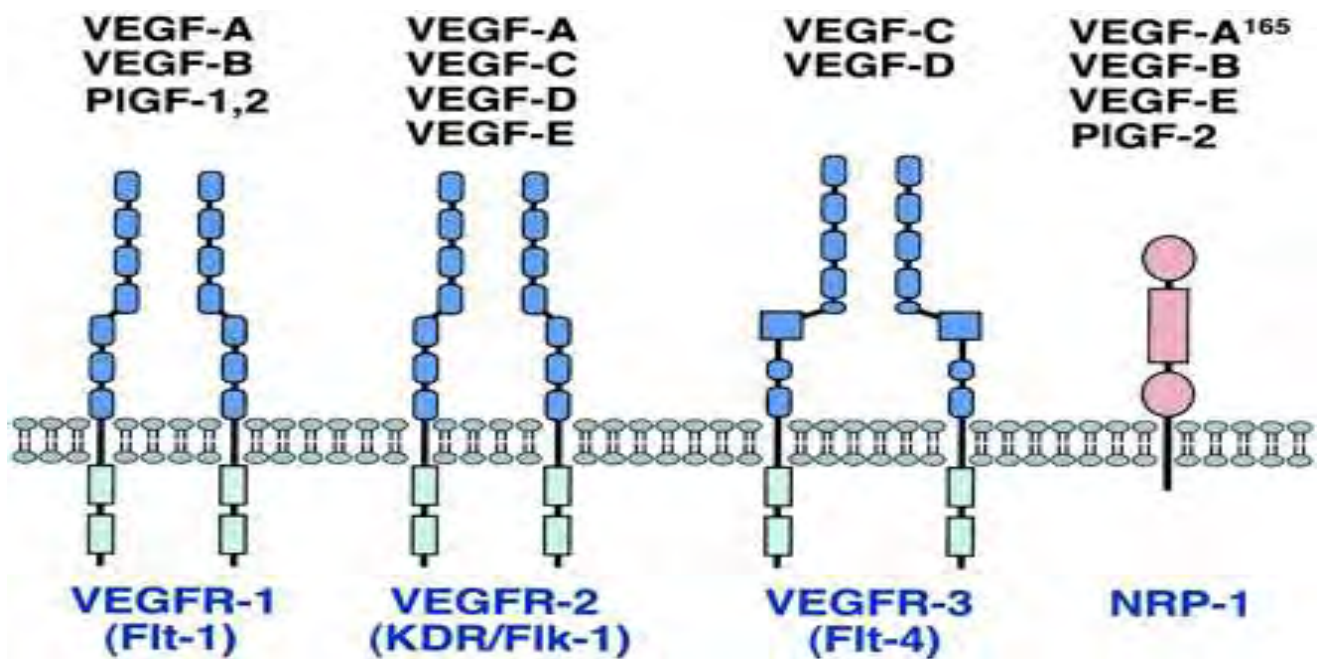
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΑΓΓΕΙΑΚΟΣ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΟΣ ΑΥΞΗΤΙΚΟΣ

ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ (Vascular Endothelial Growth Factor)

2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο παράγοντας αγγειακής διαπερατότητας (VPF)/αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας A (VEGF-A) αποτελεί το βασικό μέλος μιας οικογένειας στενά συνδεδεμένων κυτταροκινών οι οποίες ασκούν σημαντικό ρόλο στην αγγειογένεση και λεμφοαγγειογένεση τόσο σε φυσιολογικές όσο και σε παθολογικές συνθήκες. Ανακαλύφθηκε στα τέλη του 1970 και θεωρήθηκε μία ογκο-εκκρινόμενη πρωτεΐνη με δυνατότητα να προκαλεί αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας και να επιτρέπει τη διέλευση πρωτεϊνών του πλάσματος (9).

Ο VEGF-A αποτελεί μία πολυλειτουργική κυτταροκίνη η οποία ασκεί μια ποικιλία δράσεων στο ενδοθήλιο των αγγείων που έχουν ως αποτέλεσμα το σχηματισμό νέων αγγείων. Αυτό σε συνδυασμό με την αύξηση της μικροαγγειακής διαπερατότητας δίνει στον VEGF-A τη δυνατότητα να διεγείρει τη μετανάστευση και τη διαίρεση των ενδοθηλιακών κυττάρων, αλλάζει βαθιά το πρότυπο της γονιδιακής τους έκφρασης και τα προστατεύει από την απόπτωση και τη γήρανση (10-11). Φυσικά, όπως αναφέρθηκε και κατά την εισαγωγή, υπάρχουν αρκετοί αγγειογενετικοί παράγοντες, αλλά ο λόγος που ο VEGF-A έχει προκαλέσει τόσο μεγάλο επιστημονικό ενδιαφέρον έγκειται στις μοναδικές ιδιότητες αυτού του μορίου:



ΕΙΚΟΝΑ 1. Σχηματική παράσταση των VEGF υποδοχέων. Ο VEGFR-1 και ο VEGFR-2 εκφράζονται εκλεκτικά στα ενδοθηλιακά αγγειακά κύτταρα και ο VEGFR-3 στα κύτταρα των λεμφικών αγγείων των ενηλίκων αλλά και στα καρκινικών αγγείων. Η νευροπιλίνη (NRP-1) εκφράζεται στο αγγειακό ενδοθήλιο, στους νευρώνες και σε ορισμένα καρκινικά κύτταρα.

1. Ο VEGF-A έχει ουσιώδη ρόλο στη φυσιολογική αγγειογένεση καθώς έχει βρεθεί ότι έλλειψή του (VEGF-A $-/-$, VEGF-A \pm) οδηγεί σε εμβρυϊκό θάνατο (11-13).
2. Ο VEGF-A αυξάνει την αγγειακή διαπερατότητα· μία χαρακτηριστική ιδιότητα της μικροκυκλοφορίας του καρκίνου και ένα πρώτο βήμα στη δημιουργία του καρκινικού στρώματος (9-10, 14).
3. Ο VEGF-A είναι ένα εκλεκτικό μόριο για το αγγειακό ενδοθήλιο επειδή οι VEGF-A υποδοχείς κινάσης-τυροσίνης εκφράζονται εκλεκτικά (αν και όχι αποκλειστικά) στο αγγειακό ενδοθήλιο (Εικόνα 1) (15,16). Σε αντίθεση με τον VEGF-A, άλλες πρωτεΐνες δυνητικά περισσότερο μιτογόνες των ενδοθηλιακών κυττάρων (π.χ. fibroblast growth factor-2 [FGF-2]) είναι σχετικά μη εκλεκτικές για τα ενδοθηλιακά κύτταρα και ως εκ τούτου

προκαλούν διαίρεση σε πολλούς διαφορετικούς τύπους κυττάρων.

4. Έχει μεγάλο κλινικό ενδιαφέρον όπως αποδεικνύεται από την υπερέκφρασή του από τα ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα.

5. Η δυναμική του στον τομέα της πρόγνωσης αλλά και η επιλογή του ως θεραπευτικό στόχο.

2.2. ΜΕΛΗ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ VEGF

Πιο συγκεκριμένα, ο VEGF-A είναι μέλος μιας οικογένειας διμερών γλυκοπρωτεϊνών οι οποίες με τη σειρά τους ανήκουν στην υπεροικογένεια των αυξητικών παραγόντων που προέρχονται από τα αιμοπετάλια [platelet-derived growth factor (PDGF)]. Τα υπόλοιπα μέλη της VEGF οικογένειας περιλαμβάνουν τους: VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F και τον πλακουντιακό αυξητικό παράγοντα (PIGF) (17,18,19, 20). Όλα τα μέλη περιλαμβάνουν ένα κοινό ομόλογο VEGF τομέα. Αυτός ο τομέας αποτελείται από μια διακριτή περιοχή αποκαλούμενη περιοχή κόμβου κυστεΐνης (cysteine knot motif) που περιλαμβάνει οκτώ κατάλοιπα κυστεΐνης. Αυτά με τη σειρά τους εμπλέκονται με ενδομοριακούς δισουλφιδικούς δεσμούς και τελικώς το κάθε μονομερές περιλαμβάνει 4 β-πτυχωτά φύλλα αμινοξέων. Κάθε μονομερές διμερίζεται με αντιπαράλληλο προσανατολισμό.

Σε σχέση με το VEGF-A τα υπόλοιπα μέλη της VEGF-A οικογένειας έχουν πολύ λιγότερο μελετηθεί και οι υποδοχείς στους οποίους αρκετά μέλη της οικογένειας συνδέονται απεικονίζονται στην εικόνα 1.

Ο πλακουντιακός αυξητικός παράγοντας, όπως και το όνομά του υπαινίσσεται, εκφράζεται έντονα στον πλακούντα και θεωρείται ότι έχει βοηθητικό ρόλο στην παθολογική αγγειογένεση, ενισχύοντας το ρόλο του VEGF-A (18). Ποντίκια στα οποία έχει γενετικά απενεργοποιηθεί το VEGF-B είναι βιώσιμα, πλην όμως έχουν μικρές καρδιές, γεγονός που υπονοεί ότι αυτή η κυτταροκίνη έχει κάποιο ρόλο στην ανάπτυξη των στεφανιαίων αγγείων (21). Το VEGF-C δεσμεύεται από τον VEGFR-3 (Fig.1), εκφράζεται στο λεμφικό ενδοθήλιο και ως εκ τούτου εμπλέκεται στη λεμφαγγειογένεση. Όπως και το VEGF-C, με το οποίο σχετίζεται στενά, το VEGF-D είναι ένα μιτογόνο των ενδοθηλιακών κυττάρων και αλληλεπιδρά με τον υποδοχέα VEGFR-2 και τον VEGFR-3. Τέλος, το VEGF-E περιλαμβάνει

αλληλουχίες που κωδικοποιούνται από τον παραροχvírus Orf íó (OV) (22). Μέσω αλληλεπίδρασης με τον υποδοχέα VEGFR-2 έχει μια πιθανή δραστηριότητα ενεργοποίησης της παραγωγής ενδοθηλιακών κυττάρων όπως και αύξησης της αγγειακής διαπερατότητας. Ιστολογικά, οι βλάβες που προκαλούνται από τον íó Orf είναι κυρίως αγγειακές και οιδηματώδεις με ταυτόχρονο σχηματισμό νέων αγγείων από πολλαπλασιασμό ενδοθηλιακών κυττάρων (22).

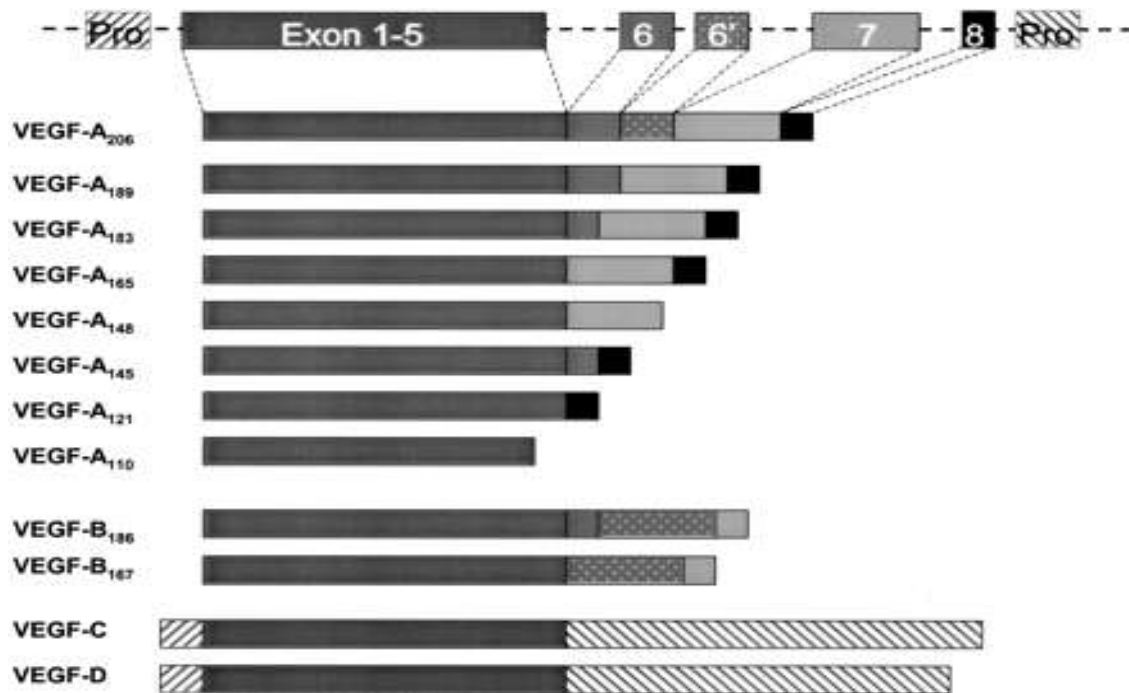
2.3. ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΙΣΟΜΟΡΦΩΝ ΤΟΥ VEGF

Το γονίδιο που κωδικοποιεί το ανθρώπινο VEGF-A οργανώνεται σε οκτώ εξόνια και επτά ιντρόνια και εντοπίζεται στη θέση p21.3 στο 6^ο χρωμόσωμα. Διαφορετικοί συνδυασμοί των εξονίων εξαιτίας διαφορετικών συνδυασμών του mRNA του VEGF-A έχουν ως αποτέλεσμα τη δημιουργία έξι ισομορφών (VEGF-A₁₂₁, VEGF-A₁₄₅, VEGF-A₁₆₅, VEGF-A₁₈₃, VEGF-A₁₈₉ και VEGF-A₂₀₆) που διαθέτουν αντίστοιχα 121, 145, 165, 183, 189 και 206 κατάλοιπα αμινοξέων (Εικόνα 2). Όλες οι ισομορφές μοιράζονται την ίδια ακολουθία αμινοξέων στο αμινοτελικό τους άκρο, η οποία περιέχει τις περιοχές πρόσδεσης για τους υποδοχείς τους, αλλά διαφορετικό καρβοξυτελικό άκρο, στο οποίο εντοπίζεται η θέση δέσμευσης στην ηπαρίνη (23). Η παρουσία ή η απουσία αυτής της περιοχής επηρεάζει τη διαλυτότητα του μορίου και τη δέσμευση από τον υποδοχέα. Πράγματι, αυτή η ηπαρινοδεσμευτική περιοχή καθορίζει τον εντοπισμό των ισομορφών του VEGF-A στον εξωκυττάριο χώρο. Έτσι, οι ισομορφές VEGF-A₁₈₉ και VEGF-A₂₀₆ παραμένουν σχεδόν ολοκληρωτικά δεσμευμένες με τον εξωκυττάριο χώρο και την κυτταρική επιφάνεια, ενώ η ισομορφή VEGF-A₁₂₁ αποτελεί μια ελεύθερα διαχεόμενη πρωτεΐνη. Ο VEGF-A₁₆₅ εκκρίνεται, αλλά ένα σημαντικό κλάσμα του παραμένει δεσμευμένο στην κυτταρική επιφάνεια και στον εξωκυττάριο χώρο εξαιτίας της ιδιότητάς του να προσδένεται στην ηπαρίνη.

Όλες οι ισομορφές περιέχουν επίσης μια περιοχή πρωτεόλυσης από την πλασμίνη. Η πλασμίνη είναι ικανή να πρωτεολύσει τον VEGF-A₁₆₅ ή τον VEGF-A₁₈₉ στο καρβοξυτελικό άκρο και να απελευθερώσει ένα μικρότερο, διαλυτό, βιοδραστικό προϊόν που αποτελείται από τα πρώτα 110 αμινοτελικά αμινοξέα. Ο μηχανισμός αυτός μπορεί να είναι σημαντικός για τη ρύθμιση της δραστηριότητας και της βιοδιαθεσιμότητας του VEGF, ως ανταπόκριση

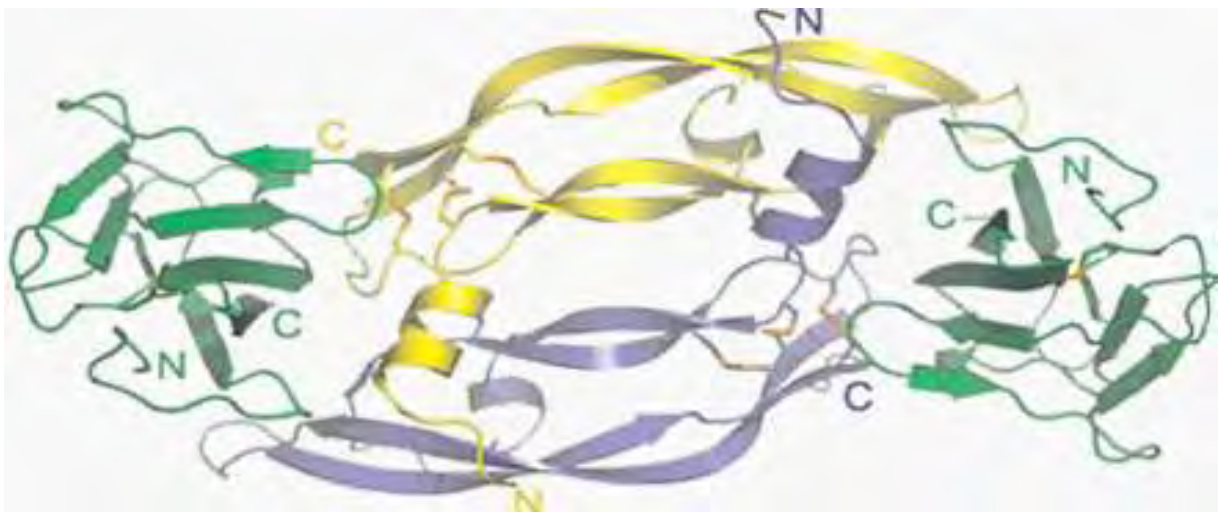
σε αλλαγές στο μικροπεριβάλλον των κυττάρων (23).

Οι ισομορφές VEGF-A₁₂₁, VEGF-A₁₈₃ και VEGF-A₁₈₉ εκφράζονται σε αρκετούς ιστούς, ο VEGF-A₁₄₅ και ο VEGF-A₂₀₆ εκφράζονται σπάνια, ενώ ο VEGF-A₁₆₅ είναι η επικρατέστερη μορφή και αυτή η οποία εκφράζεται σε μεγάλη αφθονία.



ΕΙΚΟΝΑ 2. Δομή του γονιδίου του VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, και VEGF-D. Το VEGF-A γονίδιο αποτελείται από οκτώ εξόνια που οδηγούν σε επτά ισομορφές 121, 145, 148, 165, 183, 189, και 206 αμινοξέων μέσω διαφορετικής συναρμολόγησης. Μια πρόσθετη VEGF-A ισομορφή 110 αμινοξέων προκύπτει από πρωτεολυτική διάσπαση. Το VEGF-B υφίσταται ως δύο ισομορφές 167 και 186 αμινοξέων. Τα VEGF-C και VEGF-D απελευθερώνονται πρωτεολυτικά από τις αντίστοιχες προπρωτεΐνες τους. Όλα τα μέλη της οικογένειας VEGF μοιράζονται ένα διατηρημένο τομέα ομολογίας VEGF, που κωδικοποιείται από τα εξόνια 1 έως 5

Ο VEGF-A₁₆₅ αποτελεί μία διμερή γλυκοπρωτεΐνη 34-45 kDa της οποίας τα μονομερή έχουν M.B. περίπου 23 KD, διατάσσονται αντιπαράλληλα και συνδέονται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς (24). Διαθέτει μικρή αλλά σημαντική ομόλογη αλληλουχία με το PDGF καθώς και τα δύο μόρια μοιράζονται τα ίδια αμινοξέα κυστεΐνης και, όπως και ο PDGF, τα υπολείμματα κυστεΐνης που διαθέτει ο VEGF-A₁₆₅ σχηματίζουν διααλυσιδικούς και ενδοαλυσιδικούς δεσμούς που είναι απαραίτητοι για τη δομή του. Κατά την αποδόμησή του ο VEGF-A διαχωρίζεται σε κύριες ζώνες των 17 έως περίπου 23 kd και χάνει όλη τη βιολογική δραστηριότητά του (Εικόνα 3).



ΕΙΚΟΝΑ 3. Η παράσταση απεικονίζει ένα διμερισμένο VEGF / VEGF σύμπλοκο υποδοχέα, όπως παρατηρείται από κρυσταλλογραφία ακτίνων-X. Διακρίνονται τα δύο μονομερή του VEGF (μπλε και κίτρινο) που δεσμεύονται με τον τομέα 2 του VEGFR-1 υποδοχέα (πράσινο).

2.4. ΡΥΘΜΙΣΤΕΣ ΤΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΤΟΥ VEGF-A

Συγκέντρωση οξυγόνου

Η υποξία αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή της έκφρασης του VEGF-A (όχι όμως και των υπολοίπων μελών της οικογένειας) (25) διεγείροντας τη μεταγραφή του mRNA (26-29). Η επαγόμενη από την υποξία μεταγραφική ρύθμιση του VEGF-A εξασφαλίζεται διαμέσου του υποξία-επαγόμενου παράγοντα-1 [hypoxia-inducible factor 1 (**HIF-1**)], μία ετεροδιμερή πρωτεΐνη μεταγραφής. Ένα συστατικό του HIF-1, ο HIF-1 άλφα (HIF-1α), αποικοδομείται ταχέως υπό νορμοξικές συνθήκες διαμέσου της οδού της ουβικουΐτινης. Ωστόσο, όταν σταθεροποιείται από υποξία, ο HIF-1α διμερίζεται σε HIF-1β και το σύμπλοκο δεσμεύεται στον VEGF-A προαγωγέα και τον ενεργοποιεί. Έχει παρατηρηθεί όμως ότι η υποξία ως ανεξάρτητος παράγοντας μπορεί να ρυθμίσει την έκφραση των VEGFR ανεξάρτητα του VEGF-A (30).

Η σημασία της υποξικής ρύθμισης της έκφρασης του VEGF-A στην κακοήθεια και την αγγειογένεση των όγκων φαίνεται να αποτελεί ένα θέμα που γεννά πολλά ερωτηματικά. Πολλοί όγκοι μπορούν να εκφράσουν τον VEGF-A σε υψηλά επίπεδα ακόμη και κάτω από νορμοξικές καταστάσεις. Επίσης, αν και είναι αλήθεια ότι πολλοί όγκοι εκφράζουν μεγάλες ποσότητες VEGF-A αμέσως δίπλα σε ζώνες νέκρωσης, η σημασία αυτής της τόσο τοπικής έκφρασής του είναι άγνωστη. Αυτό γιατί οι ζώνες νέκρωσης του όγκου είναι γενικά απομακρυσμένες από το πλησιέστερο λειτουργικό αιμοφόρο αγγείο και ως εκ τούτου μακριά από πιθανή θέση δράσης του VEGF-A. Προκειμένου λοιπόν να ασκήσει τη δράση του ο VEGF-A θα πρέπει να διανύσει μεγάλη απόσταση, ένα απίθανο ενδεχόμενο εξαιτίας της αργής κινητικής διάχυσης των μακρομορίων σε συμπαγείς ιστούς (31).

Ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια

Υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια προωθούν την ανάπτυξη του όγκου, τουλάχιστον εν μέρει, ρυθμίζοντας την αγγειογόνο δράση που προκαλείται από τον VEGF-A. Τα ογκογονίδια (src, ras) και τα p53, p73 και von Hippel Lindau (vHL) ογκοκατασταλτικά γονίδια παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της έκφρασης του VEGF-A σε διάφορους όγκους (32-36). Το προϊόν του vHL ογκοκατασταλτικού γονιδίου

είναι μέρος ενός σύμπλοκου πρωτεΐνης που στοχεύει σε συγκεκριμένες πρωτεΐνες, συμπεριλαμβανομένων των HIF-1α, για αποδόμηση μέσω της ουμπικουιτίνης και πρωτεόλυση. Ως εκ τούτου, όταν το vHL είναι απόν ή αδρανοποιημένο, όπως συνήθως συμβαίνει σε καρκίνωμα νεφρικών κυττάρων, ο HIF-1α και συνεπώς το HIF σύμπλοκο σταθεροποιείται ακόμη και κάτω από νορμοξικές συνθήκες, με αποτέλεσμα την αύξηση στην έκφραση του VEGF-A και ίσως και σε άλλα μέλη της VEGF οικογένειας (37). Το όγκοκατασταλτικό γονίδιο p53 και το σχετικό γονίδιο p73 παίζουν ρυθμιστικό ρόλο στην αγγειογένεση όγκου με την καταστολή της μεταγραφής του VEGF-A (38).

Κυτταροκίνες και άλλοι μεσολαβητές

Πολυάριθμοι αυξητικοί παράγοντες καθώς και κυτταροκίνες ρυθμίζουν την έκφραση του VEGF-A σε διαφορετικά είδη κυττάρων, όπως τον επιδερμικό αυξητικό παράγοντα, τον μετατρεπτικό αυξητικό παράγοντα άλφα (TGF-α), FGF-2, TGF-β, τον αυξητικό παράγοντα κερατινοκυττάρων, τον παράγοντα νέκρωσης όγκου, την ιντερλευκίνη-1 και η ιντερλευκίνη-6, την insulin-like growth factor1, τον αυξητικό παράγοντα ηπατοκυττάρων, και τις προσταγλανδίνες E1 και E2(39). Τα ευρήματα αυτά είναι πιθανό να είναι σημαντικά στην αυτοκρινή ρύθμιση της έκφρασης του VEGF-A in vivo, διότι πολλοί όγκοι που εκφράζουν τον VEGF-A εκφράζουν επίσης και άλλες κυτταροκίνες και υποδοχείς τους (π.χ., TGF-α, ο FGF-2, και EGF) (40).

Ορμόνες

Ο VEGF-A εκφράζεται από πολλά κύτταρα που παράγουν στεροειδείς ορμόνες (φλοιός των επινεφριδίων, ωχρό σωματίο, κύτταρα Leydig) αλλά και που τα ίδια με τη σειρά τους υπόκεινται σε ορμονική ρύθμιση (π.χ., η μήτρα και οι ωοθήκες) (41-43). Τα κυκλοφορούντα VEGF-A επίπεδα και πιθανώς η VEGF-A έκφραση συσχετίζονται θετικά με υποδοχείς οιστρογόνων σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού (44). Ο VEGF-A εκφράζεται επίσης από κύτταρα που παράγουν πεπτιδικές ορμόνες, όπως τα κύτταρα των ωοθυλακίων

του θυρεοειδούς, και η παραγωγή του σε καλλιέργεια ρυθμίζεται αυξητικά από έναν αριθμό παραγόντων συμπεριλαμβανομένης της ινσουλίνης, της διβουτυρυλ-κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη, και της ανοσοσφαιρίνης G της νόσου Graves. Επιπλέον, η TSH ορμόνη ρυθμίζει την έκφραση του VEGF-A mRNA στα ανθρώπινα θυρεοειδικά ωοθυλάκια και προωθεί την VEGF-A έκκριση σε αρκετές κυτταρικές σειρές καρκίνου του θυρεοειδούς (45).

Άλλοι παράγοντες

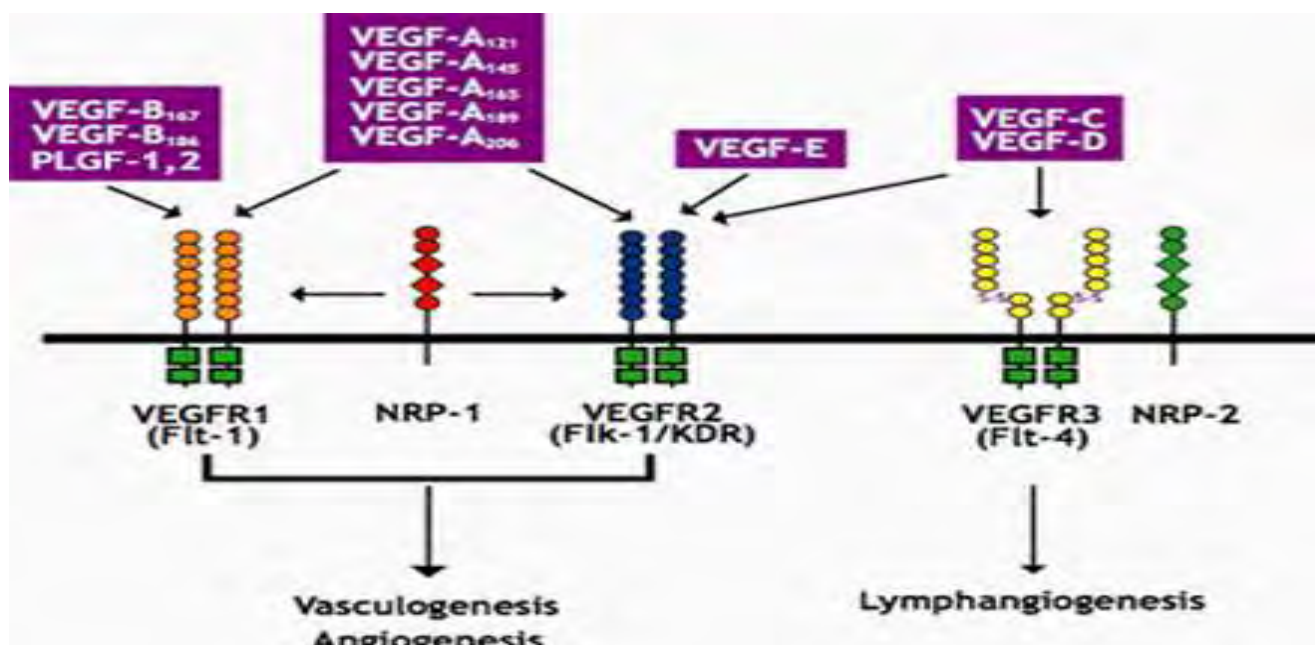
Ένας μεγάλος αριθμός άλλων χημικών ουσιών και πρωτεϊνών μπορεί να αυξήσει την VEGF-A έκφραση ή δραστηριότητα με άμεσο ή έμμεσο τρόπο. Αυτά περιλαμβάνουν την θρομβίνη (46), τη συσσωμάτωση των αιμοπεταλίων (47), το shear stress (48-50), την οξειδωση (51), το λυσοφωσφατιδικό οξύ (52), την αδενοσίνη (53). Ο χρυσίζων σταφυλόκοκκος, ένα κοινό μικρόβιο που μπορεί να προκαλέσει εμπύημα, μπορεί να διεγείρει επίσης την απελευθέρωση VEGF-A από φυσιολογικά μεσοθηλιακά κύτταρα με έναν δοσο- και χρονο-εξαρτώμενο τρόπο. Συγχρόνως, η υπογλυκαιμία και η οξέωση μπορούν και αυτά να προκαλέσουν την έκκριση VEGF-A. Συνδυάζοντας κανείς αυτές τις παρατηρήσεις θα μπορούσε να εξηγήσει το γεγονός ότι πλευριτικά υγρά με χαμηλά εμπύημα, δηλαδή με χαμηλό pH και χαμηλή συγκέντρωση γλυκόζης, περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις VEGF. Αντίθετα, η δεξαμεθαζόνη δρα κατασταλτικά μειώνοντας ή αποτρέποντας την προκαλούμενη από κυτταροκίνη υπερέκφραση του VEGF-A (54). Στον πίνακα 3 απεικονίζονται συνοπτικά οι παράγοντες που ρυθμίζουν την έκφραση του μορίου VEGF (55).

Ογκογονίδια/Ογκοκατασταλτικά γονίδια	Ενεργοποιημένα σηματοδοτικά μονοπάτια	Περιβαλλοντικοί, αυξητικοί παράγοντες
Ras	Src	Υποξία
Scr	β-catenin	Οξέωση
PTEN	HIF	IGF-IR
p53	COX-2	EGFR
Nhl	AP-1	IL-1B
Wnt	SP-1	IL-6
Rb	NF-Kβ	c-MET
HER-2	Akt/PKB	PDGFR
c-jun	Bcl-2	
c-fos		
MDM2		
E2a-Pbx1		
PML-RARa		
RhoC		
NOX-1		

Πίνακας 3. Μόρια που ρυθμίζουν την έκφραση του VEGF (Hicklin and Ellis, 2005)

2.5. ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ ΤΟΥ VEGF (VEGFRs)

Ο VEGF-A κατορθώνει να ασκήσει τη δράση του αλληλεπιδρώντας με τρεις υψηλής συγγένειας, διαμεμβρανικούς υποδοχείς κινάσης-τυροσίνης (RTKs) που εκφράζονται επιλεκτικά, αν και όχι αποκλειστικά, στο αγγειακό ενδοθήλιο: του VEGFR-1, γνωστού και ως FLT-1(fms-like tyrosin kinase-1), του VEGFR-2, γνωστού και ως KDR/flk-1 (kinase insert domain-containing receptor/fetal liver kinase-1) και του VEGFR-3, γνωστού και ως FLT-4 (fms-like tyrosin kinase-4) (55,56) (Εικόνα 4).



Εικόνα 4. Οι VEGF σύνδεσμοι, που διακρίνονται στα μωβ κουτιά, δεσμεύονται στους αντίστοιχους υποδοχείς, γεγονός που οδηγεί σε διμερισμό του υποδοχέα και την επακόλουθη μεταγωγή σήματος. Για παράδειγμα, ο VEGFR-2 υποδοχέας με πρόσδεση μορίων VEGF διμερίζεται και ενεργοποιείται, προκαλώντας φωσφορυλίωση του υποδοχέα τυροσίνης-κινάσης και επακόλουθο καταρράκτη που οδηγεί σε αγγειογένεση.

Έχει βρεθεί όμως και ένας υποδοχέας που δε δεσμεύει την κινάση, η νευροπλίνη (NRP-1), η οποία ενισχύει τη VEGF-A σύνδεση προς τον VEGFR-2 και δρα ως συνυποδοχέας, όπως περιγράφεται και στη συνέχεια. Η νευροπλίνη εκφράζεται λιγότερο εκλεκτικά στο αγγειακό ενδοθήλιο από τους VEGFR-1 και VEGFR-2 και ο ρόλος της στην αγγειογένεση των όγκων βρίσκεται ακόμα υπό διερεύνηση (16).

Οι VEGFR-1 και VEGFR-2 παρουσιάζουν δομικές και λειτουργικές ομοιότητες με την οικογένεια των υποδοχέων των PDGFs, αποτελούνται από 1338 αμινοξέα και διαθέτουν επτά ανοσοσφαιρινικού τύπου περιοχές στην εξωκυττάρια πλευρά τους, μια μονή διαμεμβρανική περιοχή, μια αλληλουχία κινάσης της τυροσίνης αποτελούμενη από 70 αμινοξέα, η οποία διακόπτεται από μια παρεμβαλλόμενη (kinase-insert) περιοχή και τέλος, ένα κυτταροπλασματικό άκρο (Πίνακας 4). Η δεύτερη περιοχή των υποδοχέων με ομολογία με ανοσοσφαιρίνες διαδραματίζει σημαντικό ρόλο για τη δέσμευση του VEGF στον υποδοχέα, καθώς η αφαίρεσή της από τον VEGFR-1 καταργεί εντελώς την ικανότητά του για πρόσδεση του VEGF. Όπως και οι άλλοι υποδοχείς κινάσης-τυροσίνης οι VEGFRs διμερίζονται και αυτοφωσφορυλιώνονται όταν ο VEGF προσδεθεί σε αυτούς. Οι VEGFR-1 και VEGFR-2 μοιράζονται μεταξύ τους συνολικά 43.2% κοινή ομολογία. Η εξωκυττάρια περιοχή τους έχει 33.3% ομολογία και η κυτταροπλασματική 54.6 %. Η περιοχή κινάσης φαίνεται να είναι η πιο συντηρημένη με 70.1 % ομολογία. Αντίθετα, το καρβοξυτελικό άκρο αποτελεί αποκλίνουσα περιοχή με μόλις 28.1 % ομολογία. Ο VEGFR-1 δεσμεύει τον VEGF-A με δέκα φορές μεγαλύτερη συγγένεια από τον VEGFR-2, ωστόσο παρουσιάζει δέκα φορές ελαττωμένη ενεργότητα κινάσης τυροσίνης (56, 57).

Gene	Chromosomal localization	Major mRNA transcript size (kb)	Major protein size (kDa)
VEGFR-1	13q12-q13	7.5, 8.0	180
VEGFR-2	4q11-q12	5.8, 7.0	230
VEGFR-3	5q33-qter	4.5, 5.8	195

Πίνακας 4. Απεικόνιση του χρωμοσωμικού εντοπισμού, των mRNA και των πρωτεϊνών των υποδοχέων του VEGF.

VEGFR-1

Ο VEGFR-1 δεσμεύει τον VEGF, VEGF-B και PlGF με υψηλό βαθμό συγγένειας. Εκφράζεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα (ECs) των αγγείων και σε ένα ευρύ φάσμα μη ενδοθηλιακών κυττάρων, όπως μονοκύτταρα/μακροφάγα, αλλά και αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα στα οποία επάγει τη μετανάστευση. Εκφράζεται επίσης στα δενδριτικά κύτταρα, οστεοβλάστες, περικύτταρα και τροφοβλάστες στον πλακούντα. Η σπουδαιότητα της έκφρασής του σε αυτά τα κύτταρα δεν έχει αποσαφηνιστεί, πιστεύεται όμως ότι ίσως να ρυθμίζει την επιβίωση αυτών των κυττάρων. Τέλος, κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης έχει διττό ρόλο. Κατά τη διάρκεια της πρώιμης εμβρυογένεσης δρα κατασταλτικά, ενώ κατά τα στάδια της ενηλικίωσης δρα ως επαγωγέας της αγγειογένεσης (58).

VEGFR-2

Ο VEGFR-2 εμφανίζει, όπως προαναφέρθηκε, μεγάλη ομολογία με τον VEGFR-1 (Πίνακας 3). Είναι απαραίτητος για τη διαφοροποίηση προγονικών ενδοθηλιακών κυττάρων που εκφράζουν VEGFR-2 σε ενδοθηλιακά κύτταρα αγγείων (59-60). Συγκεκριμένα, έχει μιτογόνο δράση για αρκετά ενδοθηλιακά κύτταρα και προάγει τον πολλαπλασιασμό τους κυρίως μέσω της ενεργοποίησης της οδού των κινασών Erk1/2, όπως συμβαίνει με την πλειοψηφία των υποδοχέων με δράση κίνησης της τυροσίνης. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι δέσμευση του VEGF προκαλεί αρνητική ρύθμιση του VEGFR-2 και απόπτωση τριχοειδικών ενδοθηλιακών κυττάρων γεγονός που αναδεικνύει το ρόλο του VEGFR-2 στην κυτταρική επιβίωση. Επίσης, ο VEGFR-2 σχετίζεται με ιντεγκρίνη-εξαρτώμενη μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων (ECs) καθώς σχηματίζει ένα σύμπλεγμα με την ιντεγκρίνη ανβ₃ κατά τη δέσμευση του VEGF, ενεργοποίηση της ιντεγκρίνης ανβ₃ και τελικώς την επαγωγή της κυτταρικής μετανάστευσης (61). Τέλος, ο VEGFR-2 ρυθμίζει την αγγειακή διαπερατότητα *in vivo* και γι' αυτή του τη δράση χρειάζεται eNOS (nitric oxide synthase) για παραγωγή NO. Η ενεργοποίηση της eNOS οδηγεί στο σχηματισμό NO, αυξάνοντας την αγγειακή διαπερατότητα και μεταναστευτικότητα των κυττάρων (62).

VEGFR-3

Ο VEGFR-3 (fms-like tyrosine kinase 4, Flt4) είναι μία πρωτεΐνη μεγέθους 195 KDa με υψηλή συγγένεια για τον VEGF-C και VEGF-D όχι όμως και για τον VEGF-A (63). Κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης ο VEGFR-3 είναι παρών σε όλα τα ενδοθηλιακά κύτταρα, ενώ αργότερα στον ενήλικα η έκφραση του VEGFR-3 περιορίζεται στα λεμφικά ενδοθηλιακά κύτταρα (ECs), κάποια ενεργοποιημένα μακροφάγα και δενδριτικά κύτταρα (64, 65). Πράγματι, έχει παρατηρηθεί ότι η απώλεια του γονιδίου του VEGFR-3 έχει ως αποτέλεσμα την ελαττωματική αναδιαμόρφωση του πρωτογενούς αγγειακού πλέγματος και διαταραγμένη αιμοποίηση, οδηγώντας σε εμβρυικό θάνατο (65) Συνοπτικά οι λειτουργίες των VEGFRs απεικονίζονται στον πίνακα 5.

VEGFR-1	αγγειογένεση, νεοαγγειογένεση, ρύθμιση της αγγειακής διαπερατότητας
VEGFR-2	λειτουργία των μακροφάγων και του πλακούντα
VEGFR-3	εμβρυονική αγγειογένεση και λεμφαγγειογένεση

Πίνακας 5. Συνοπτική απεικόνιση των λειτουργιών των *VEGFRs*.

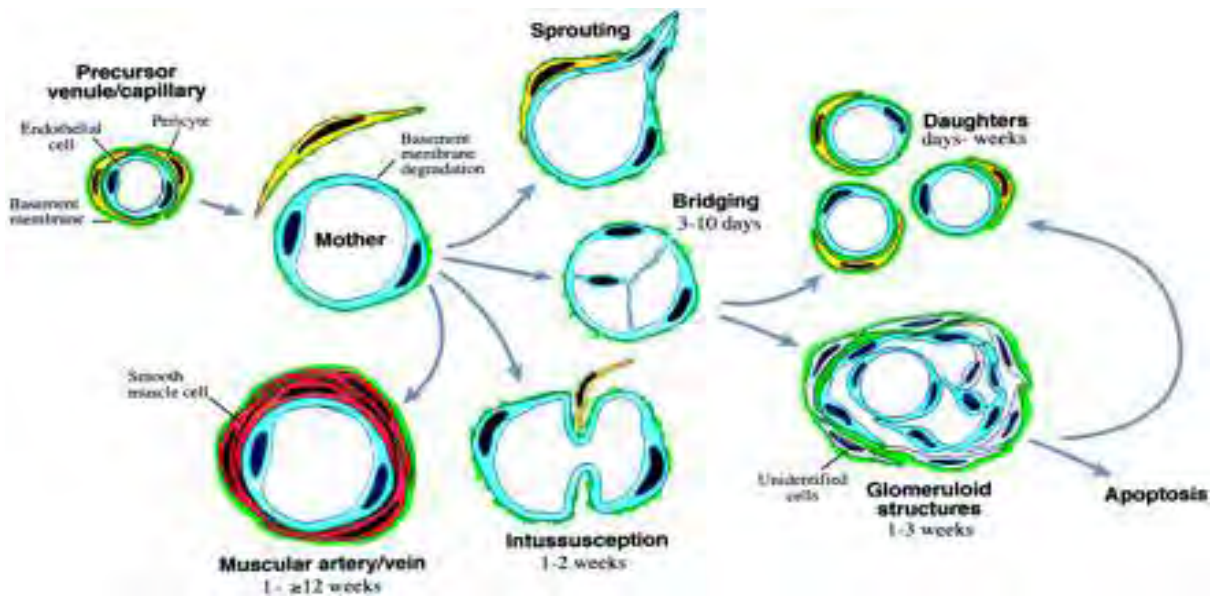
Neuropilins

Ο ρόλος των νευροπιλινών δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί, πιστεύεται όμως ότι οι νευροπιλίνες 1 και 2 συμβάλλουν στη νευρωνική ανάπτυξη, όπως επίσης και στην αγγειογένεση (66,67). Αποτελούν υποδοχέα για τις σεμαφορίνες στο νευρικό σύστημα, ενώ η Nrp-1 συνδέει επίσης τον VEGF, VEGF-B και PlGF και η Nrp-2 τον VEGF, VEGF-C και PlGF (68). Η Nrp-1 δρα ως συν-υποδοχέας βοηθώντας την αλληλεπίδραση VEGF-VEGF-2 και βοηθάει στην αγγειογένεση των όγκων, ενώ πιστεύεται ακόμα ότι η Nrp-1 απαιτείται στην καρδιοαγγειακή ανάπτυξη επειδή ρυθμίζει τα επίπεδα του VEGF₁₆₅. Η Nrp-2 με τη σειρά της εκφράζεται στα λεμφικά ενδοθηλιακά κύτταρα (ECs) κυρίως παίζοντας ρόλο στο σχηματισμό τους (69).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΟΥ VEGF-A

3.1. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΝΕΩΝ ΑΓΓΕΙΩΝ

Επειδή οι όγκοι αποτελούν σύνθετες οντότητες που εκφράζουν πολλούς διαφορετικούς αυξητικούς παράγοντες και κυτταροκίνες, ήταν δύσκολο να προσδιοριστεί οριστικά ποιοί παράγοντες είναι ειδικά υπεύθυνοι για την ανάπτυξη των αιμοφόρων αγγείων του όγκου και, αντιστρόφως, ήταν δύσκολο να προσδιοριστούν οι τύποι των αιμοφόρων αγγείων που μία μόνο κυτταροκίνη, όπως ο VEGF-A μπορεί να προκαλέσει από μόνη της. Πρόσφατα έχει σημειωθεί πρόοδος όσον αφορά το δεύτερο σκέλος αυτών των ερωτήσεων και έχει βρεθεί ότι λίγες μόνο ώρες μετά την τοπική έκκριση του VEGF-A γειτονικά μικροαγγεία γίνονται υπερδιαπερατά στις πρωτεΐνες του πλάσματος, με αποτέλεσμα τοπικό οίδημα ιστού και εναπόθεση ενός εξωαγγειακού ινώδους gel. Μετά από 18 ώρες, διευρυμένα, λεπτοτοιχωματικά, φτωχά σε περίβλημα περικυττάρων και έντονα θετικούς υποδοχείς VEGF "μητρικά αγγεία" (Mother Vessels, **MV**) σχηματίζονται μέσα σε αυτό το τζελ (70) (εικόνα 5).



Εικόνα 5. Σχηματικό διάγραμμα που συνοψίζει την εξέλιξη της αγγειογενετικής απόκρισης που προκαλείται από τον VEGF-A.

Τα μητρικά αγγεία (MV) αποτελούν έναν χαρακτηριστικό τύπο αιμοφόρων αγγείων που ανευρίσκονται σε πολλούς όγκους ανθρώπων και ζώων. Σχηματίζονται σύμφωνα με μια διαδικασία τριών βημάτων:

- πρωτεολυτική αποικοδόμηση της μη ελαστικής αγγειακής βασικής μεμβράνης, ένα στάδιο απαραίτητο για να επιτραπεί η διεύρυνση των αγγείων
- αποκόλληση των περικυττάρων από τη βασική μεμβράνη και
- επάλειψη και ως εκ τούτου λέπτυνση του προϋπάρχοντος αγγειακού ενδοθηλίου πάνω στη διευρυμένη επιφάνεια που δημιουργήθηκε από την αποδόμηση της βασικής μεμβράνης. Τα MV όμως αποτελούν μία μεταβατική δομή η οποία παραμένει μόνο για μερικές ημέρες ή εβδομάδες.

Όπως ακριβώς συμβαίνει και στους όγκους, τα MV διαιρούνται σε μικρότερους αυλούς μέσα από μια διαδικασία που περιλαμβάνει την προσεκβολή κυτταροπλασματικών γεφυρών από τα ενδοθηλιακά κύτταρα που απαρτίζουν τα MV. Αυτές οι διαυλικές «γέφυρες» διαιρούν τη ροή του αίματος σε μικρότερα κανάλια τα οποία με την πάροδο του χρόνου διαχωρίζονται το ένα από το άλλο, σχηματίζοντας επιμέρους μικρότερου διαμετρήματος

"θυγατρικά" τριχοειδή(71). Τα MV εξελίσσονται επίσης για να σχηματίσουν γλουμεροειδή σώματα, τα οποία αποτελούν μερικώς οργανωμένες ομάδες ενδοθηλιακών κυττάρων και περικυττάρων που, όπως και τα MV, βρίσκονται σε ανθρώπινους όγκους, ιδιαίτερα στο πολύμορφο γλοιοβλάστωμα (72). Τα MV και τα γλουμεροειδή σώματα αποτελούν δύο χαρακτηριστικούς τύπους καρκινικών αγγείων και επομένως γίνεται φανερό ότι οι όγκοι επάγουν αυτούς τους τύπους κυττάρων εκκρίνοντας VEGF-A και ο VEGF-A επαρκεί για τη γένεσή τους.

3.1.1 ΠΡΩΙΜΗ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ VEGF-A ΣΤΟ ΑΓΓΕΙΑΚΟ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟ: ΑΥΞΗΣΗ ΤΗΣ ΑΓΓΕΙΑΚΗΣ ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑΣ

Ο VEGF-A αναγνωρίστηκε αρχικά ως μία πρωτεΐνη με ικανότητα να αυξάνει τη διαπερατότητα των μικροαγγείων, κυρίως των μετά-τριχοειδικών φλεβιδίων και των μικρών φλεβών, στα κυκλοφορούντα μακρομόρια. Στην πραγματικότητα, ο VEGF-A είναι ένας από τους πιο ισχυρούς παράγοντες αύξησης αγγειακής διαπερατότητας, ενεργώντας σε συγκεντρώσεις κάτω από 1 pmol/L και με μια ισχύ περίπου 50.000 φορές μεγαλύτερη από την ισταμίνη (73). Ο VEGF-C που εκφράζεται επίσης από ορισμένους όγκους, ενισχύει τη μικροαγγειακή διαπερατότητα, αλλά λιγότερο ισχυρά από ότι ο VEGF-A (74). Σήμερα γνωρίζουμε ότι η ικανότητα του VEGF-A να ενισχύει τη μικροαγγειακή διαπερατότητα αποτελεί μία από τις σημαντικότερες ιδιότητες αυτού του μορίου και φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό υπεζωκοτικών συλλογών (75).

Ο σχηματισμός υπεζωκοτικών συλλογών γενικά απαιτεί τη μετανάστευση μορίων και πλάσματος από τη συστηματική κυκλοφορία στην υπεζωκοτική κοιλότητα· μία διαδρομή η οποία προϋποθέτει τη διέλευση δια μέσου του αγγειακού και του μεσοθηλιακού φραγμού. Έχουν αναγνωριστεί τρεις διαφορετικοί τύποι αγγειακής διαπερατότητας:

- η βασική αγγειακή διαπερατότητα [basal vascular permeability (**BVP**)]
- η οξεία αγγειακή υπερδιαπερατότητα [acute vascular hyperpermeability (**AVH**)]
- η χρόνια αγγειακή υπερδιαπερατότητα της παθολογικής αγγειογένεσης [chronic vascular hyperpermeability (**CVH**)] (75) .

Ένας μικρός βαθμός αγγειακής διαπερατότητας στις πρωτεΐνες του πλάσματος είναι απαραίτητος για τη φυσιολογική λειτουργία των ιστών και αυτός ο βαθμός μπορεί να

διαφέρει στους διάφορους ιστούς και όργανα ανάλογα με το διαφορετικό ερέθισμα. Αυτή όμως η φυσιολογική κατάσταση διαφέρει κατά πολύ από τα πολύ αυξημένα επίπεδα εξαγγείωσης πρωτεϊνών πλάσματος που συμβαίνει σε παθολογικές καταστάσεις. Αυτές οι καταστάσεις υπερδιαπερατότητας μπορεί να είναι οξείες ή χρόνιες και να διαφέρουν ως προς τα αγγεία που έχουν διαρροή, τη σύσταση του εξαγγειωμένου υγρού και τα μονοπάτια που οι διαλύτες χρησιμοποιούν προκειμένου να διασχίσουν το αγγειακό ενδοθήλιο.

Βασική αγγειακή διαπερατότητα (BVP)

Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες το νερό και οι διαλύτες (π.χ. αέρια, όπως O₂ και CO₂) μπορούν να διασχίζουν τα ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω διάχυσης. Τα μικρά λιπόφιλα μόρια μπορούν επίσης να διαλύονται μέσα στις μεμβράνες των ενδοθηλιακών κυττάρων και με τον τρόπο αυτό να περνούν από τον αγγειακό αυλό στο διάμεσο χώρο. Όσον αφορά τα μεγάλα μακρομόρια, όπως οι πρωτεΐνες βρέθηκε από τον George Palade ότι μπορούν να κινούνται δια μέσου των ενδοθηλιακών κυττάρων με τη βοήθεια ‘‘φυσσαλίδων’’ γνωστές πλέον ως caveolae που πηγαινοέρχονται δια μέσου των ενδοθηλιακών κυττάρων των τριχοειδών και μεταφέρουν πλάσμα και πρωτεΐνες στο διάμεσο ιστό (76).

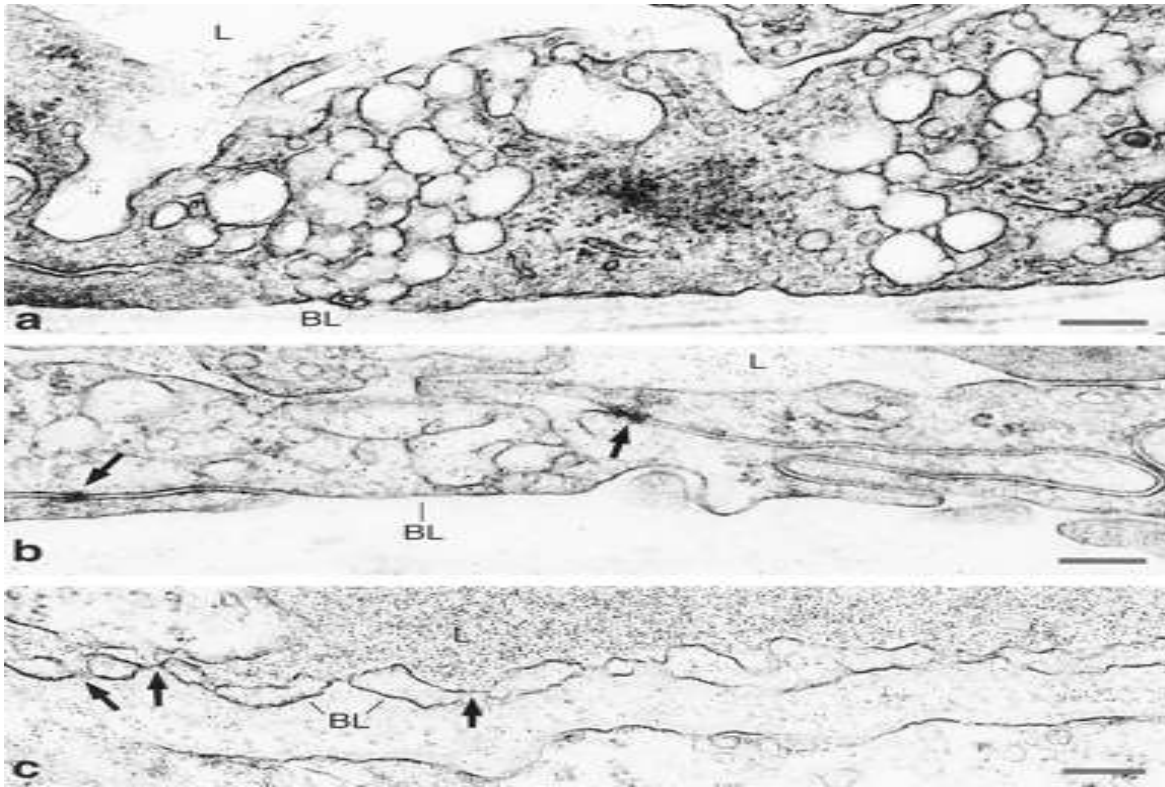
Οξεία αγγειακή υπερδιαπερατότητα (AVH)

Μία ραγδαία αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας συμβαίνει όταν το μικροαγγειακό δίκτυο εκτίθεται αιφνίδια σε οποιοδήποτε παράγοντα προκαλεί αγγειακή υπερδιαπερατότητα, π.χ. VEGF-A, ισταμίνη, σεροτονίνη, PAF. Το αποτέλεσμα είναι μία γρήγορη, αυτοπεριοριζόμενη (ολοκληρώνεται σε 30’) εισροή πλάσματος μέσα στους ιστούς. Όμως όχι μόνο η ποσότητα του εξαγγειωμένου υγρού είναι κατά πολύ μεγαλύτερη από αυτή που παρατηρείται στην BVP αλλά και η σύστασή του είναι πολύ διαφορετική. Πράγματι, το υγρό που εξαγγειώνεται στην AVH είναι τόσο πλούσιο σε πρωτεΐνες που πλησιάζει τα επίπεδα του πλάσματος και το αναφέρουμε ως εξίδρωμα. Ανάμεσα στις πρωτεΐνες του πλάσματος που εξαγγειώνονται περιλαμβάνονται το ινωδογόνο και παράγοντες του καταρράκτη της πήξης. Όταν αυτοί έλθουν σε επαφή με τον ιστικό παράγοντα ενεργοποιείται το σύστημα πήξης και το εξίδρωμα σχηματίζει θρόμβο και εναποτίθεται ινώδες (77). Το ινώδες σχηματίζει ένα ζελ το οποίο παγιδεύει νερό και άλλους διαλύτες, συγκρατεί την κάθαρσή τους από τα λεμφικά αγγεία και προκαλεί ως εκ τούτου οίδημα ιστών. Σε αντίθεση με την BVP, στην AVH η

εξαγγείωση λαμβάνει χώρα στα μετα-τριχοειδή φλεβίδια. Επιπλέον, εφόσον όπως προαναφέρθηκε, η αγγειακή διαπερατότητα δεν είναι διαρκής, το εναποθέθεν ινώδες γρήγορα αποδομείται χωρίς περαιτέρω συνέπειες.

Πρόσφατα ανακαλύφθηκε μία δομή στο φλεβικό δίκτυο, τα φυσαλιδώδη-κενοτοπικά οργανίδια [vesiculo-vacuolar organelle (VVO)] τα οποία ανταποκρινόμενα σε ερεθίσματα από παράγοντες διαπερατότητας, π.χ. VEGF-A, προσφέρουν μια διακυτταρική οδό για την εξαγγείωση του πλάσματος και ως εκ τούτου σχηματισμό υπεζωκοτικής συλλογής (78, 79).

Τα VVO οργανίδια αποτελούν αθροίσματα εκατοντάδων κενотоπιών, τα οποία μοιάζουν με τσαμπιά σταφυλιών, που όλα μαζί σχηματίζουν οργανίδια τα οποία διασχίζουν το κυτταρόπλασμα των φλεβικών ενδοθηλιακών κυττάρων από τον αυλό μέχρι το διάμεσο χώρο (78,79). Αυτά τα οργανίδια συνδέονται το ένα με το άλλο και με την μεμβράνη του αυλού με ‘στόματα’ που φυσιολογικά είναι κλειστά με λεπτά διαφράγματα. Γίνεται φανερό ότι κατά την έκθεση σε παράγοντες όπως ο VEGF-A τα μακρομόρια διασχίζουν όλο το μήκος των ενδοθηλιακών κυττάρων μέσα από συνδεδεμένα μεταξύ τους VVO σωματίδια. Η έκθεση στον VEGF-A προκαλεί το άνοιγμα των ‘στομάτων’ και ως εκ τούτου το σχηματισμό μίας οδού για την εξαγγείωση πλάσματος και των πρωτεϊνών του (Εικόνα 6).



Εικόνα 6 Ηλεκτρονική απεικόνιση διευρυμένων μικροαγγείων υπό την επίδραση του VEGF-A164 (α) Μόρια φερριτίνης (μαύρα σωματίδια) εντός VVO σωματιδίων;βασική μεμβράνη (BL). (β) υπερδιαπερατά MV με εκτεταμένα εκλεπτυσμένο ενδοθήλιο. (γ) Μόρια φερριτίνης διέρχονται το θυριδωτό ενδοθήλιο (βέλη).

Χρόνια αγγειακή υπερδιαπερατότητα (CVH)

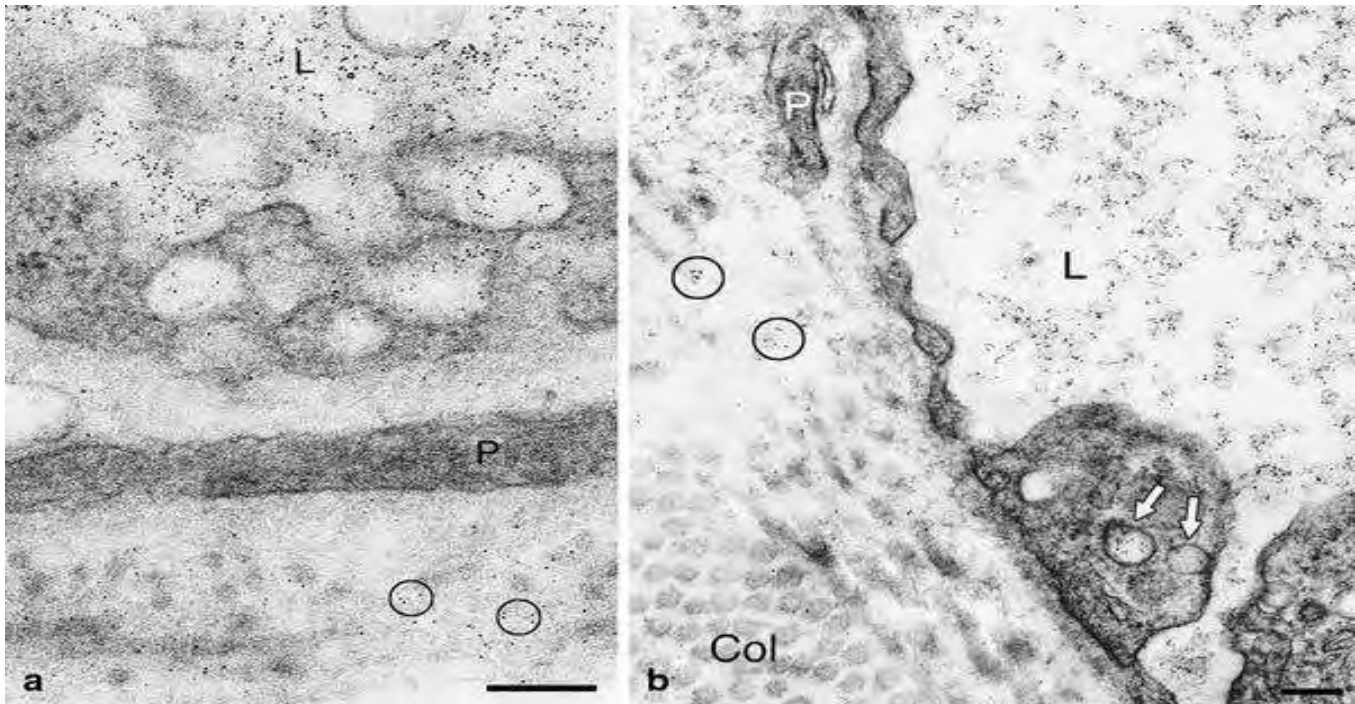
Ενώ η οξεία έκθεση στον VEGF-A οδηγεί σε άμεση, αλλά αυτοπεριοριζόμενη υπερδιαπερατότητα των φυσιολογικών φλεβιδίων, η χρόνια έκθεση στον VEGF-A καταλήγει σε μεγάλες αλλαγές στη φλεβική δομή και λειτουργία που οδηγούν στη χρόνια υπερδιαπερατότητα που χαρακτηρίζει την παθολογική αγγειογένεση, όπως ακριβώς παρατηρείται σε όγκους, επούλωση πληγών, και χρόνια φλεγμονώδη νοσήματα, π.χ. ρευματοειδή αρθρίτιδα, ψωρίαση (80). Όπως και στην AVH, το υγρό που εξαγγειώνεται αποτελεί εξίδρωμα που προσεγγίζει τη σύσταση του πλάσματος. Στους όγκους αυτή η συσσώρευση υγρού γενικά προκαλεί αυξημένη διάμεση πίεση (81)· αυτή η αυξημένη πίεση προκύπτει από

την επίμονη αγγειακή υπερ-διαπερατότητα, την πήξη του εξιδρώματος με απόθεση μιας ινώδους γέλης που παγιδεύει υγρό, ανεπαρκή λεμφική παροχέτευση και τους φυσικούς περιορισμούς από τους γύρω ιστούς που όλα μαζί περιορίζουν την παροχέτευση των υγρών. Ωστόσο, αυτοί οι περιορισμοί σχεδόν απουσιάζουν όταν οι όγκοι αναπτύσσονται μέσα ή γύρω από κοιλότητες του σώματος, όπως το περιτόναιο ή ο υπεζωκοτικός χώρος, όπου μεγάλες ποσότητες υγρού μπορούν να συσσωρευτούν.

Σε αντίθεση με την BVP και AVH, η εξαγγείωση υγρού στην CVH δεν προκύπτει από τα φυσιολογικά αιμοφόρα αγγεία. Αντ'αυτού, είτε πρόκειται για όγκους ή τραύματα, η εξαγγείωση προέρχεται από νεοσχηματιζόμενα, μη φυσιολογικά αιμοφόρα αγγεία. Αυτά είναι κατά κύριο λόγο τα (MV) και σε μικρότερο βαθμό τα glomeruloid microvascular proliferations (GMP) που αποτελούν τις θυγατρικές δομές των MV (81, 72) (σχηματική παρασταση). Τα MV, όπως προαναφέρθηκε, προκύπτουν από προϋπάρχοντα φυσιολογικά φλεβίδια με μία διαδικασία που περιλαμβάνει αποκόλληση των περικυττάρων, αποικοδόμη της βασικής μεμβράνης και από μία 4-5-πλάσια αύξηση στο μέγεθος του αυλού, που συνοδεύεται από εκτεταμένη αραίωση ενδοθηλιακών κυττάρων.

Το πλούσιο σε πρωτεΐνες εξίδρωμα σε CVH αλληλεπιδρά με τον ιστικό παράγοντα ενεργοποιώντας έτσι τον πηκτικό μηχανισμό με τελικό αποτέλεσμα την εναπόθεση ινικής (77). Ο ιστικός παράγοντας εκφράζεται σε πολλά καρκινικά κύτταρα όπως επίσης και διάμεσα κύτταρα και επάγεται από τον VEGF-A των ενδοθηλιακών κυττάρων (82). Μακρομόρια, όπως η φερριτίνη, εξαγγειώνονται από αυτά τα παθολογικά αγγεία (MV και GMP) διαμέσου ενός διακυτταρικού αυλού (83). Αυτό κατορθώνεται με με τον ίδιο μηχανισμό των φυσιολογικών αγγείων-τα VVO οργανίδια- μόνο που τα VVO των παθολογικών αγγείων είναι λιγότερα σε αριθμό και απλούστερα σε δομή. Έτσι η διαδικασία επιταχύνεται κατά πολύ και τα μακρομόρια περνούν μέσα από ένα ή δύο VVO πριν φτάσουν στο διάμεσο ιστό.

Τέλος, τα μακρομόρια μπορούν επίσης να εξαγγειώνονται μέσω θυρίδων που παρατηρούνται τόσο στα MV όσο και στα GMP (84). Τέτοιες θυρίδες έχουν εντοπιστεί στα καρκινικά αγγεία που τροφοδοτούν τα καρκινικά κύτταρα. Αυτού του είδους οι πόροι μέχρι πρόσφατα αποκαλούνταν διακυτταρικοί. Ωστόσο, η προσεκτική 3D αναπαράσταση τομών μέσω ηλεκτρονικού μικροσκοπίου έχει δείξει ότι οι πόροι αυτοί είναι στην πραγματικότητα ενδοκυτταρικοί, διασχίζουν δηλαδή το κυτταρόπλασμα των ενδοθηλιακών κυττάρων (Εικόνα 7).



Εικόνα 7. Ηλεκτρονική μικρογραφία τμημάτων ενός MV (α) και ενός GMP (β) σε 5 και 10 ημέρες μετά από τοπική έγχυση VEGF-A₁₆₄ και 30 λεπτά μετά in έγχυση φερριτίνης σημασμένης. Η φερριτίνη διακρίνεται στον αυλό (L), μέσα στα VVO κυστιδια-κενοτοπία και στη διάρκεια που μεταφέρεται στον εξαγγειακό χώρο(λευκά βέλη).

3.1.2 ΟΨΙΜΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΟΥ VEGF-A ΣΤΟ ΑΓΓΕΙΑΚΟ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟ

Ο VEGF-A αποτελεί μία πολυλειτουργική κυτταροκίνη που ασκεί πολλαπλές δράσεις στο αγγειακό ενδοθήλιο, οι οποίες γίνονται εμφανείς μέσα σε ώρες ή μέρες και οι οποίες επηρεάζουν την αγγειογενετική απάντηση. Αυτές περιλαμβάνουν εντυπωσιακές αλλαγές στη μορφολογία των κυττάρων που συνοδεύονται- όπως προαναφέρθηκε- και από διέγερση του πολλαπλασιασμού και της διαίρεσης των ενδοθηλιακών κυττάρων. Σε μοριακό επίπεδο, ο VEGF-A επαναπρογραμματίζει την έκφραση των γονιδίων των ενδοθηλιακών κυττάρων οδηγώντας σε αυξημένη έκφραση ενός μεγάλου αριθμού διαφορετικών πρωτεϊνών, που περιλαμβάνουν τον ιστικό παράγοντα, πρωτεΐνες σχετιζόμενες με την ινωδόλυση (ουροκινάση, υποδοχέας της ουροκινάσης, ενεργοποιητής του πλασμινογόνου, τύπου 1 αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου), μεταλλοπρωτεϊνάσες, τη συνθάση του

νιτρικού οξέος, διάφορα μιτογόνα και έναν αριθμό αντιαποπτωτικών παραγόντων(π.χ. bcl-2, AI, surviving, XIAP) (10,11, 85). Ο VEGF-A επιπλέον αποτελεί έναν κυτταρικό παράγοντα επιβίωσης, προστατεύοντας τα ενδοθηλιακά κύτταρα από την απόπτωση ενώ καθυστερεί και μπορεί να αντιστρέψει την γήρανση των ενδοθηλιακών κυττάρων (86).

3.2 ΔΡΑΣΗ ΤΟΥ VEGF-A ΣΕ ΑΛΛΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Μολονότι ενεργεί πρωταρχικώς στο αγγειακό ενδοθήλιο, ο VEGF-A αλληλεπιδρά επίσης και με άλλους τύπους κυττάρων που εκφράζουν υποδοχείς του VEGF. Έτσι, ο VEGF-A διεγείρει τη χημειοταξία των μονοκυττάρων/μακροφάγων και του πολλαπλασιασμού των λείων μυϊκών ινών της μήτρας (αλλά όχι άλλα είδη λείων μυϊκών ινών) (87). Ο VEGF-A έχει επιπλέον δράση στα λεμφοκύτταρα, στα προγονικά κοκκιοκύτταρα-μακροφάγα κύτταρα, στους οστεοβλάστες, στα κύτταρα Schwann, στα μεσαγγειακά κύτταρα, στα κύτταρα του αμφιβληστροειδούς, και ορισμένα καρκινικά κύτταρα (10, 88). Ο VEGFR-2 εκφράζεται επίσης στο λεμφικό ενδοθήλιο. Πρόσφατα, ο VEGF-A έχει επίσης δειχθεί ότι επάγει τη λεμφαγγειογένεση (89), μια διαδικασία που είχε θεωρηθεί ότι διαμεσολαβείται αποκλειστικά από τη δράση του VEGF-C επί του VEGFR-3. Είναι πιθανό ότι η λεμφαγγειογενετική επίδραση του VEGF-A διαμεσολαβείται μέσω του VEGFR-2. Είναι επίσης πιθανό ότι ο VEGF-A ασκεί αυτοκρινείς επιδράσεις (π.χ., την τόνωση της κινητικότητας, επιβίωση) σε καρκινικά κύτταρα που εκφράζουν υποδοχείς VEGF (90).

3.3 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ VEGF ΜΕ ΑΛΛΟΥΣ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΤΙΚΟΥΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Η ανάπτυξη των αγγείων είναι αποτέλεσμα συνεργασίας μεταξύ αυξητικών παραγόντων τριών διαφορετικών οικογενειών: της οικογένειας του VEGF, τις αγγειοποιητίνες και τις ephrins (91,93). Το αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης των τριών αυτών διαφορετικών ειδών αυξητικών παραγόντων είναι ένα μοντέλο σχηματισμού αγγείων στο οποίο φαίνεται πως ο VEGF συμμετέχει τόσο κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη όσο και κατά

την ενήλικη ζωή. Η αγγειοποιητίνη-1 και η ephrinB2 απαιτούνται για την περαιτέρω αναδιαμόρφωση και την ωρίμανση του αρχικού ανώριμου αγγειακού δικτύου (92). Έχει ανακοινωθεί ότι η χορήγηση μεμονωμένου VEGF σε μοντέλα πειραματοζώων οδηγεί στο σχηματισμό εύθραυστων, ανώριμων και ασταθών αγγείων. Η προσθήκη αγγειοποιητίνης-1 σταθεροποιεί και προστατεύει το ενήλικο αγγειακό δίκτυο κάνοντάς το ανθεκτικό στην καταστροφή και μειώνοντας τη διαπερατότητά του, γεγονότα τα οποία μπορεί να προκαλούνται από το VEGF ή τη φλεγμονή (92). Τα δεδομένα που υπάρχουν μέχρι σήμερα δείχνουν ότι ο VEGF και η αγγειοποιητίνη έχουν αθροιστική και συνεργική δράση (91). Τέλος, οι ephrins δρουν σε μεταγενέστερα στάδια αγγειακής ανάπτυξης στα οποία επίσης μπορεί να συμμετέχουν κατά κάποιο τρόπο στη δημιουργία αρχέγονων αγγείων (91). Είναι πολύ σημαντικό να τονίσουμε ότι όλοι οι παραπάνω παράγοντες πρέπει να συνεργαστούν με τέλεια αρμονία προκειμένου τελικώς να έχουμε το σχηματισμό λειτουργικών αγγείων (92).

3.4. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ VEGF ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ

Ο σχηματισμός του αγγειακού δικτύου του πνεύμονα περιλαμβάνει τρεις αγγειογενετικές διαδικασίες οι οποίες με τη σειρά τους οδηγούν στη δημιουργία κεντρικών αγγείων τα οποία με τη σειρά τους οδηγούν στη δημιουργία νέων μικρότερων αγγείων που εκφύονται από τα πρώτα. Στο έμβryo η αγγειογένεση (vasculogenesis) περιλαμβάνει το σχηματισμό αγγείων με δημιουργία τριχοειδών από τις αρχικές λίμνες αίματος, την επικοινωνία μεταξύ κεντρικών και περιφερικών αγγείων και τελικά τη δημιουργία του συστήματος της πνευμονικής κυκλοφορίας. Ο VEGF είναι ο βασικότερος παράγοντας ρύθμισης του σχηματισμού του πνευμονικού αγγειακού δικτύου και στις τρεις φάσεις (94). Υψηλά επίπεδα της πρωτεΐνης και του mRNA του VEGF έχουν ανιχνευτεί στον αναπτυσσόμενο πνεύμονα, υποδηλώνοντας έτσι ότι ο VEGF διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στο σχηματισμό του πνευμονικού αγγειακού δικτύου καθώς και στις αλληλεπιδράσεις του ενδοθηλίου με το επιθήλιο οι οποίες είναι βασικής σημασίας για τη φυσιολογική πνευμονική ανάπτυξη (95).

Η έκφραση της πρωτεΐνης και του mRNA του VEGF εντοπίζεται στα επιθηλιακά κύτταρα των αεραγωγών του πνεύμονα του ανθρώπινου εμβρύου στο 2ο τρίμηνο της ανάπτυξης, ενώ τα επίπεδά τους αυξάνονται με την πάροδο του χρόνου (95). Αντιθέτως, τα επίπεδα του VEGF είναι μειωμένα στα έμβρυα με βρογχοπνευμονική δυσπλασία.

Επιπρόσθετα, η ανάπτυξη των υποδοχέων του VEGF στον ανώριμο πνεύμονα οδηγεί σε μείωση της έκφρασης της συνθετάσης του NO καθώς και της δραστηριότητας του NO οδηγώντας τελικά στη δημιουργία των δομικών και λειτουργικών εκδηλώσεων της βρογχοπνευμονικής δυσπλασίας (96). Τέλος, ο VEGF διεγείρει την παραγωγή επιφανειοδραστικού παράγοντα από τα κυψελιδικά κύτταρα τύπου II, γεγονός που οδηγεί στην ωρίμανση του πνεύμονα και προστατεύει από την ανάπτυξη του συνδρόμου αναπνευστικής δυσχέρειας του νεογνού (96).

3.5 ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ VEGF ΚΑΙ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΤΟΥ ΣΤΟΝ ΠΝΕΥΜΟΝΑ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ

Παρά το γεγονός ότι ο VEGF έχει χαρακτηριστεί σαν μιτογόνο των αγγειακών ενδοθηλιακών κυττάρων, αρκετές μελέτες έχουν αποδείξει την παρουσία τόσο του ίδιου του VEGF όσο και των υποδοχέων του σε διάφορα είδη κυττάρων και σε διαφορετικά όργανα. Πιστεύεται ότι ανάμεσα στους φυσιολογικούς ιστούς ο πνεύμονας είναι το όργανο εκείνο το οποίο παρουσιάζει το μεγαλύτερο επίπεδο έκφρασης του VEGF γονιδίου (97). Τόσο ο VEGF όσο και οι υποδοχείς του (VEGFR-1, VEGFR-2 και NRP1) έχουν ανιχνευτεί σε κυψελιδικά κύτταρα τύπου II, επιθηλιακά κύτταρα των αεραγωγών, μεσεγχυματικά κύτταρα, λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων και των βρόγχων, μακροφάγα και ουδετερόφιλα (98). Σε υγιή άτομα τα επίπεδα του VEGF που παράγονται στον πνεύμονα είναι 500 φορές υψηλότερα από εκείνα του πλάσματος (99). Έχει προταθεί ότι τα επίπεδα του VEGF στην επιφάνεια του επιθηλίου των αεραγωγών λειτουργούν σε μια λειτουργική δεξαμενή VEGF (99). Οι πιθανές κυτταρικές πηγές από τις οποίες παράγεται ο VEGF περιλαμβάνουν τα κυψελιδικά και τα επιθηλιακά κύτταρα των αεραγωγών (100), καθώς και τα λεία μυϊκά κύτταρα (99). Τα φυσιολογικά κυψελιδικά μακροφάγα παράγουν πολύ μικρές ποσότητες VEGF. Επιπρόσθετα, παρόλο που τα ουδετερόφιλα μεταφέρουν ενδοκυτταρίως ποσότητες VEGF, ο αριθμός τους στο φυσιολογικό πνεύμονα είναι πολύ μικρός. Έτσι, σε φυσιολογικά άτομα, κανένας από τους δύο αυτούς τύπους κυττάρων δεν είναι πιθανόν να επηρεάζει τα επίπεδα του VEGF στις κυψελίδες. Ο VEGF πιθανώς να διαχέεται αργά διαμέσου του κυψελιδικού επιθηλίου στο γειτονικό αγγειακό ενδοθήλιο και να δρα παρακρινώς. Ωστόσο, κατά τη διάρκεια παθολογικών καταστάσεων η έκφραση τόσο του VEGF όσο και των υποδοχέων του επηρεάζεται και το γεγονός αυτό συχνά σχετίζεται με την παθοφυσιολογία και τα

χαρακτηριστικά της κάθε νόσου. Τέλος, τα ανθρώπινα μεσοθηλιακά κύτταρα είναι γνωστό ότι αποτελούν πηγή των αυξημένων συγκεντρώσεων VEGF στο πλευριτικό υγρό (101) ενώ επιπλέον φαίνεται να εκφράζουν και τον VEGFR-1 (102).

3.6 ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΥΓΡΑ ΚΑΤΑΛΛΗΛΑ ΓΙΑ ΤΗ ΜΕΤΡΗΣΗ VEGF

Τα επίπεδα του VEGF κατά καιρούς έχουν μετρηθεί σε διάφορα είδη βιολογικών υγρών καθώς και κυττάρων του πνευμονικού παρεγχύματος. Τα συχνότερα χρησιμοποιούμενα υλικά για τη μέτρησή του είναι στο αίμα (και πιο συγκεκριμένα ο ορός ή το πλάσμα), το βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα (BAL), και τα πτύελα. Επιπλέον, η έκφρασή του έχει υπολογιστεί στα βρογχικά επιθηλιακά κύτταρα, τα κυψελιδικά κύτταρα τύπου II, τα κυψελιδικά μακροφάγα, τα ουδετερόφιλα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα των κυψελιδικών τριχοειδών καθώς και τα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων και των βρόγχων.

Είναι επιπλέον πολύ σημαντικό να τονιστεί ότι τα μετρούμενα επίπεδα VEGF στον ορό είναι υψηλότερα από εκείνα του πλάσματος. Η αιτία για τη διαφορά αυτή είναι ότι τα επίπεδα VEGF στον ορό αντικατοπτρίζουν μια *ex vivo* ποσότητα VEGF η οποία απελευθερώνεται από τα αιμοπετάλια και τα λευκοκύτταρα κατά το σχηματισμό του πύγματος, γεγονός το οποίο οδηγεί σε αύξηση των μετρούμενων συγκεντρώσεων του VEGF από 2 έως και 7 φορές (103).

Τα επίπεδα του VEGF στο BAL ουσιαστικά αντικατοπτρίζουν τα επίπεδα του VEGF στο υγρό που καλύπτει το επιθήλιο των αεραγωγών. Προκειμένου να υπολογίσουμε τη συγκέντρωση του VEGF υγρό που καλύπτει το επιθήλιο των αεραγωγών οι ερευνητές έχουν συμφωνήσει ότι ο VEGF στο BAL είναι αραιωμένος περίπου 100 φορές συγκρινόμενος με το κυψελιδικό υγρό (100). Στα υγιή άτομα, τα επίπεδα του VEGF στο υγρό που καλύπτει το επιθήλιο των αεραγωγών είναι 500 φορές υψηλότερα απ'ότι στο πλάσμα (101).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. Ο VEGF ΣΕ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ ΚΑΙ ΤΟΥ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ

Στον ανθρώπινο οργανισμό έχουν παρατηρηθεί αυξημένα ή μειωμένα επίπεδα VEGF σε διάφορα νοσήματα του αναπνευστικού και έχουν σχετιστεί με τις διαφορετικές κλινικές εκφάνσεις αυτών των νοσολογικών οντότητων. Ακολουθεί αναλυτική περιγραφή του ρόλου του VEGF σε διάφορα νοσήματα του πνεύμονα και του υπεζωκότα.

4.1.1. ΟΞΕΙΑ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΒΛΑΒΗ ΚΑΙ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΟΞΕΙΑΣ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΗΣ ΔΥΣΧΕΡΕΙΑΣ

Το σύνδρομο οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS) αποτελεί την πιο ακραία εκδήλωση της οξείας πνευμονικής βλάβης (104). Η πνευμονική βλάβη στο ARDS οδηγεί σε καταστροφή της κυψελιδοαρτηριακής μεμβράνης η οποία οδηγεί σε σοβαρή διαταραχή της ανταλλαγής των αερίων καθώς και σε παθολογικά ευρήματα στην ακτινογραφία του πνεύμονα. Η κατάσταση αυτή συνήθως ακολουθεί σοβαρή πνευμονική βλάβη και χαρακτηρίζεται από απουσία καρδιακής ανεπάρκειας (105). Τα χαρακτηριστικά της οξείας πνευμονικής βλάβης είναι η αυξημένη διαπερατότητα των τριχοειδών, το διάμεσο και το κυψελιδικό οίδημα, η διήθηση από κυκλοφορούντα φλεγμονώδη κύτταρα και ο σχηματισμός υαλοειδών μεμβρανών (105). Σε γενικές γραμμές θεωρείται ότι οι μεσολαβητές της φλεγμονής προκαλούν μια οξεία φλεγμονώδη αντίδραση στα πνευμονικά αγγεία ενώ τα προϊόντα των φλεγμονωδών κυττάρων που παράγονται τοπικά οδηγούν σε αύξηση της διαπερατότητας (106). Πληθώρα αγγειοδραστικών παραγόντων απελευθερώνονται και ρυθμίζουν τον αγγειακό τόνο σε τοπικό επίπεδο. Το αποτέλεσμα είναι η απώλεια της λειτουργικότητας και της φυσιολογικής δομής των αγγείων. Ο VEGF φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία αυτή.

Ο πιθανός ρόλος του VEGF στο ARDS έχει μελετηθεί και στις δυο πλευρές της κυψελιδοαρτηριακής μεμβράνης (106). Έχει αποδειχθεί ότι τα επίπεδα του VEGF στο

πλάσμα σε ασθενείς με ARDS είναι αυξημένα σε σχέση με την ομάδα ελέγχου (106). Επιπρόσθετα, η μεταβολή των επιπέδων του VEGF στο χρόνο, φαίνεται να σχετίζεται με την έκβαση των ασθενών – οι ασθενείς οι οποίοι τελικά κατέληξαν εμφάνιζαν υψηλότερα επίπεδα VEGF σε σύγκριση με εκείνους που επιβίωσαν (106). Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι οι αυξήσεις στις τιμές του VEGF στο πλάσμα πάνω από 100% σε σχέση με τις αρχικές τιμές σχετίζονταν με θνητότητα 100% (106). Οι ίδιοι ερευνητές διαπίστωσαν επιπλέον ότι τα επίπεδα του VEGF στο υγρό που καλύπτει το αναπνευστικό επιθήλιο των ασθενών με ARDS ήταν σημαντικά χαμηλότερα σε σύγκριση με αυτά της ομάδας ελέγχου (107). Σε αντίθεση με το πλάσμα, τα αυξημένα επίπεδα VEGF στο υγρό που καλύπτει τις κυψελίδες σχετίζονταν με καλή έκβαση των ασθενών (107). Οι συγγραφείς υποστηρίζουν ότι ο πνεύμονας πιθανώς αποτελεί μια δεξαμενή VEGF και ότι τα αποτελέσματά είναι ολέθρια όταν ο επιθηλιακός φραγμός καταστραφεί (107). Η ενδοτραχειακή χορήγηση VEGF φαίνεται να προκαλεί μια δόσοεξαρτώμενη αύξηση στο υγρό του εξωαγγειακού χώρου ενώ η ιστολογική εξέταση του πνευμονικού παρεγχύματος εμφανίζει εκτεταμένο ενδοκυψελιδικό οίδημα και αυξημένη διαπερατότητα των πνευμονικών τριχοειδών (97). Σύμφωνα με τα παραπάνω, μπορεί κανείς να οδηγηθεί στο συμπέρασμα ότι στην περίπτωση του πνευμονικού οιδήματος από αυξημένη υδροστατική πίεση, στο οποίο η κυψελιδοτριχοειδική μεμβράνη είναι ακέραια, τα επίπεδα του VEGF στο υγρό του πνευμονικού οιδήματος θα πρέπει να είναι υψηλότερα από ότι στην περίπτωση του ARDS (108).

Παρόλα αυτά, τα επίπεδα του VEGF τόσο στο υγρό του πνευμονικού οιδήματος όσο και στο πλάσμα, δεν φαίνεται να διαφέρουν ανάμεσα στους ασθενείς με πνευμονικό οίδημα οφειλόμενο σε αυξημένη υδροστατική πίεση και στους ασθενείς με ARDS (108). Μια πιθανή επεξήγηση των παραπάνω αποτελεσμάτων είναι ότι τα χαμηλά επίπεδα κυψελιδικού VEGF τόσο στο υγρό που καλύπτει τις κυψελίδες όσο και στο πνευμονικό οίδημα από αυξημένη υδροστατική πίεση μπορεί να οφείλονται σε αραίωση εξαιτίας της εξίδρωσης υγρού παρά στην ύπαρξη πνευμονικής βλάβης (108). Στα πρώιμα στάδια βλάβης του πνευμονικού παρεγχύματος διαφορετικοί βλαπτικοί παράγοντες και προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες διεγείρουν την παραγωγή και την απελευθέρωση του VEGF από τα πνευμονοκύτταρα τύπου II, τα κυψελιδικά μακροφάγα και τα ουδετερόφιλα. Το γεγονός αυτό έχει σαν αποτέλεσμα η κυψελιδοτριχοειδική μεμβράνη να εκτίθεται σε αυξημένες συγκεντρώσεις VEGF οι οποίες οδηγούν σε αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας με αποτέλεσμα τη δημιουργία διάμεσου οιδήματος (105). Κατά τη διάρκεια της βλάβης του πνευμονικού παρεγχύματος, η καταστροφή των κυττάρων της κυψελιδοτριχοειδικής μεμβράνης οδηγεί σε μείωση παραγωγής VEGF με αποτέλεσμα να ανιχνεύονται χαμηλές συγκεντρώσεις του μορίου στο

βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα (BAL) των ασθενών αυτών. Η απελευθέρωση VEGF από άλλα όργανα και κυκλοφορούντα λευκοκύτταρα μπορεί επιπρόσθετα να συμβάλλει στην αύξηση των επιπέδων του VEGF στον ορό των ασθενών με ARDS (105). Τέλος, κατά τη διάρκεια της ανάκαμψης από την οξεία πνευμονική βλάβη, τα κυψελιδικά κύτταρα αναγεννώνται και η αύξηση της τοπικής παραγωγής VEGF από αυτά μπορεί να διαδραματίζει ρόλο στην επούλωση και την αγγειογένεση δρώντας στους VEGFR-2 (105). Από την άλλη μεριά, έχει δειχθεί ότι η παραγωγή VEGF, η οποία διεγείρεται από την IL-13 σε πειραματόζωα προστατεύει από την εμφάνιση οξείας πνευμονικής βλάβης από μεγάλες συγκεντρώσεις οξυγόνου (109). Επιπλέον, φαίνεται ότι ο VEGF διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο στην αγγειογένεση των πνευμονικών αγγείων καθώς διεγείρει την ανάπτυξη των ενδοθηλιακών κυττάρων. Φαίνεται επίσης ότι ο VEGF συμβάλλει και στην ανάπτυξη των επιθηλιακών κυττάρων του πνεύμονα. Σύμφωνα με τα παραπάνω, η ρύθμιση της σύνθεσης του VEGF στον πνεύμονα μπορεί να επηρεάζει την επούλωση μετά από οξεία πνευμονική βλάβη (100).

Οι παραπάνω παρατηρήσεις δείχνουν ότι η έκφραση και η δράση του VEGF στο ARDS ποικίλει. Τα αποτελέσματα της βιολογικής του δραστηριότητας εξαρτώνται από τις παθοφυσιολογικές καταστάσεις, το χρόνο, και το βαθμό της βλάβης του πνευμονικού επιθηλίου (105). Δεν είναι σαφές το κατά πόσο ο VEGF δρα σαν αιτία για την ανάπτυξη του ARDS ή σαν μεσολαβητής ο οποίος προάγει την επιδιόρθωση. Ωστόσο, κανένα συμπέρασμα σχετικά με τη βιολογική δράση του VEGF στο ARDS δεν μπορεί να βασιστεί μόνο στη μέτρηση των επιπέδων του και για το λόγο αυτό απαιτείται εκτεταμένη έρευνα προκειμένου να καθοριστεί ο ρόλος του μορίου αυτού με μεγαλύτερη ασφάλεια.

4.1.2. ΑΣΘΜΑ

Το βρογχικό άσθμα χαρακτηρίζεται από ποικίλου βαθμού απόφραξη των αεραγωγών και βρογχική υπεραντιδραστικότητα (110). Μερικές από τις συνηθέστερες μεταβολές στα τοιχώματα των αεραγωγών των ασθενών με άσθμα είναι η αποφολίδωση του επιθηλίου, η υπερπλασία των καλκοειδών κυττάρων, η υπερτροφία και υπερπλασία των λείων μυϊκών κυττάρων και η αύξηση και ο πολλαπλασιασμός νεόπλαστων αγγείων (111). Σε ασθενείς με άσθμα έχουν βρεθεί αυξημένα επίπεδα VEGF στα προκλητά πτύελα (111,112), το BAL (113), καθώς και πολλά VEGF-θετικά κύτταρα στις βρογχικές βιοψίες (114,115) συγκριτικά με τους υγιείς μάρτυρες. Η αυξημένη αγγείωση του βλεννογόνου των ασθματικών ασθενών φαίνεται να σχετίζεται με τον αυξημένο αριθμό VEGF θετικών κυττάρων γεγονός το οποίο υποδηλώνει ένα παθογενετικό ρόλο για το VEGF στο βρογχικό βλεννογόνο των ασθενών με

άσθμα (115). Επιπρόσθετα, τα αυξημένα επίπεδα VEGF σε ασθενείς με άσθμα φαίνεται να σχετίζονται αρνητικά με το βαθμό της απόφραξης των αεραγωγών και θετικά με το βαθμό της ηωσινοφιλικής φλεγμονής και με έναν δείκτη ο οποίος υποδηλώνει την αγγειακή διαπερατότητα (115). Η αύξηση της αγγειακής διαπερατότητας στους αεραγωγούς των ασθματικών ασθενών έχει επίσης προταθεί σαν ένας μηχανισμός οποίος είναι μερικώς υπεύθυνος για το βρογχόσπασμο που εκλύεται κατά την άσκηση (112). Εκτός από το ρόλο του στη διαπερατότητα των αγγείων του ασθματικού βλεννογόνου, ο VEGF φαίνεται να σχετίζεται με την αύξηση του πάχους της βασικής μεμβράνης σε βιοψίες από ασθματικούς ασθενείς γεγονός το οποίο υποδηλώνει ότι διαδραματίζει ενεργό ρόλο στην αναδιαμόρφωση (remodeling) των αεραγωγών (116).

Η θεραπεία των ασθματικών ασθενών με εισπνεόμενα κορτικοστεροειδή οδηγεί στην μείωση των επιπέδων VEGF στα προκλητά πτύελα. Παρόλα αυτά οι ασθενείς με άσθμα εξακολουθούσαν να έχουν υψηλότερα επίπεδα VEGF στα προκλητά πτύελα σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες ακόμα και μετά τη λήψη θεραπείας με εισπνεόμενα κορτικοστεροειδή (111). Η αναστολή της έκφρασης VEGF από τα κορτικοστεροειδή φαίνεται και *in vitro* σε καλλιέργειες λείων μυϊκών κυττάρων και επιθηλιακών κυττάρων (117,118). Οι ανταγωνιστές των υποδοχέων των κυστενικών λευκοτριενίων μείωναν την έκφραση VEGF σε πειραματόζωα με αλλεργικό άσθμα (119). Μείωση των επιπέδων VEGF στα προκλητά πτύελα παρατηρήθηκαν επίσης μετά από θεραπεία με pranlucast, έναν εκλεκτικό ανταγωνιστή των υποδοχέων λευκοτριενίων σε ασθενείς με βρογχικό άσθμα, οι οποίοι δεν είχαν προηγουμένως λάβει κορτικοστεροειδή. Ωστόσο, η προσθήκη pranlucast στα εισπνεόμενα κορτικοστεροειδή προσέθετε λίγα στη μείωση των επιπέδων του VEGF των αεραγωγών (120). Σε πειραματόζωα, βρέθηκε επιπλέον ότι η χορήγηση ενός αναστολέα των VEGFR οδηγούσε σε μείωση της διαφυγής πλάσματος, και μείωνε τη βρογχική υπεραντιδραστικότητα και τη μετανάστευση φλεγμονωδών κυττάρων διαμέσου της βασικής μεμβράνης του ενδοθηλίου (121).

4.1.3. ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΥΠΕΡΤΑΣΗ

Είναι γνωστό ότι σε ασθενείς με πνευμονική υπέρταση (Π.Υ.) παρατηρούνται ποικίλες μορφολογικές μεταβολές στο πνευμονικό αγγειακό δίκτυο (122). Ο VEGF διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στην επιβίωση των ενδοθηλιακών κυττάρων του πνευμονικού

αγγειακού δικτύου (123). Διάφορες μελέτες έδειξαν ότι ο VEGF διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της πνευμονικής υπέρτασης. Ωστόσο, υπάρχουν και μελέτες οι οποίες υποστηρίζουν ότι ο VEGF δρα προστατευτικά στην ανάπτυξη πνευμονικής υπέρτασης πιθανώς προστατεύοντας τα ενδοθηλιακά κύτταρα από τη βλάβη και την απόπτωση (124).

Τόσο στην πρωτοπαθή όσο και στη δευτεροπαθή πνευμονική υπέρταση παρατηρούνται χαρακτηριστικοί αγγειακοί σχηματισμοί οι οποίοι καλούνται plexiforms (125). Έχει βρεθεί ότι τόσο ο VEGF όσο και οι υποδοχείς του flt-1 και flk-1 εκφράζονται σε σημαντικές ποσότητες στους αγγειακούς αυτούς σχηματισμούς, ενώ υπάρχουν ενδείξεις ότι μπορεί να συμμετέχουν στην παθογένεια της πνευμονικής υπέρτασης μέσω διέγερσης παθολογικής αγγειογένεσης (122). Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι ο VEGF αυξάνει την έκφραση ιστικού παράγοντα και πιθανώς διαδραματίζει ρόλο σε διάφορες φλεγμονώδεις διαδικασίες (123). Παρόλο που είναι γεγονός ότι η έλλειψη VEGF προκαλεί θάνατο των ενδοθηλιακών κυττάρων, η υπερέκφραση του μορίου οδηγεί σε σχηματισμό δομών που μοιάζουν πολύ με τα plexiforms (123). Επιπρόσθετα, σε μοντέλα ζώων στα οποία προκλήθηκε χειρουργικά πνευμονική υπέρταση, με αύξηση της αιματικής ροής στην πνευμονική κυκλοφορία, η έκφραση τόσο του VEGF όσο και των υποδοχέων του ήταν υψηλότερη απ' ό,τι στην ομάδα ελέγχου και το γεγονός αυτό φαίνεται να διαδραματίζει ρόλο στην αγγειακή αναδιαμόρφωση που παρατηρείται στην πνευμονική υπέρταση (126).

Αντίθετα, έχει αναφερθεί ότι η αναστολή του flk-1 σε μοντέλα πειραματοζώων οδηγούσε σε δημιουργία πνευμονικής υπέρτασης, η οποία χαρακτηριζόταν από πάχυνση της μέσης στοιβάδας των πνευμονικών αρτηριών σε καταστάσεις φυσιολογικής μερικής πίεσης οξυγόνου, ενώ γινόταν ακόμα πιο έντονη σε καταστάσεις υποξίας οπότε και παρατηρούνταν επιπλέον έντονος πολλαπλασιασμός των ενδοθηλιακών κυττάρων των πνευμονικών αγγείων (127). Τα δεδομένα αυτά υποδηλώνουν ότι ο VEGF δρώντας μέσω του flk-1 διαδραματίζει προστατευτικό ρόλο και αναστέλλει το θάνατο των ενδοθηλιακών κυττάρων (127). Ο προστατευτικός ρόλος του VEGF στην ανάπτυξη πνευμονικής υπέρτασης μπορεί επίσης να υποστηριχτεί από το γεγονός ότι ο VEGF διεγείρει την παραγωγή NO από το αγγειακό ενδοθήλιο και αυξάνει την τοπική παραγωγή Enos (128). Επιπρόσθετα, φαίνεται ότι η γονιδιακή μεταφορά VEGF σε μοντέλα πειραματοζώων μπορεί να μειώσει την πνευμονική υπέρταση η οποία προκαλείται από μπλεομυκίνη (129).

Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι ο VEGF των αιμοπεταλίων όπως και τα επίπεδα του VEGF στον ορό βρέθηκαν αυξημένα σε ασθενείς τόσο με πρωτοπαθή όσο και με δευτεροπαθή πνευμονική υπέρταση σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες πιθανώς οδηγώντας σε αύξηση του VEGF στις περιοχές στις οποίες υπήρχε πνευμονική βλάβη (130). Ενδιαφέρον

παρουσιάζει το γεγονός ότι ο VEGF των αιμοπεταλίων αυξανόταν ακόμη περισσότερο κατά τη συνεχή έγχυση προστακυκλίνης υποδηλώνοντας ότι η προστακυκλίνη αυξάνει τα κυκλοφορούντα επίπεδα VEGF (130). Ένα σημαντικό ερώτημα το οποίο προκύπτει από τις μελέτες είναι κατά πόσο τα αυξημένα επίπεδα VEGF των αιμοπεταλίων και η αυξημένη απελευθέρωση VEGF στα σημεία της αγγειακής βλάβης έχουν προστατευτικό ή βλαπτικό ρόλο. Ο ακριβής ρόλος του VEGF στην παθογένεια της πνευμονικής υπέρτασης και στη δημιουργία της αναδιαμόρφωσης των αγγείων που παρατηρείται στην κατάσταση αυτή παραμένει άγνωστος (130).

4.1.4. ΙΔΙΟΠΑΘΗΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΙΝΩΣΗ

Η ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση αποτελεί μια ειδική μορφή χρόνιας, προοδευτικά επιδεινούμενης ινοποιού διάμεσης πνευμονοπάθειας αγνώστου αιτιολογίας που προσβάλλει κυρίως ασθενείς προχωρημένης ηλικίας, περιορίζεται στον πνεύμονα και σχετίζεται με το ιστολογικό και/ή ακτινολογικό πρότυπο της συνήθους διάμεσης πνευμονίας. Η διάγνωση προϋποθέτει τον αποκλεισμό άλλων αιτιών ιδιοπαθούς ή δευτεροπαθούς διάμεσης πνευμονίας και χαρακτηρίζεται από προοδευτικά επιδεινούμενη δύσπνοια, έκπτωση της πνευμονικής λειτουργίας και συνοδεύεται από πτωχή πρόγνωση. Η παθογένεια της ιδιοπαθούς πνευμονικής ίνωσης (IPF) χαρακτηρίζεται από μια αρχική φλεγμονώδη αντίδραση η οποία τελικά οδηγεί σε χρόνια ινωτική διαδικασία. Στην ινωτική αυτή διαδικασία εμπλέκονται το εξωκυττάριο υλικό καθώς και διάφοροι τύποι κυττάρων με αποτέλεσμα η αρχιτεκτονική του πνεύμονα να καταστρέφεται (131). Οι βιοψίες πνεύμονα στην περίπτωση της IPF προσομοιάζουν ιστολογικά με την εικόνα της συνήθους διάμεσης πνευμονίας η οποία χαρακτηρίζεται από ετερογενή και ανομοιόμορφη ινωτική διαδικασία, με εναλλαγές περιοχών ίνωσης ή/και μελικυρήθρας με περιοχές φυσιολογικού πνευμονικού παρεγχύματος. Μελέτες έδειξαν ότι οι συγκεντρώσεις του VEGF στο πλάσμα δε διέφεραν ανάμεσα στους ασθενείς με IPF και την ομάδα ελέγχου. Ωστόσο, τα επίπεδα του VEGF στους ασθενείς με IPF παρουσιάζουν συσχέτιση με την έκταση των παρεγχυματικών βλαβών στην υψηλής ευκρίνειας αξονική τομογραφία θώρακα. Επιπρόσθετα, έχει περιγραφεί ότι οι ασθενείς με IPF οι οποίοι ανέπτυσαν προοδευτικά επιδεινούμενη νόσο είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα VEGF στο πλάσμα (132). Αντίθετα, τα επίπεδα του VEGF στο BAL ασθενών με IPF βρέθηκαν εξαιρετικά μειωμένα ενώ παρουσίαζαν συσχέτιση με τη διαχυτική ικανότητα για το μονοξείδιο του άνθρακα (DLco) (133-135). Η τελευταία αυτή συσχέτιση πιθανώς να αντικατοπτρίζει τη μειωμένη επιφάνεια του επιθηλίου και τη μειωμένη έκφραση

του γονιδίου και τη χαμηλή ενδοαυλική έγχυση VEGF (133).

Ο ρόλος του VEGF στην IPF παραμένει αμφιλεγόμενος. Είναι γνωστή η ετερογένεια της αγγειακής αναδιαμόρφωσης στην IPF καθώς και το γεγονός ότι η αγγείωση είναι πλούσια στις περιοχές με μικρό βαθμό ίνωσης και εξαιρετικά πτωχή στις περιοχές με περισσότερο εκτεταμένες ινωτικές βλάβες (136). Έχει βρεθεί ότι υπάρχει αύξηση της έκφρασης του VEGF στα ενδοθηλιακά κύτταρα των τριχοειδών και στα κυψελιδικά κύτταρα τύπου II στις περιοχές που χαρακτηρίζονται από έντονη αγγείωση. Αντίθετα, οι ινοβλάστες και τα λευκοκύτταρα στις ινωτικές περιοχές εξέφραζαν εξαιρετικά χαμηλές ποσότητες VEGF, γεγονός που υποδηλώνει ότι ο VEGF διαδραματίζει πιθανώς σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της αγγειακής ετερογένειας που παρατηρείται στην IPF (136). Το ερώτημα το οποίο προκύπτει από τα παραπάνω είναι κατά πόσο η αυξημένη αγγειακή πυκνότητα που παρατηρείται στις περιοχές με λιγότερη ίνωση είναι ουσιαστικά ένα αποτέλεσμα της ινωτικής διαδικασίας ή αναπαριστά ένα είδος αμυντικού μηχανισμού (137).

4.1.5 ΣΑΡΚΟΕΙΔΩΣΗ

Η σαρκοείδωση είναι μια πολυσυστηματική νόσος αγνώστου αιτιολογίας με συχνές πνευμονικές εκδηλώσεις οι οποίες σχετίζονται με κοκκιοματώδεις, μη τυρεοειδοποιημένες βλάβες σε διάφορα όργανα (138). Στα σαρκοειδικά κοκκιώματα του πνεύμονα έχει διαπιστωθεί αυξημένη μεταγραφική δραστηριότητα του γονιδίου του VEGF και παραγωγή VEGF πρωτεΐνης αλλά και υποδοχέων VEGF οι οποίοι εντοπίζονται στα ενεργοποιημένα κυψελιδικά μακροφάγα, επιθηλιοειδή κύτταρα και πολυπύρηννα γιγαντοκύτταρα (138). Οι συγκεντρώσεις VEGF στον ορό ήταν υψηλότερες στους ασθενείς εκείνους οι οποίοι λάμβαναν κορτικοστεροειδή παρά σε εκείνους οι οποίοι δεν έχρηζαν θεραπεία με κορτικοστεροειδή. Επιπρόσθετα, τα επίπεδα VEGF ήταν υψηλότερα σε ασθενείς με εξωθωρακική εντόπιση παρά σε εκείνους στους οποίους η νόσος ήταν περιορισμένη στη θωρακική κοιλότητα. Με βάση τα παραπάνω δεδομένα, έχει υποστηριχτεί ότι ο VEGF αναπαριστά έναν δείκτη σοβαρότητας της νόσου και συμμετοχής εξωθωρακικών οργάνων στη σαρκοείδωση (139). Αντίθετα, τα επίπεδα VEGF στο BAL ασθενών με σαρκοείδωση ήταν σημαντικά χαμηλότερα από ότι εκείνα των υγιών μαρτύρων. Τα χαμηλά επίπεδα VEGF στο πνευμονικό παρέγχυμα μπορεί να μειώνουν την αγγειογένεση και να προάγουν την απόπτωση των αγγειακών ενδοθηλιακών κυττάρων διαδραματίζοντας με τον τρόπο αυτό ρόλο στην παθογένεια της πνευμονικής συμμετοχής στη σαρκοείδωση.

4.1.6 ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΑΠΟΦΡΑΚΤΙΚΗΣ ΑΠΝΟΙΑΣ ΣΤΟΝ ΥΠΝΟ

Το σύνδρομο αποφρακτικού τύπου άπνοιας στον ύπνο χαρακτηρίζεται από επαναλαμβανόμενα επεισόδια υποξυγοναιμίας κατά τη διάρκεια του ύπνου (140). Τα επεισόδια αποκορεσμού του αρτηριακού αίματος τα οποία μπορεί να εμφανιστούν σε ασθενείς με αποφρακτική άπνοια στον ύπνο έχουν συνδεθεί με αυξημένα ποσοστά νοσηρότητας και θνητότητας από καρδιαγγειακές παθήσεις (140). Έχει ανακοινωθεί ότι οι ασθενείς με σύνδρομο αποφρακτικής άπνοιας στον ύπνο εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα VEGF τόσο στον ορό όσο και στο πλάσμα σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες. Τα κυκλοφορούντα επίπεδα VEGF σχετίζονται με τη σοβαρότητα του συνδρόμου αποφρακτικών απνοιών όπως αυτή εκφράζεται με βάση το δείκτη απνοιών-υποπνοιών, καθώς και με το βαθμό των νυχτερινών αποκορεσμών (143). Έχει προταθεί ότι η αύξηση αυτή των επιπέδων του VEGF πιθανώς αναπαριστά μια απάντηση στη νυχτερινή υποξυγοναιμία (141). Θεραπευτικές παρεμβάσεις όπως η χορήγηση οξυγόνου κατά τη διάρκεια της νύχτας και η χορήγηση συνεχούς θετικής πίεσης στον αεραγωγό (continuous positive airway pressure, CPAP) διαμέσου της ρινός, οδηγούν σε μείωση των επιπέδων του VEGF (142). Ωστόσο, στις διαταραχές της αναπνοής κατά τον ύπνο σε παιδιά δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές μεταβολές στα επίπεδα του VEGF (144).

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το σύνδρομο αποφρακτικής άπνοιας στον ύπνο σχετίζεται με σημαντική νοσηρότητα και θνητότητα από καρδιαγγειακές παθήσεις (140). Παρόλα αυτά έχει παρατηρηθεί ότι ο κίνδυνος ανάπτυξης καρδιαγγειακής νόσου δεν σχετίζεται με τη σοβαρότητα του συνδρόμου (143). Με βάση αυτή την παρατήρηση, έχει προταθεί ότι πιθανώς υπάρχει κάποιος υποκείμενος μηχανισμός ο οποίος προστατεύει τους ασθενείς με σύνδρομο αποφρακτικής άπνοιας στον ύπνο από την ανάπτυξη επιπλοκών από το καρδιαγγειακό σύστημα και ο VEGF πιθανώς να είναι μέρος του προστατευτικού αυτού μηχανισμού (143). Παρόλα αυτά, είναι γνωστό ότι εκτός από το ρόλο του VEGF στην αγγειογένεση, το μόριο συμμετέχει και στην αθηρωματική διαδικασία και σχετίζεται με την εξέλιξη της αρτηριοσκλήρυνσης των στεφανιαίων αγγείων (145). Με βάση την παρατήρηση αυτή υπάρχει ασυμφωνία σχετικά με το κατά πόσο τα αυξημένα επίπεδα VEGF στους ασθενείς με αποφρακτική άπνοια στον ύπνο συμβάλλουν στην ανάπτυξη καρδιαγγειακών παθήσεων μέσω της προαγωγής της αθηρωματικής διαδικασίας.

4.1.7. ΦΥΜΑΤΙΩΣΗ

Τα κυκλοφορούντα επίπεδα VEGF έχουν βρεθεί αυξημένα στους ασθενείς με ενεργό φυματίωση σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες και με ασθενείς με παλιά φυματίωση, ενώ φαίνεται να μειώνονται μετά από τη χορήγηση θεραπείας (146,7). Η πηγή του VEGF στην πνευμονική φυματίωση φαίνεται να είναι τα κυψελιδικά μακροφάγα και τα CD4 T-λεμφοκύτταρα (147,8). Τα επίπεδα του VEGF στον ορό έχουν βρεθεί υψηλότερα σε ασθενείς με φυματίωση χωρίς ανάπτυξη σπηλαίων σε σχέση με εκείνους στους οποίους έχουν αναπτυχθεί σπήλαια, γεγονός το οποίο υποδηλώνει ότι τα αυξημένα επίπεδα VEGF μπορεί να προστατεύουν από την ανάπτυξη σπηλαίων (149). Ωστόσο, τα ευρήματα αυτά δεν επιβεβαιώθηκαν με μεταγενέστερες μελέτες (146). Δύο μελέτες προτείνουν ότι τα επίπεδα του VEGF στον ορό μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διάγνωση της ενεργού φυματίωσης με μεγάλη ευαισθησία (93% και 95.8 % για cut-off τιμές 250 pg/ml και 458.5 pg/ml, αντίστοιχα) αλλά με σχετικά μικρή ειδικότητα (146,147). Είναι γεγονός πως ο VEGF μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν δείκτης ενεργότητας της νόσου στη φυματίωση, ωστόσο, περαιτέρω μελέτες απαιτούνται προς την κατεύθυνση αυτή.

4.1.8 ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΝΕΟΠΛΑΣΙΑΣ, ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ

Τα επίπεδα του VEGF-A που εκφράζονται από τα καρκινικά κύτταρα έχουν βρεθεί ότι συσχετίζονται με πτωχή πρόγνωση σε πολλούς διαφορετικούς τύπους καρκίνων, συμπεριλαμβανομένων των καρκινωμάτων του μαστού, των νεφρών, του παχέος εντέρου, του εγκεφάλου, των ωοθηκών, του τραχήλου της μήτρας, του θυρεοειδούς, της ουροδόχου κύστης, του οισοφάγου και του προστάτη, όπως και σε σαρκώματα μαλακών μορίων και παιδιατρικούς όγκους (40,44,150). Σε όλες αυτές τις αναφορές, τα επίπεδα του VEGF-A (που μετρούνται σε διαφορετικές μελέτες με ανοσοϊστοχημεία, υβριδοποίηση in situ, ποσοτικές ανοσοδοκιμασίες, Western blotting ή αντίστροφη μεταγραφάση-αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης) συσχετίζονται με έναν ή περισσότερους από τους ακόλουθους προγνωστικούς παράγοντες: το μέγεθος του όγκου, τον αριθμό των μεταστάσεων, το

βραχύτερο διάστημα ελεύθερο νόσου και τη συνολική επιβίωση. Επίσης, τα επίπεδα VEGF-A mRNA έχουν βρεθεί να συσχετίζονται με την αγγειακή πυκνότητα σε μερικά (π.χ., καρκινώματα του τραχήλου της μήτρας, του μαστού), αλλά όχι όλα τα είδη καρκίνου (151,152).

Μολονότι δεν έχει ακόμη διερευνηθεί διεξοδικά, είναι σαφές ότι οι μεταστατικοί όγκοι υπερεκφράζουν επίσης VEGF-A, όπως και οι πρωτοπαθείς όγκοι από τους οποίους προέρχονται (10,11,153). Από τα παραπάνω, είναι σαφές ότι η ποσότητα του VEGF-A που εκφράζεται από τους όγκους επηρεάζει την κλινική έκβαση· παρόλα αυτά καμία από τις τεχνικές που χρησιμοποιούνται για να μετρήσουν τα επίπεδα της έκφρασης του VEGF-A σε συμπαγείς όγκους δεν αποτελεί εξέταση ρουτίνας και είναι αβέβαιο αυτή τη στιγμή αν πραγματοποιούταν τέτοιου είδους μελέτες, αν θα ήταν κλινικά χρήσιμες ή cost-effective για την πρόγνωση της έκβασης των ασθενών.

Τα επίπεδα του VEGF-A μπορούν να μετρηθούν πιο εύκολα στα σωματικά υγρά από ό,τι σε συμπαγείς όγκους και είναι καλά τεκμηριωμένο ότι οι ασθενείς με μεγάλο καρκινικό φορτίο και εκτεταμένη μεταστατική νόσο έχουν αυξημένα επίπεδα κυκλοφορούντος VEGF-A, όπως μετράται με ενζυμικό ανοσοπροσροφητικό προσδιορισμό (ELISA) ή άλλο προσδιορισμό. Σε αυτές και άλλες μελέτες, υψηλά επίπεδα VEGF-A ορού σε ασθενείς με καρκίνο, συχνά πολλαπλάσια εκείνων που βρέθηκαν σε φυσιολογικά άτομα, ήταν γενικά συνδεδεμένα με δυσμενείς κλινικές παραμέτρους, όπως πρόοδος νόσου, πτωχή απόκριση σε χημειοθεραπεία και πτωχή επιβίωση. Αυξημένα επίπεδα του VEGF-A στον ορό μπορούν, επομένως, να είναι κλινικά χρήσιμα στο να υποδηλώνουν αυξημένη ανάπτυξη, υποτροπή ή μεταστατική εξάπλωση σε ασθενείς. Δυστυχώς, οι μετρήσεις του VEGF-A στον ορό είναι δύσκολο να ερμηνευθούν επειδή τα αιμοπετάλια απομονώνουν την κυτταροκίνη αυτή και επειδή η πλάσμα αλφα-2 μακροσφαιρίνη την δεσμεύει και την καθιστά μη διαθέσιμη για τουλάχιστον κάποια αντισώματα (44,154,155). Επίσης, τόσο τα μεγακαρυοκύτταρα όσο και τα λευκοκύτταρα συνθέτουν VEGF-A (155). Ως εκ τούτου, τα επίπεδα του ορού αντανακλούν όχι μόνο το VEGF-A που προέρχεται από κάποιον όγκο, αλλά, επίσης, και τον VEGF-A που απελευθερώνεται από τα αιμοπετάλια και τα λευκοκύτταρα κατά τη διάρκεια της πήξης του αίματος, γεγονός που καθιστά δύσκολο να καθοριστεί μια σειρά από φυσιολογικές τιμές. Σε μία μελέτη, η μέση τιμή του VEGF-A στο πλάσμα σε άτομα ελέγχου ήταν 27 pg/mL, ενώ σε ορό από τα ίδια άτομα μετά την πήξη του αίματος ήταν 172 pg / mL (44).

Λόγω αυτής της επιπλοκής, μερικοί συγγραφείς έχουν προτείνει η μέτρηση του VEGF-A να γίνεται στο πλάσμα (44). Αυτό επίσης μπορεί να μην είναι απόλυτα

ικανοποιητικό, διότι τα επίπεδα του VEGF- A στο πλάσμα αντιπροσωπεύουν μία ισορροπία μεταξύ της ελεύθερης VEGF-A και αυτής που απομονώνεται εντός των αιμοπεταλίων. Επίσης, ως αποτέλεσμα θεραπείας ή για άλλους λόγους, τα αιμοποιητικά κύτταρα των ασθενών με καρκίνο μπορούν να συνθέσουν αυξημένες ποσότητες του VEGF-A, ενώ και η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων είναι κοινή σε καρκίνο και σε άλλες συστηματικές ασθένειες, ενδεχομένως οδηγώντας σε αυξημένα επίπεδα του VEGF-A στο πλάσμα άσχετα με αυτά που συντίθεται από όγκους.

Ένας πρόσθετος παράγοντας που πρέπει να εξεταστεί είναι αν τα επίπεδα του κυκλοφορούντος VEGF-A είναι αυξημένα σε άλλες ασθένειες που σχετίζονται με την αγγειογένεση και την τοπική υπερπαραγωγή του VEGF- A (π.χ. φλεγμονώδεις ασθένειες, όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα και η ψωρίαση) (10,11). Προς το παρόν, ισχύει η άποψη των George et al (154), ότι "οριστική απόδειξη της σχέσης των κυκλοφορούντων επιπέδων του VEGF με την αγγειογένεση των όγκων, τη χειρουργική θεραπεία ή απόκριση σε θεραπεία δεν έχει ακόμη καθοριστεί σε οποιαδήποτε μελέτη".

Όπως σημειώνεται παραπάνω, ο VEGF-A έχει επίσης μετρηθεί και σε άλλα υγρά του σώματος. Τα επίπεδα του VEGF-A είναι αξιοσημείωτα αυξημένα σε κακοήθεις πλευριτικές συλλογές που προκαλούνται από όγκους ωοθηκών, του στομάχου, του παχέος εντέρου και σε κακοήθεις κύστες ωοθηκών (156). Η ευαισθησία και η ειδικότητα των επιπέδων του VEGF-A στα ούρα για τη διάγνωση πρωτοπαθούς ή υποτροπιάζοντος καρκίνου της ουροδόχου κύστης φαίνεται να είναι ανώτερη από την κυτταρολογική εξέταση των ούρων.

4.2. ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ

Η υπεζωκοτική συλλογή αποτελεί σύνηθες πρόβλημα στην καθημερινή κλινική πράξη και ο VEGF φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη αρκετών μορφών υπεζωκοτικής συλλογής(157). Συγκεκριμένα, αρκετές μελέτες δείχνουν ότι ο VEGF είναι σημαντικά υψηλότερος στις εξιδρωματικές σε σχέση με τις διυδροματικές υπεζωκοτικές συλλογές (158-160). Οι συλλογές οι οποίες σχετίζονται με κακοήθεις επίσης φαίνεται να έχουν υψηλότερα επίπεδα VEGF από τις καλοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές (157,159,161-164). Επιπρόσθετα, οι αιμορραγικές κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές εμφανίζουν υψηλότερα επίπεδα VEGF από τις μη αιμορραγικές (165-167). Παρά τις σημαντικές διαφορές στα επίπεδα του VEGF στο πλευριτικό υγρό ανάμεσα στις κακοήθεις και τις καλοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές υπάρχει σημαντικός βαθμός αλληλοεπικάλυψης σε εξιδρωματικές συλλογές (159). Ωστόσο, έχει προταθεί ότι τιμές VEGF > 1000 pg/ml είναι

υποδηλωτικές είτε εμπυήματος είτε κακοήθειας(102).

Το εμπύημα περιέχει υψηλά επίπεδα VEGF, τα οποία είναι σημαντικά υψηλότερα σε σύγκριση με εκείνα των επιπλεγμένων παραπνευμονικών συλλογών (102,167). Πιθανολογείται ότι τα βακτηριακά παθογόνα διαγείρουν την παραγωγή VEGF από τα μεσοθηλιακά κύτταρα και αυξάνουν τη διαπερατότητα του μεσοθηλίου οδηγώντας σε εξίδρωση υγρού και πρωτεϊνών (168). Όσον αφορά τις φυματιώδεις υπεζωκοτικές συλλογές τα επίπεδα του VEGF έχουν βρεθεί επίσης υψηλότερα σε σχέση με τα διδρώματα (169). Στην ίδια μελέτη, τα επίπεδα του VEGF στον ορό ήταν υψηλότερα σε σύγκριση με το πλευριτικό υγρό ασθενών με φυματιώδεις υπεζωκοτικές συλλογές υποδηλώνοντας ότι ο VEGF πιθανώς αυξάνει την αγγειακή διαπερατότητα και οδηγεί σε συσσώρευση υγρού. Τέλος, μεμονωμένες περιπτώσεις πλευριτικών συλλογών εξαιτίας πνευμονικής εμβολής εμφάνιζαν πολύ υψηλά επίπεδα VEGF πιθανώς εξαιτίας ιστικής ισχαιμίας (159).

4.2.1 ΚΑΚΟΗΘΕΙΣ ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΕΣ ΣΥΛΛΟΓΕΣ

Ο ρόλος του VEGF στο σχηματισμό κακόηθων υπεζωκοτικών συλλογών (malignant pleural effusion, **MPE**) δεν έχει εξακριβωθεί ακόμα με τα πιο πρόσφατα δεδομένα να επισημαίνουν τον κυρίαρχο ρόλο της συγκεκριμένης κυτταροκίνης στην παθογένεια των κακόηθων υπεζωκοτικών συλλογών (MPE). Βέβαια, αυξημένα επίπεδα VEGF έχουν παρατηρηθεί σε υπεζωκοτικές συλλογές τόσο καλοήθους όσο και κακόηθους προέλευσης (101), αλλά υψηλότερα επίπεδα VEGF παρατηρούνται σταθερά σε υπεζωκοτικές συλλογές κακόηθους προέλευσης (102,158,166,171-176). Ο Prager *et colleagues* σε μία μελέτη του 2010 ισχυρίζεται ότι ο VEGF προκαλεί μια αύξηση στη διαπερατότητα της στοιβάδας των ενδοθηλιακών κυττάρων και προάγει την μετανάστευση των αρχέγονων και cell-line derived καρκινικών κυττάρων· επιδράσεις που μειώθηκαν με την επίδραση του αντι-VEGF μονοκλωνικού αντισώματος μπεβασιζουμάμπη (bevacizumab) (177). Ενδιαφέρον προκαλεί το γεγονός ότι αρχέγονα καρκινικά κύτταρα έχουν απομονωθεί από κακόηθεις υπεζωκοτικές συλλογές (178), ένα εύρημα το οποίο οδήγησε στην υπόθεση ότι ο VEGF προσδίδει μια χημειοτακτική λειτουργία στα αρχέγονα καρκινικά κύτταρα (177). Πρέπει να τονιστεί όμως ότι ο VEGF δε δρα μεμονωμένα, καθώς έχει μελετηθεί ο ρόλος και άλλων αγγειοδραστικών παραγόντων, όπως της οστεοποντίνης(179), της ιντερλευκίνης 5 (180,181), της μεταλλοπρωτεάσης 9 και του TNF-A (182) και του σύδεσμου της χημειοκίνης-2(180) στο

σχηματισμό κακόηθων υπεζωκοτικών συλλογών. Τέλος, ένα ανάλογο μοντέλο για την παθογένεια της κακόηθους υπεζωκοτικής συλλογής που ενσωματώνει τόσο τη συμπεριφορά του όγκου όσο και του ξενιστή έχει πρόσφατα αποδοθεί μία μελέτη του 2012 από τους Stathopoulos *et al*(183).

Πληθαίνουν οι αποδείξεις που ενισχύουν την υπόθεση ότι ο VEGF που ανευρίσκεται σε κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές παράγεται μέσα στην υπεζωκοτική κοιλότητα. Πράγματι έχει παρατηρηθεί ότι τα επίπεδα του VEGF που ανευρίσκονται στις κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές είναι σταθερά σε υψηλότερα επίπεδα από τα αντίστοιχα ποσά στον ορό του αίματος (166,171). Επιπλέον, μια σειρά από μελέτες δεν αποδεικνύουν καμία συσχέτιση ανάμεσα στα επίπεδα του VEGF στις κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές και το πλάσμα (166,171). Ενώ αρκετά είδη καρκίνων υπερ-εκφράζουν VEGF, πρακτικά όλα τα κύτταρα έχουν αυτή την ικανότητα και συγκεντρωτικά στοιχεία αποδεικνύουν ότι και μη καρκινικά κύτταρα μπορούν να συνεισφέρουν στα αυξημένα επίπεδα του VEGF που παρατηρούνται σε κακοήθεις καταστάσεις, περιλαμβανομένων των αιμοπεταλίων (184) και ανοσοποιητικών κυττάρων (185-188). Τέλος, έχει βρεθεί ότι τα μεσοθηλιακά κύτταρα εκφράζουν VEGF αντιδρώντας σε διέγερση του TGF-beta, τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*, υποδεικνύοντας έναν πιθανό ρόλο στο σχηματισμό κακόηθων υπεζωκοτικών συλλογών (189).

Είναι κριτικής σημασίας η ακριβής διάγνωση μιας MPE, καθώς μια τέτοια διάγνωση γενικά αποκλείει τη δυνατότητα μιας πιθανής θεραπευτικής χειρουργικής αφαίρεσης (η 7^η έκδοση του American Joint Committee στον καρκίνο κατατάσσει τους ασθενείς με MPE ως M1a, στάδιο IV) (190). Οι κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές αποτελούν συνήθεις επιπλοκές του καρκίνου του πνεύμονα καθώς 15 % των ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα εμφανίζουν κατά την έναρξη της νόσου τους ήδη κακοήθη υπεζωκοτική συλλογή, ενώ το ποσοστό αυτό αυξάνει μέχρι 50 % κατά τη διάρκεια της πορείας της νόσου τους (157). Για τους λόγους που προαναφέρθηκαν η ικανότητα έγκαιρης διάκρισης ανάμεσα σε μια κακοήθη υπεζωκοτική και μια παρα-νεοπλασματική συλλογή είναι κριτικής σημασίας για τους παραπέρα χειρισμούς. Οι παρα-νεοπλασματικές συλλογές μπορούν να προκύψουν από λεμφική απόφραξη, ατελεκτασία, πνευμονική εμβολή ή μετα-αποφρακτική πνευμονία.

Υπάρχουν αρκετά χαρακτηριστικά του υγρού που υπονοούν την ύπαρξη κακοήθειας. Ο λεμφοκυτταρικός χαρακτήρας του υγρού με τα λεμφοκύτταρα να αντιπροσωπεύουν το 50-70 % των εμπύρηνων κυττάρων, > 10 % ηωσινόφιλα, η παρουσία ερυθροκυττάρων, Ph< 7.3 και γλυκόζη < 60 mg/dL θα μπορούσαν να συνάδουν με κακοήθεια. Ενώ η πλειονότητα των MPE είναι εξιδρώματα – σύμφωνα με τα κριτήρια Light- έχει καταγραφεί ένα μικρό ποσοστό

3-10 % που ήταν διδρώματα. Παρόλα αυτά, η ακριβής διάγνωση της κακοήθους υπεζωκοτικής συλλογής απαιτεί την ανίχνευση κακοήθων κυττάρων στο υγρό ή θετική βιοψία υπεζωκότα καθώς τα προαναφερθέντα χαρακτηριστικά είναι μη ειδικά. Κατά προσέγγιση το 50-60% των κακοήθων υπεζωκοτικών συλλογών διαγιγνώσκονται από την κυτταρολογική εξέταση του υγρού μετά από μία μόνο διαγνωστική παρακέντηση, ενώ το διαγνωστικό πεδίο αυξάνει λίγο μέχρι δύο επιπλέον παρακεντήσεις. Αυξάνοντας τον όγκο του υγρού που συλλέγεται σε μία μόνο παρακέντηση δεν αυξάνεται αντίστοιχα και η διαγνωστική ακρίβεια παρόλαυτα 50 ml αποτελούν μια επαρκή ποσότητα υγρού. Καθώς όμως μία αρνητική κυτταρολογική πλευριτικού υγρού από μια και μόνο παρακέντηση δεν μπορεί να αποκλείσει την κακοήθεια, στην πράξη χρειάζονται τουλάχιστον τρεις κυτταρολογικές απαντήσεις από αντίστοιχο αριθμό παρακεντήσεων. Σειρά μελετών που έχουν εξετάσει τη διαγνωστική ικανότητα της κυτταρολογικής εξέτασης του πλευριτικού υγρού αποδίδουν στην εξέταση αυτή μία μέση ευαισθησία της τάξης του 60 % (διακύμανση 40-87%) (157). Μια ποικιλία βιοδεικτών έχουν κατά καιρούς ερευνηθεί ως πιθανοί διαγνωστικοί και προγνωστικοί δείκτες μιας κακοήθους υπεζωκοτικής συλλογής. Αυτοί περιλαμβάνουν τους κυστατίνη-C (cystatin-C) (191), Δ-διμερή (D-dimers) (192), πρόδρομος εκκριτική πρωτεΐνη E1 επιδιδυμίδας (epididymal secretory protein E1 precursor) (193), καρκινοεμβρυονικό αντιγόνο (carcinoembryonic antigen) (194), προκαλσιτονίνη (pro-calcitonin)(198), pigment epithelium-derived factor (195-197), C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (c-reactive protein)(198). Παρόλο που τα επίπεδα πολλών από αυτούς τους βιοδείκτες διαφέρουν ανάμεσα στις καλοήθειες και κακοήθειες υπεζωκοτικές συλλογές, κανείς από αυτούς δεν έχει ακόμα επιδείξει επαρκή ευαισθησία και ειδικότητα προκειμένου να γίνει αποδεκτός στην κλινική πράξη.

Το διαγνωστικό πεδίο της θωρακέντησης μπορεί να αυξηθεί από την επιπλέον μέτρηση του VEGF στο πλευριτικό υγρό, παρόλο που όπως αναμένεται, η ευαισθησία και η ειδικότητα ποικίλει ανάλογα με τις διάφορες τιμές cut-off στη συγκέντρωσή του στο πλευριτικό υγρό (172). Γενικά θεωρείται ότι η μέτρηση των επιπέδων του VEGF στο πλευριτικό υγρό μπορεί να παίζει κάποιο ρόλο στη διάγνωση των MPE, αλλά με μη ικανοποιητική διαγνωστική αξία απαιτώντας μεγαλύτερη ερμηνεία. Αξιοσημείωτο είναι τέλος το γεγονός ότι και σε καλοήθειες υπεζωκοτικές συλλογές μπορεί να εμφανιστούν υψηλά επίπεδα VEGF , αν και λιγότερο αυξημένα από ότι στις MPE υποδεικνύοντας τον πιθανό ρόλο του VEGF στη διάκριση αυτών των δύο (172).

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Προσδιορισμός της τιμής του VEGF στο υπεζωκοτικό υγρό και τον ορό ασθενών με αδιάγνωστες λεμφοκυτταρικές υπεζωκοτικές συλλογές

ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπός αυτής της μελέτης ήταν η μέτρηση των επιπέδων του VEGF στον ορό και το πλευριτικό υγρό ασθενών με λεμφοκυτταρικές υπεζωκοτικές συλλογές, οι οποίες θεωρήθηκαν άγνωστης προέλευσης μετά την πρώτη διαγνωστική προσέγγιση και η συσχέτισή τους με την τελική διάγνωση-έκβαση του ασθενή. Στόχος ήταν να αναδειχθεί η πιθανή χρησιμότητα του βιοδείκτη VEGF στην ανίχνευση κακοήθειας σε ασθενείς με αρχικά αδιάγνωστες υπεζωκοτικές συλλογές

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Μελέτη Πληθυσμού

Στη μελέτη συμμετείχαν ασθενείς με εξιδρωματικές λεμφοκυτταρικές υπεζωκοτικές συλλογές. Το σύνολο των ασθενών προήλθαν από τη νοσηλεία τους στην Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου της Λάρισας κατά το διάστημα Ιανουάριος 2005-Δεκέμβριος 2007.

Ως *εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή* ορίστηκε η υπεζωκοτική συλλογή που πληρούσε τουλάχιστον ένα από τα κριτήρια Light (λόγος πρωτεϊνών του υπεζωκοτικού υγρού προς τις πρωτεΐνες ορού >0.5 ή λόγος LDH υπεζωκοτικού υγρού προς την LDH του ορού >0.6 ή τιμή LDH υπεζωκοτικού υγρού μεγαλύτερη από τα $2/3$ του ανώτερου ορίου της φυσιολογικής LDH του ορού). *Λεμφοκυτταρική συλλογή* ορίστηκε ως η συλλογή όπου το ποσοστό των λεμφοκυττάρων ήταν μεγαλύτερο από 50 % στο σύνολο των εμπύρηνων κυττάρων. *Μεγάλη υπεζωκοτική συλλογή* ορίστηκε η συλλογή που καταλάμβανε $>2/3$ του ημιθωρακίου ενώ *μαζική υπεζωκοτική συλλογή* ορίστηκε η συλλογή που καταλάμβανε όλο το ημιθωράκιο. *Εμμένουσα υπεζωκοτική συλλογή (persistent)* θεωρήθηκε η συλλογή η οποία παρέμενε στα ίδια επίπεδα σε σύγκριση με διαδοχικούς απεικονιστικούς ελέγχους, ενώ *βελτιωμένη (resolving)* θεωρήθηκε η υπεζωκοτική συλλογή που σε διαδοχικούς απεικονιστικούς ελέγχους εμφάνιζε σταδιακή μείωση. *Υποτροπή (recurrence)* της συλλογής ορίστηκε ως η επανεμφάνιση της συλλογής 60 ημέρες μετά την οριστική της λύση. *Προοδευτικά επιδεινούμενη (progressive)* ορίστηκε η υπεζωκοτική συλλογή που εμφάνιζε σταδιακή επιδείνωση.

Η αρχική εκτίμηση των ασθενών περιελάμβανε πλήρες ιατρικό ιστορικό, φυσική εξέταση, ανάλυση αίματος, πραγματοποίηση ακτινογραφίας θώρακος και τεστ φυματίνης (Mantoux). Θωρακοκέντηση πραγματοποιούνταν για διαγνωστικούς και/ή θεραπευτικούς σκοπούς

(τουλάχιστον 3 παρακεντήσεις) και στο υπεζωκοτικό υγρό που προέκυπτε από τη θωρακοκέντηση γινόταν μέτρηση γλυκόζης, ολικών πρωτεϊνών, γαλακτικής δευδρογενάσης (LDH), του αριθμού και του τύπου των εμπύρηνων κυττάρων, μικροβιολογικές εξετάσεις με Gram χρώσεις και καλλιέργειες (χρώση Ziehl-Neelsen και μυκοβακτηριδιακή καλλιέργεια), καθώς και μέτρηση της απαμινάσης της αδενοσίνης (ADA) καθώς και κυτταρολογική εξέταση του υγρού. Ο βαθμός της συννοσηρότητας υπολογίστηκε βάση τον πίνακα Charlson [πίνακας 7].

ΒΑΡΥΤΗΤΑ ΝΟΣΟΥ	ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ
1	Ισχαιμία μυοκαρδίου, Συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, Περιφερική αγγειοπάθεια, Άνοια, Αγγειακή εγκεφαλική νόσος, Χ.Α.Π., Νόσος συνδετικού ιστού, Σ.Δ. τύπου II, Έλκη Χρόνια ηπατική νόσος ή κίρρωση
2	Ημιπληγία, Μέτρια ή σοβαρή ηπατική νόσος, Σ.Δ. με επιπλοκές, Νεοπλασίες, Λευχαιμία, Λέμφωμα
3	Μέτρια ή σοβαρή ηπατική νόσος
6	Κακοήθεια, μεταστάσεις, AIDS

ΠΙΝΑΚΑΣ 7. *Ο δείκτης συννοσηρότητας Charlson προβλέπει τη θνησιμότητα σε ένα έτος για έναν ασθενή που μπορεί να έχει μια σειρά από συνυπάρχουσες παθήσεις*

Στη συνέχεια πραγματοποιούνταν αξονική τομογραφία θώρακος (CT-computer tomography) προς διερεύνηση της υποκείμενης παθολογίας. Επιπλέον εξετάσεις που πραγματοποιούνταν κατά την κρίση του κλινικού ιατρού περιελάμβαναν ανοσολογικό έλεγχο για την ανίχνευση νοσημάτων κολλαγόνου, διαθωρακικό υπέρηχο καρδιάς, CT πνευμονική αγγειογραφία, σπινθηρογράφημα αιματώσεως-αερισμού.

Οι ασθενείς τελικώς εισάγονταν στη μελέτη αν πληρούσαν τα παρακάτω κριτήρια εισαγωγής :

- Μετά την ολοκλήρωση αυτού του αρχικού ελέγχου δεν υπήρχε διάγνωση
- Η κυτταρολογική εξέταση του πλευριτικού υγρού ήταν αρνητική για κακοήθεια (3 δείγματα).
- Η λεμφοκυτταρική συλλογή δεν παρουσίαζε βελτίωση.

Ασθενείς με αμφοτερόπλευρη υπεζωκοτική συλλογή, σοβαρή ανοσοκαταστολή (μεταμόσχευση οργάνου, χρήση κορτικοστεροειδών με δόση > 20 mg/d, λοίμωξη με τον ιό ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας, χρήση κυκλοφωσφαμίδης ή αζαθριοπρίνης), πρόσφατη εγχείρηση αορτοστεφανιαίας παράκαμψης (στη διάρκεια των τελευταίων 12 μηνών), υπεζωκοτική συλλογή θετική για κακοήθεια αποκλείονταν από τη μελέτη.

Συνολικά κατά το διάστημα Ιανουάριος 2005-Δεκέμβριος 2007 354 ασθενείς νοσηλεύτηκαν στην Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημικού Νοσοκομείου Λάρισας για διερεύνηση λεμφοκυτταρικής εξιδρωματικής υπεζωκοτικής συλλογής. Από τους 354 ασθενείς που αρχικά ελέγχθησαν τελικώς 81 ασθενείς πληρούσαν τα κριτήρια εισαγωγής στη μελέτη, όμως 71 ασθενείς δέχτηκαν να συμμετάσχουν και τελικά συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη. Η κλινική μελέτη έλαβε έγκριση από την Επιτροπή Δεοντολογίας του Νοσοκομείου και όλοι οι συμμετέχοντες υπέγραψαν έντυπο συγκατάθεσης προκειμένου να συμπεριληφθούν στη μελέτη.

Παρακολούθηση ασθενών

Η παρακολούθηση των ασθενών γινόταν στα εξωτερικά ιατρεία της Πνευμονολογικής Κλινικής με περιοδικές ακτινογραφίες θώρακος· αρχικά μία φορά το μήνα για τους τρεις πρώτους μήνες και στη συνέχεια ανά έξι μήνες μέχρι μίας από τις τρεις εκβάσεις: πλήρης υποχώρηση της υπεζωκοτικής συλλογής, θάνατος από οποιαδήποτε αιτία ή τέλος της κλινικής μελέτης. Σε κάθε επίσκεψη στα εξωτερικά ιατρεία γινόταν ακτινογραφία θώρακος προκειμένου να διευκρινιστεί αν η υπεζωκοτική συλλογή είχε υποχωρήσει, είχε παραμείνει στάσιμη ή είχε επιδεινωθεί και αν υπήρχαν αλλαγές της απεικόνισης του πνευμονικού παρεγχύματος (π.χ. αλλαγές στο διάμεσο δίκτυο, εμφάνιση ατελεκτασίας, εμφάνιση χωροκατακτητικής εξεργασίας). Η ακτινογραφία θώρακος εκτιμούνταν τόσο από πνευμονολόγο όσο και από ακτινολόγο ξεχωριστά. Τέλος, γινόταν εκ νέου πλήρης κλινική εξέταση και καταγραφή οποιασδήποτε αλλαγής της κλινικής εικόνας του ασθενή και της αναπνευστικής του λειτουργίας, ενώ επίσης καταγράφονταν οι ενδιάμεσες νοσηλείες των ασθενών, οι αιτίες εισαγωγής και οι διαγνωστικοί χειρισμοί που πραγματοποιούνταν στη διάρκεια των νοσηλείων.

Η έκβαση του ασθενή χαρακτηριζόταν ως *κακοήθης* όταν οι διαγνωστικοί χειρισμοί στη διάρκεια της παρακολούθησης των ασθενών κατέληγαν στη διάγνωση της κακοήθειας. Ως *καλοήθεις* θεωρούνταν οι περιπτώσεις όπου στη διάρκεια της παρακολούθησης προέκυπτε καλοήθης διάγνωση, ενώ ως *αδιευκρίνιστης αιτιολογίας* χαρακτηρίζονταν οι περιπτώσεις όπου δεν προέκυπτε συγκεκριμένη διάγνωση μέχρι το τέλος της μελέτης.

Εργαστηριακή ανάλυση

Στο υγρό που προέκυπτε από την πρώτη παρακέντηση του ασθενή γινόταν συλλογή και αποθήκευση, ενώ άμεσα γινόταν μέτρηση pH (Instrumentation Laboratory, USA). Από το υγρό που συλλεγόταν μια ποσότητα τοποθετούνταν σε ένα σωληνάριο με αντιπηκτικό προκειμένου να γίνει μέτρηση των εμπύρηνων κυττάρων και να καθοριστεί ο τύπος τους. Σε σωληνάριο με κιτρικά άλατα (5ml) αποθηκευόταν υγρό για μέτρηση του VEGF ενώ σε σωληνάριο χωρίς πρόσθετα υλικά αποθηκευόταν υγρό για υπολογισμό των ολικών λευκωμάτων (gr/l), του σακχάρου (mg/dl) και του LDH (lactate dehydrogenase)(U/l). Τα δείγματα υγρού που συλλέχτηκαν για τη μέτρηση του VEGF φυγοκεντρήθηκαν καταευθείαν

στα 1500 rpm για 10 min στους 4 °C και το υπερκείμενο από κάθε δείγμα αποθηκεύτηκε στους -70 °C μέχρι την ανάλυσή του. Τα επίπεδα του VEGF μετρήθηκαν με τη βοήθεια ενός εμπορικά διαθέσιμου kit ELISA (Biosource Europe S.A.; Nivelles; Belgium) και σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Το κατώτερο όριο ανίχνευσης για το VEGF ήταν 5 pg/ml.

Όσον αφορά τον ολικό αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων (WBC) και των ερυθρών αιμοσφαιρίων (RBC) αυτά καταμετρούνταν άμεσα με μικροσκόπηση. Οι διαφορετικοί υποπληθυσμοί των λευκών αιμοσφαιρίων υπολογίζονταν άμεσα μετά από παρατήρηση 100 κυττάρων αφού τα κύτταρα είχαν συγκεντρωθεί μετά τη φυγοκέντρησή τους στις 2000 rpm για 20'.

Είναι σημαντικό να επισημανθεί ότι όλα τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν εις διπλούν καθώς και ότι ο υπολογισμός της τιμής του VEGF του υπεζωκοτικού υγρού όσο και η παρακολούθηση των ασθενών ήταν ανεξάρτητα μεταξύ τους και η σύγκριση αυτών των δύο παραμέτρων πραγματοποιήθηκε μετά τη συλλογή όλων των κλινικών δεδομένων.

Στατιστική επεξεργασία

Για την περιγραφή των βασικών χαρακτηριστικών χρησιμοποιήθηκε περιγραφική στατιστική και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σαν μέση τιμή \pm σταθερή απόκλιση (mean \pm SD) ή σαν διάμεση τιμή (25^η με 75^η εκατοστιαία μονάδα) (median, 25th to 75th percentile). Η φυσιολογική διακύμανση υπολογίστηκε με το Shapiro-Wilk test.

Η καμπύλη ROC (Receiver Operating Characteristic) χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της διακριτικής ικανότητας του παράγοντα VEGF στην ανίχνευση υπεζωκοτικών συλλογών με κακοήθη έκβαση. Τιμές $p < 0.05$ θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πρόγραμμα Med Calc statistical software (Med-Calc Software, Mariakerle, Belgium).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Όπως αναφέρθηκε, 354 ασθενείς με λεμφοκυτταρικές υπεζωκοτικές συλλογές εξετάστηκαν ως προς την καταλληλότητά τους και βάση των κριτηρίων εισαγωγής τελικώς 71 ασθενείς συμμετείχαν στη μελέτη (47 άντρες και 24 γυναίκες). Η διάμεση ηλικία ήταν 64.57 (διακύμανση 20-88 έτη). Τα κλινικοεργαστηριακά χαρακτηριστικά του πληθυσμού συνοψίζονται στον Πίνακα 8.

Μεταβλητές	Καλοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές (N=28)	Κακοήθεις υπεζωκοτικές Συλλογές (N=44)
Φύλο (Άνδρες/Γυναίκες)	13/15	35/9
Ηλικία (έτη)	60±21.11	67±16.4
Πρωτεΐνες (g/dl)	4.79±1.3	4.48±0.84
LDH (U/l)	410±297	427±128
Γλυκόζη (mg/dl)	109±49	120±56

ΠΙΝΑΚΑΣ 8. Κλινικοεργαστηριακά χαρακτηριστικά των ασθενών που συμμετέχουν στη μελέτη. Τα δεδομένα εκφράζονται σε μέση τιμή ± σταθερή απόκλιση(±SD).

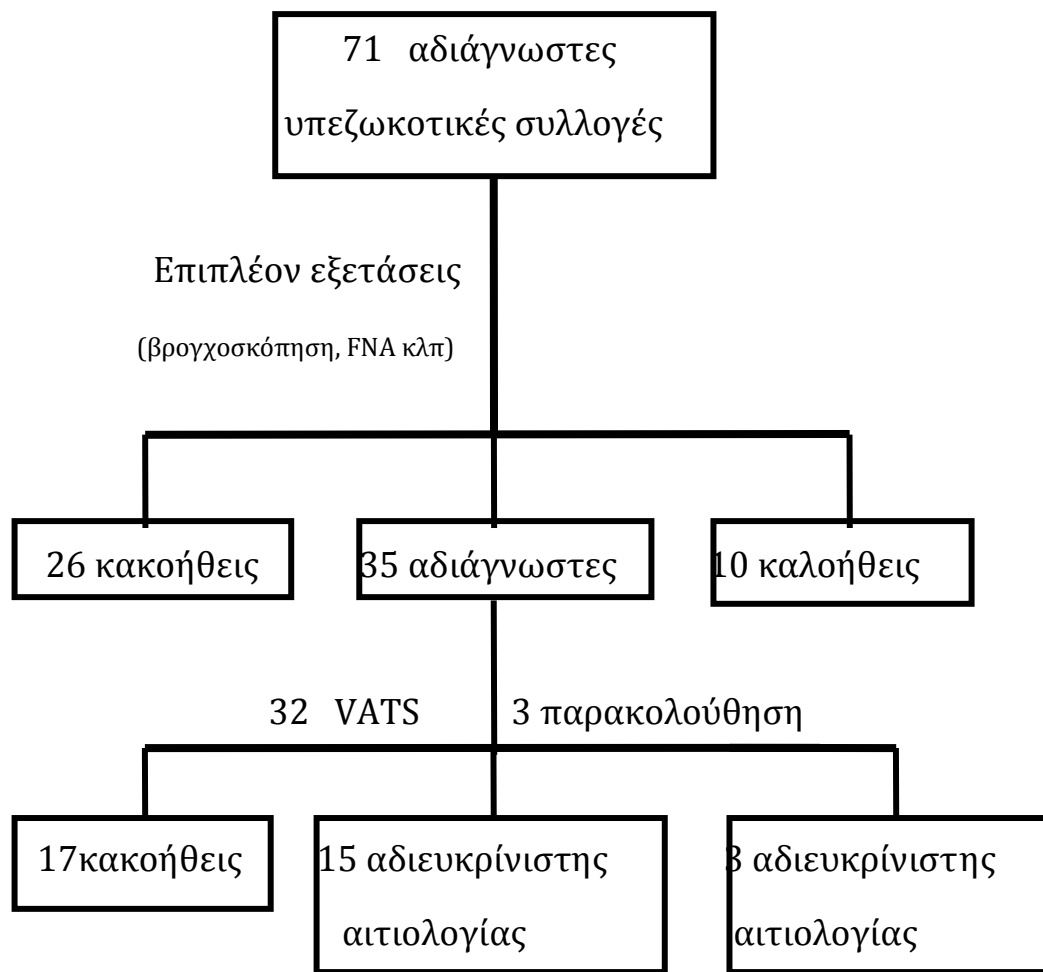
ΕΚΒΑΣΗ

Μετά τον αρχικό έλεγχο όλοι οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε επιπρόσθετες εξετάσεις, κατά την κρίση των θεραπόντων ιατρών, προκειμένου να επιτευχθεί διάγνωση και όντως 26 ασθενείς διαγνώστηκαν με κακοήθεια με άλλες διαδικασίες πλην της θωρακοσκόπησης, ενώ 10 ασθενείς είχαν άλλη διάγνωση, πλην της κακοήθειας. Συγκεκριμένα, οι μέθοδοι που εφαρμόστηκαν ήταν οι εξής: CT-καθοδηγούμενη βιοψία υπεζωκότα (n = 2), βιοψία ήπατος (n = 1), βρογχοσκόπηση (n = 13), γαστροσκόπηση (n = 2), βιοψία προστάτη (n = 1), υστερεκτομή (n = 1), ενώ σε 6 ασθενείς η διάγνωση της κακοήθειας βασίστηκε σε κλινικά και ακτινολογικά κριτήρια. Στη δεύτερη ομάδα της καλοήθους έκβασης η υπεζωκοτική συλλογή αποδόθηκε σε: φυματίωση (n = 2), ρευματοειδής αρθρίτιδα (n = 5), SLE ερυθματώδης λύκος (n = 2), ενώ ένας ασθενής (στον οποίο η θωρακοσκόπηση είχε προταθεί και ο ίδιος είχε απορρίψει), εν τέλει θυμήθηκε ότι είχε προηγούμενη επαφή με αμιάντο. Ωστόσο, 35 ασθενείς παρέμεναν χωρίς οριστική διάγνωση και σε αυτούς προτάθηκε θωρακοσκόπηση. Πράγματι, τριάντα δύο από αυτούς υπεβλήθησαν σε θωρακοσκόπηση, ενώ οι υπόλοιποι 3 αρνήθηκαν. Συνολικά, από τους 32 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε θωρακοσκόπηση κακοήθεια διαγνώστηκε σε 17, ενώ στους υπόλοιπους 15 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε VATS (video-assistant thoracoscopy) δεν παρατηρήθηκαν ευρήματα, η υπεζωκοτική τους συλλογή δεν αποδόθηκε σε κάποια αιτία, μέχρι το τέλος της κλινικής μελέτης δεν ανέπτυξαν κάποια μορφής κακοήθειας και αυτές οι περιπτώσεις θεωρήθηκαν αδιευκρίνιστης αιτιολογίας.

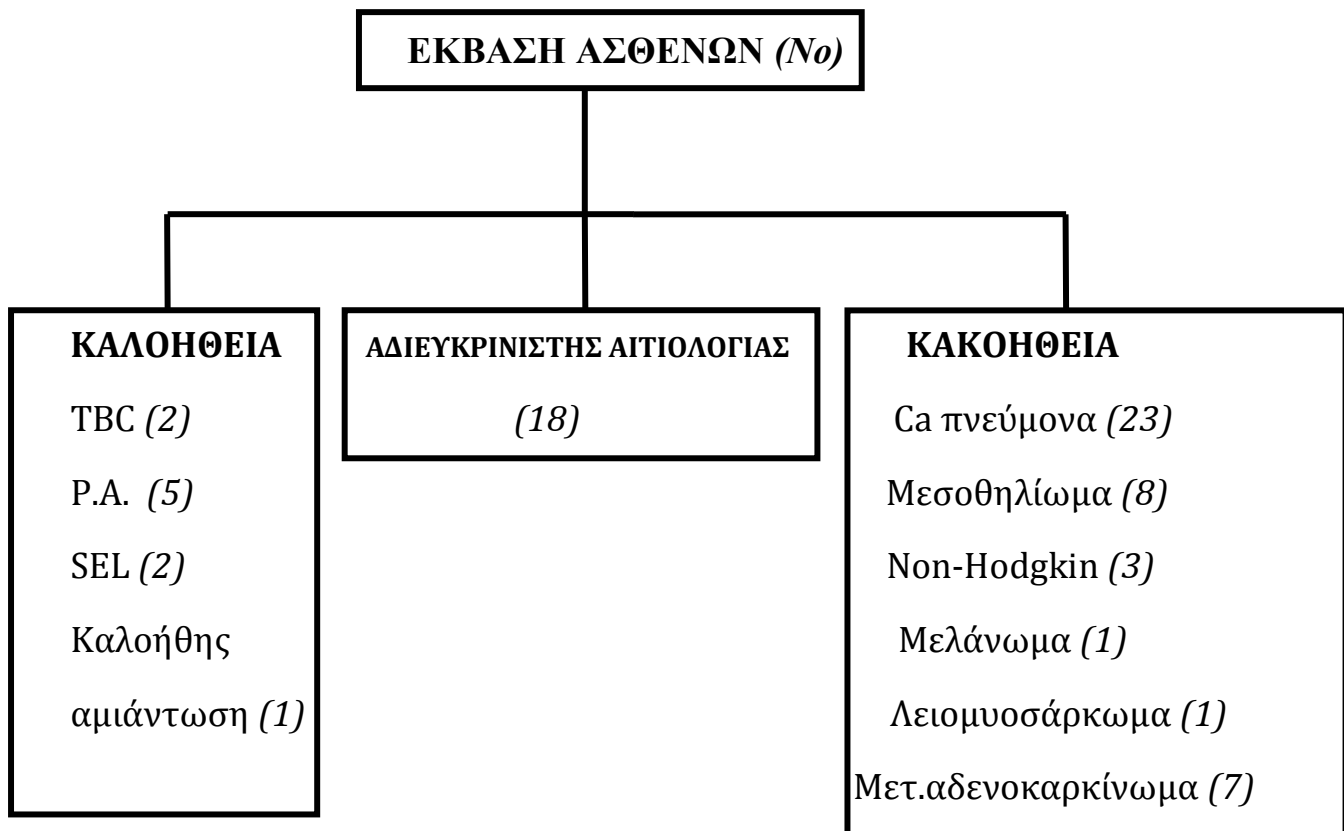
Οι υπόλοιπες τρεις ασθενείς που αρνήθηκαν να υποβληθούν σε θωρακοσκόπηση επίσης παρακολούθηθηκαν. Σε κανέναν απ'αυτούς δεν αναπτύχθηκε κακοήθεια μέχρι το τέλος της κλινικής μελέτης και οι περιπτώσεις αυτές επίσης θεωρήθηκαν αδιευκρίνιστης αιτιολογίας

(Σχήμα 1).

Όσον αφορά την προέλευση της κακοήθειας στους 17 ασθενείς η πρωτοπαθής εστία ήταν ο πνεύμονας (7 αδenoκαρκίνωμα, 6 πλακώδες καρκίνωμα, 3 μικροκυτταρικό καρκίνωμα, 1 NSCLC-NOS), ενώ 8 ασθενείς διαγνώστηκαν με μεσοθηλίωμα, 3 με Non Hodgkin λέμφωμα, 1 μελάνωμα, 1 λειομυοσάρκωμα και 7 μεταστατικά αδenoκαρκινώματα (1 προστάτης, 2 γαστρεντερικό, 1 πάγκρεας, 2 ωοθήκες, 1 αγνώστου πρωτοπαθούς εστίας).



ΣΧΗΜΑ 1. Διάγραμμα-ροής της διάγνωσης των υπεζωκοτικών συλλογών των 71 ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη.

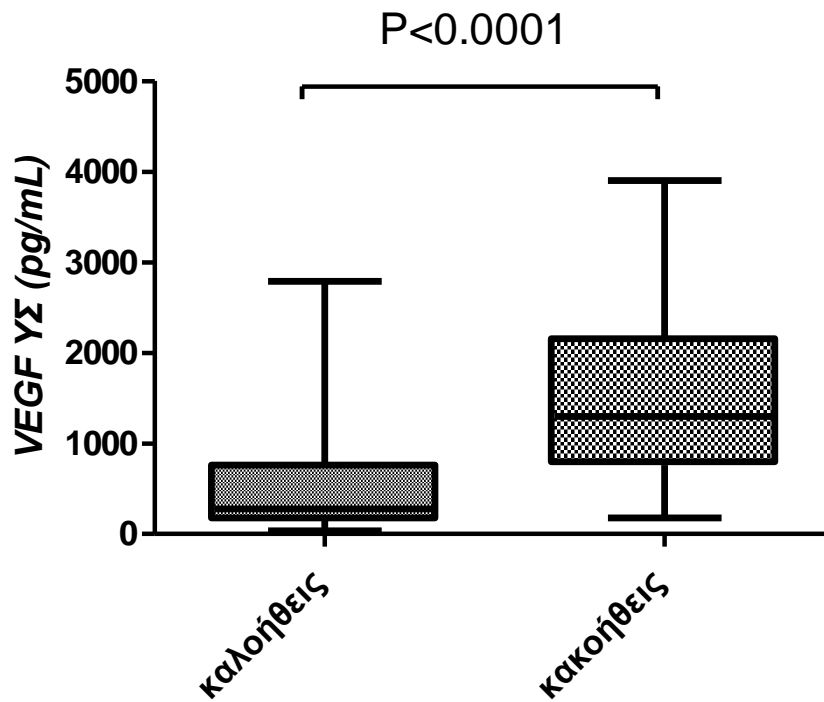


ΣΧΗΜΑ 2. Έκβαση της πορείας των 71 ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη.

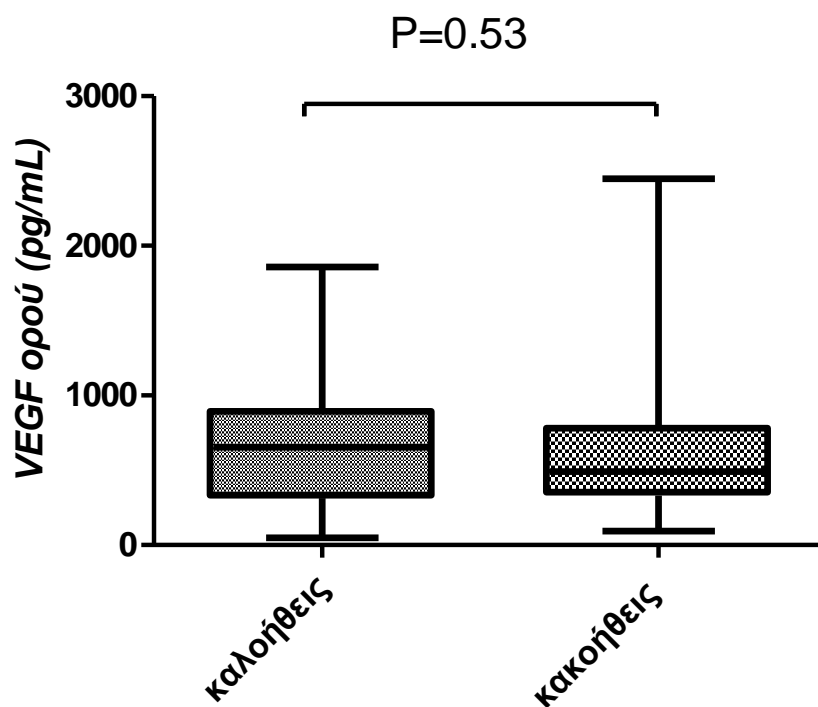
Τιμές του VEGF στο υπεζωκοτικό υγρό και τον ορό. Σύγκριση των τιμών ανάμεσα στις δύο ομάδες (καλοήθεια-κακοήθεια).

Η διάμεση τιμή των επιπέδων του VEGF ($\mu\text{g}/\text{dl}$) στο υπεζωκοτικό υγρό και τον ορό αντίστοιχα ήταν $1077\mu\text{g}/\text{dl}$ (διακύμανση, 33,52-3902,32) και $699,57\mu\text{g}/\text{dl}$ (διακύμανση, 57-2449,49), αντίστοιχα.

Παρατηρήθηκε ότι η διάμεση τιμή του VEGF στο υπεζωκοτικό υγρό ασθενών με κακοήθη συλλογή ήταν σημαντικά υψηλότερος συγκριτικά με τους ασθενείς που τελικώς δεν ανέπτυξαν κακοήθεια [1506 (177-3902) pg/dl vs 609 (33,52-2788) pg/dl , $p < 0.0001$] [Διάγραμμα 1]. Αντίθετα, δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα στα επίπεδα του VEGF στο ορό ασθενών που ανέπτυξαν κακοήθεια σε σύγκριση με τη διάμεση τιμή του VEGF στον ορό των ασθενών που είχαν καλοήθη έκβαση [654 (48,62-1859) vs $491,7$ (93,06-2449) ($p=0.53$)] [Διάγραμμα 2].

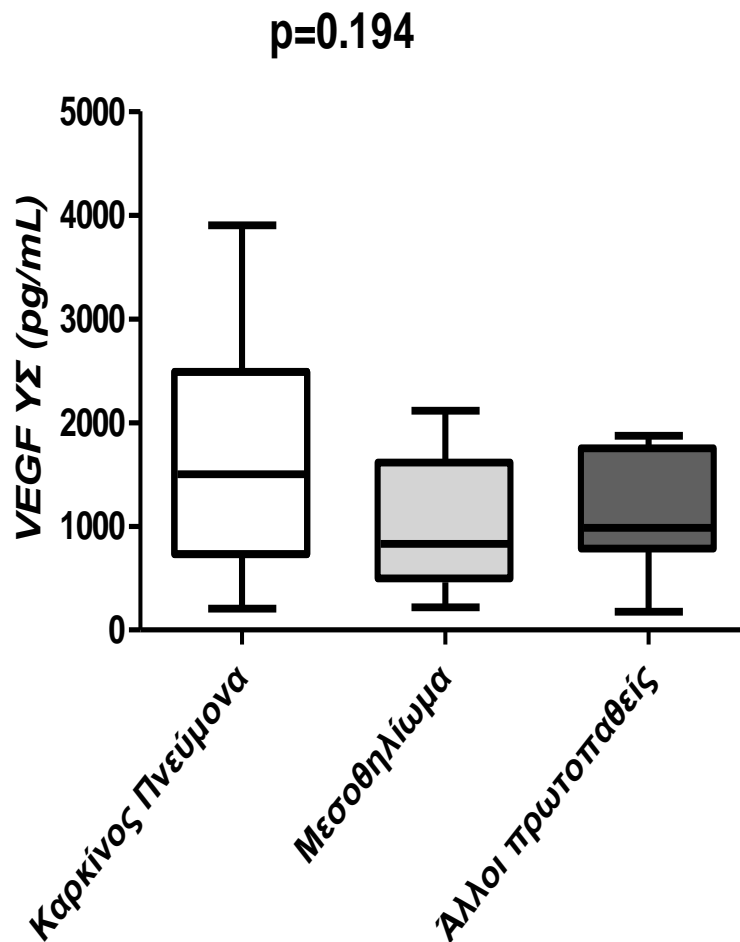


ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 1. Σύγκριση των επιπέδων του μέσου όρου του VEGF του υπεζωκοτικού υγρού ανάμεσα σε καλοήθεις και κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές. Η γραμμή σε κάθε κουτί υποδεικνύει τη διάμεσο. Τα άνω και κάτω όρια του κάθε κουτιού υποδεικνύουν την 25^η και 75^η εκατοστιαία μονάδα. Τα όρια των γραμμών υποδεικνύουν την 5^η και 95^η εκατοστια. ΥΣ: υπεζωκοτική συλλογή.



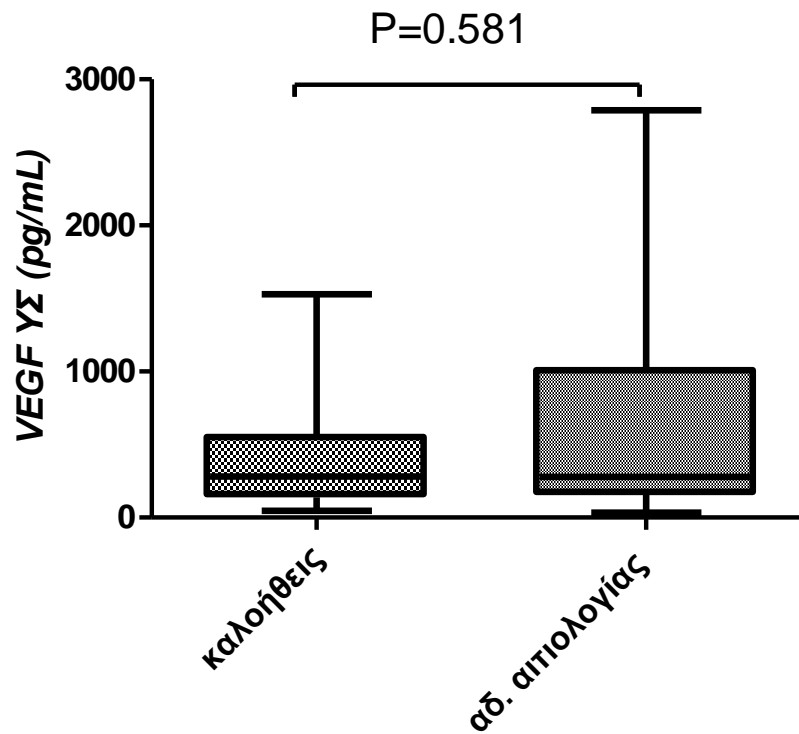
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 2. Σύγκριση των επιπέδων του μέσου όρου του VEGF του ορού ανάμεσα σε καλοήθεις και κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές. Η γραμμή σε κάθε κουτί υποδεικνύει τη διάμεσο. Τα άνω και κάτω όρια του κάθε κουτιού υποδεικνύουν την 25^η και 75^η εκατοστιαία μονάδα. Τα όρια των γραμμών υποδεικνύουν την 5^η και 95^η εκατοστιαία.

Επιπλέον, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στα επίπεδα του VEGF του υπεζωκοτικού υγρού ανάμεσα σε ασθενείς που η πλευριτική συλλογή αποδόθηκε σε καρκίνο του πνεύμονα και σε αυτούς που έπασχαν από άλλης μορφής κακοήθεια (μεσοθηλίωμα, καρκίνος πνεύμονα, άλλοι τύποι καρκίνου) [Διάγραμμα 3].



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 3. Σύγκριση των επιπέδων του VEGF του υπεζωκοτικού υγρού ανάμεσα στις διάφορες ομάδες κακοήθειας (μεσοθηλίωμα, καρκίνος πνεύμονα, άλλοι πρωτοπαθείς καρκίνοι).

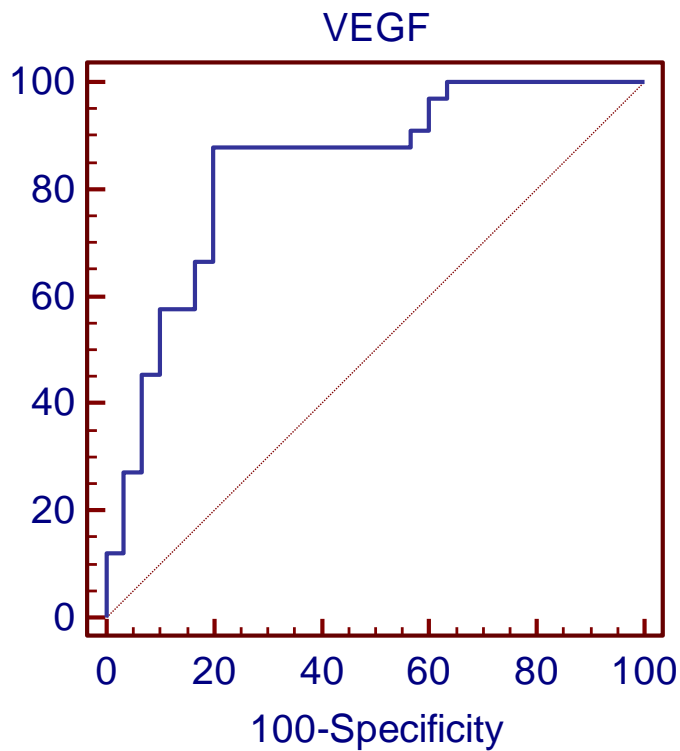
Τέλος, επίσης μη στατιστικά σημαντική ήταν η σύγκριση των επιπέδων του VEGF του υπεζωκοτικού υγρού ανάμεσα σε ασθενείς που είχαν καλοήγη έκβαση και σε αυτούς που η υπεζωκοτική τους συλλογή δεν αποδόθηκε σε κάποια αιτία ($p=0.58$) [Διάγραμμα 4].



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4. Σύγκριση των επιπέδων του VEGF του υπεζωκοτικού υγρού ανάμεσα στις δύο ομάδες με μη κακοήγη έκβαση (καλοήθειες, αδιευκρίνιστης αιτιολογίας).

Ευαισθησία και ειδικότητα των βιοχημικών παραμέτρων στο υπεζωκοτικό υγρό.

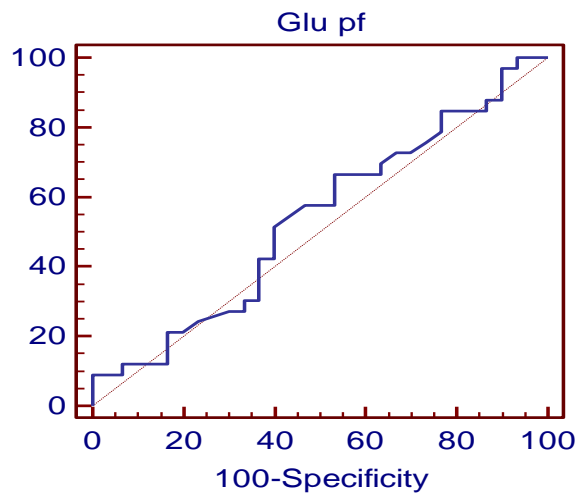
Περαιτέρω ανάλυση του VEGF περιελάμβανε τη χρήση ROC curve καμπύλης προκειμένου να διερευνηθεί η ευαισθησία και η ειδικότητα του VEGF ως δείκτης ανίχνευσης κακοήθειας σε μια υπεζωκοτική συλλογή. Το διάγραμμα 5 απεικονίζει την ROC curve καμπύλη για τις τιμές του VEGF στο υπεζωκοτικό υγρό.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 5.

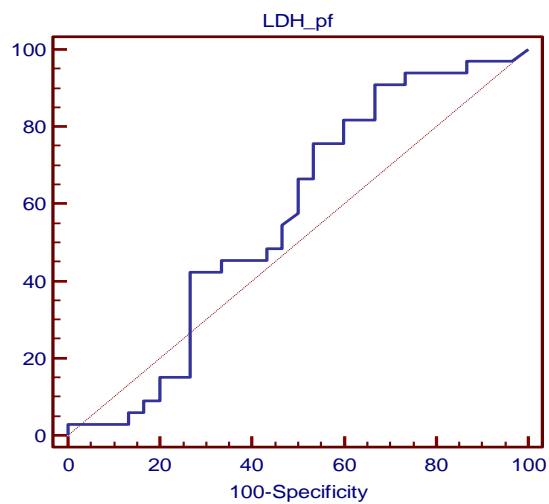
Καμπύλη ROC (receiver operating characteristic) του VEGF στο υπεζωκοτικό υγρό.

Παράλληλα όμως με το VEGF ακολούθησε η ανάλυση και άλλων παραμέτρων του πλευριτικού υγρού (πρωτείνες, LDH, γλυκόζη) με ROC curve καμπύλη και τα αποτελέσματα συγκρίθηκαν με εκείνα του VEGF. (Διάγραμμα 6,7,8).



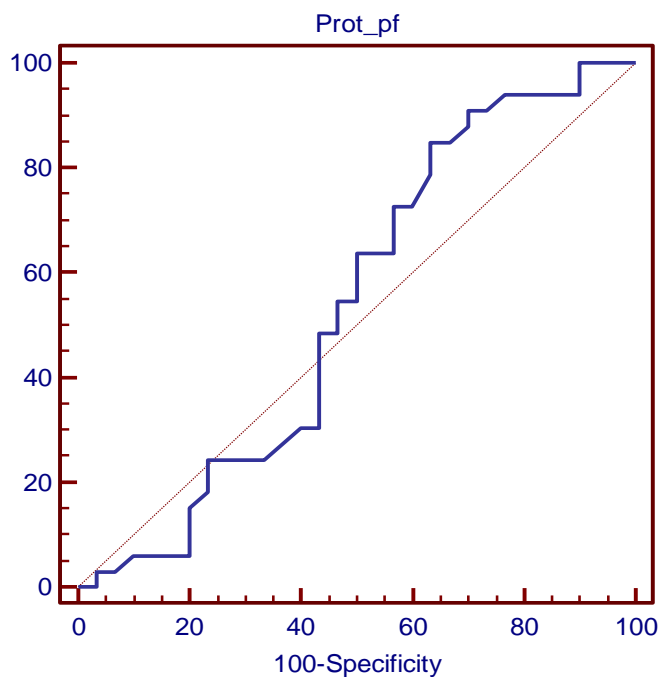
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6

Καμπύλη ROC (receiver operating characteristic) της γλυκόζης στο υπεζωκοτικό υγρό.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 7

Καμπύλη ROC (receiver operating characteristic) του LDH στο υπεζωκοτικό υγρό.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 8

Καμπύλη ROC (receiver operating characteristic) των πρωτεϊνών στο πλευριτικό υγρό.

Τα επίπεδα VEGF του πλευριτικού υγρού (cut-off 552 $\mu\text{g}/\text{dl}$) εμφάνιζαν αξιοσημείωτη ευαισθησία και ειδικότητα (87.88 %) και (80 %) αντίστοιχα που αποτελούν υψηλά ποσοστά και επομένως θα μπορούσαν να προσδώσουν στον VEGF την ικανότητα να διακρίνει μια κακοήθη από μια καλοήγη υπεζωκοτική συλλογή.

Στον πίνακα 9 απεικονίζονται οι "cut-off" τιμές του VEGF ως προς την ικανότητά του να διακρίνει ασθενείς με κακοήθεια συγκριτικά με άλλες βιοχημικές παραμέτρους (ολικές πρωτεΐνες, γλυκόζη, LDH).

Variables	Cut-off	Sensitivity	Specificity	+LR	-LR
VEGF	>552 pg/ml	87.88	80	1.55	0.28
Glucose	>104 mg/dl	66.67	46.67	1.25	0.71
LDH	>156 U/l	90.91	33.33	1.36	0.27
Protein	<=5.05 g/dl	84.85	36.67	1.34	0.41

ΠΙΝΑΚΑΣ 9. Τα cut-off points για το VEGF και τις υπόλοιπες βιοχημικές παραμέτρους του υπεζωκοτικού υγρού στη διάγνωση της κακοήθειας. +LR, positive likelihood ratio; -LR, negative likelihood ratio; VEGF, vascular endothelial growth factor; LDH, lactic dehydrogenase.

Η AUCs (area under curve) που προέκυψε τόσο για το VEGF όσο και για τις υπόλοιπες παραμέτρους απεικονίζονται στον πίνακα 6.

Από αυτές τις παραμέτρους γίνεται φανερό ότι τη μεγαλύτερη AUC στη διάκριση των καλοήθων από τις κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές είχε το VEGF (0.84) με cut-off point 552 pg/ml.

	AUC	SE	95%CL	P-Value
VEGF	0.840	0.0518	0.726 to 0.921	<0.0001
Glucose	0.536	0.0742	0.406 to 0.663	0.6242
LDH	0.571	0.0759	0.440 to 0.695	0.3516
Protein	0.536	0.0768	0.406 to 0.663	0.6360

ΠΙΝΑΚΑΣ 10.

Η area under curve (AUC) για το VEGF και τις υπόλοιπες βιοχημικές παραμέτρους του πλευριτικού υγρού που προέκυψε από την ανάλυση της ROC curve καμπύλης. Τα δεδομένα απεικονίζονται ως AUC % (95 % confidence interval-διάστημα εμπιστοσύνης).

AUC: area under curve, SE: standard error, CL: confidence interval, P-Value.

2. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στόχος της παρούσας διατριβής ήταν ο υπολογισμός των επιπέδων του αγγειακού ενδοθηλιακού παράγοντα VEGF στο πλευριτικό υγρό και τον ορό ασθενών με λεμφοκυτταρικές υπεζωκοτικές συλλογές, οι οποίες θεωρήθηκαν άγνωστης προέλευσης μετά την πρώτη διαγνωστική προσέγγιση του ασθενή και η σύγκριση των τιμών που προέκυψαν με την τελική έκβαση των ασθενών. Σκοπός ήταν να διερευνηθεί η ικανότητα του VEGF να ανιχνεύσει μια υποκρύπτουσα κακοήθεια και ως εκ τούτου να εντοπίσει εκείνους τους ασθενείς με υψηλά επίπεδα VEGF στο πλευριτικό υγρό οι οποίοι θα επωφελούνταν από μια περισσότερο επεμβατική διαγνωστική διαδικασία, όπως η VATS.

Η παρούσα λοιπόν διατριβή κατέδειξε ότι πρώτον ανάμεσα σε μια ομάδα ασθενών, οι οποίοι εμφάνιζαν αδιάγνωστες υπεζωκοτικές συλλογές κατά την πρώτη διαγνωστική προσέγγιση, όσοι εμφάνιζαν υψηλές τιμές VEGF είχαν ή ανέπτυξαν κατά τη διάρκεια της μελέτης κάποιας μορφής κακοήθειας· σε αντίθεση με την ομάδα των ασθενών, οι οποίοι κατά την πρώτη διαγνωστική παρακέντηση εμφάνιζαν χαμηλές τιμές VEGF και στη διάρκεια της δίχρονης μελέτης παρουσίασαν καλοήγη πορεία. Δηλαδή ανέπτυξαν κάποιας μορφής καλοήθους πάθησης στην οποία αποδόθηκε η υπεζωκοτική συλλογή ή η υπεζωκοτική συλλογή απέδραμε και οι ασθενείς δεν ανέπτυξαν κάποιου είδους πάθηση.

Δεύτερον, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά των τιμών του VEGF του πλευριτικού υγρού ανάμεσα στους ασθενείς που στη διάρκεια της μελέτης ανέπτυξαν καρκίνο του πνεύμονα και σε αυτούς που ανέπτυξαν μεσοθηλίωμα ή άλλης μορφής κακοήθεια. Φάνηκε ότι τα επίπεδα του VEGF στο πλευριτικό υγρό δε διέφερε στις διάφορες μορφές κακοήθειας

Τρίτον, μη στατιστικά σημαντική ήταν η σύγκριση των επιπέδων του VEGF του υπεζωκοτικού υγρού ανάμεσα σε ασθενείς που είχαν καλοήγη έκβαση και σε αυτούς που η υπεζωκοτική τους συλλογή δεν αποδόθηκε σε κάποια αιτία. Επίσης, παρατηρήθηκε ότι ανάμεσα στις άλλες μεταβλητές του πλευριτικού υγρού (πρωτεΐνες, LDH, γλυκόζη) που συγκρίθηκαν με την τελική έκβαση των ασθενών μόνο ο VEGF σχετιζόταν ισχυρά με την ύπαρξη κακοήθειας.

Τέλος, όσον αφορά στον ορό των ασθενών δεν αποδείχτηκε στατιστικά σημαντική διαφορά των τιμών του VEGF ανάμεσα στις δύο ομάδες των ασθενών, γεγονός που αποδεικνύει μια σημαντική τοπική απελευθέρωση της κυτταροκίνης αυτής μέσα στην υπεζωκοτική κοιλότητα.

Κατά την πρώτη διαγνωστική παρακέντηση των ασθενών – οπότε και έγινε η συλλογή του υγρού στο οποίο μετρήθηκε ο VEGF – δεν ήταν δυνατή η πρόβλεψη της τελικής έκβασης των ασθενών. Με την ολοκλήρωση της μελέτης και τη σύγκριση της τελικής πορείας με τις αρχικές τιμές του VEGF φαίνεται ότι ο ρόλος του VEGF στην ανίχνευση ασθενών οι οποίοι έχουν μια υποκρύπτουσα κακοήθεια. Από όσα γνωρίζουμε πρόκειται για την πρώτη μελέτη η οποία καταδεικνύει τη χρησιμότητα του VEGF ως βιολογικό δείκτη που ανιχνεύει την ύπαρξη κακοήθειας σε ασθενείς, που εμφανίζουν μια λεμφοκυτταρική συλλογή μη καθορισμένης αιτιολογίας. Τα αποτελέσματα της μελέτης μας ενισχύουν την άποψη ότι ο VEGF έχοντας ισχυρές αγγειογενετικές, μιτογόνες ιδιότητες, παίζει ίσως τον πιο σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό υπεζωκοτικών συλλογών μη φλεγμονώδους αιτιολογίας, που οφείλονται σε αυξημένη διαπερατότητα των μεμβρανών του υπεζωκότα.

Πράγματι, ο ρόλος του VEGF είναι καίριος για την ίδια την ύπαρξη της ζωής. Η απώλεια έστω και ενός αλληλίου του VEGF είναι θανατηφόρο *in utero*. Παρομοίως, knockout ποντίκια που στερούνται γονίδια των υποδοχέων του VEGF πεθάναν από αποτυχία να

αναπτύξουν φυσιολογικά αγγεία. Όμως, οι μοριακοί μηχανισμοί που οδηγούν σε αυξημένη συγκέντρωση υγρών σε λεμφοκυτταρικές υπεζωκοτικές συλλογές είναι πολύπλοκοι (200).

Όπως υπονοεί και το όνομά του οι βασικές λειτουργίες του VEGF έχουν να κάνουν με το αγγειακό ενδοθήλιο. Ο VEGF μπορεί να προάγει μορφολογικές αλλαγές στα αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα, να διεγείρει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων αυτών καθώς και τη μετανάστευσή τους καθώς και να εμποδίζει την απόπτωσή τους. *In vivo*, προάγει την αγγειοδιαστολή με ένα δοσοεξαρτώμενο τρόπο. Αυτές του οι ιδιότητες του VEGF τον καθιστούν έναν από τους καίριους διαμεσολαβητές στην παθογένεση των αγγειακών νοσημάτων, από στεφανιαία μέχρι νοσήματα των περιφερικών αγγείων, από νεοαγγειογένεση του αμφιβληστροειδή μέχρι πνευμονική υπέρταση. Επιπλέον, παίζει έναν κεντρικό ρόλο στην ρύθμιση της διαπερατότητας των αγγείων και της αγγειογένεσης· στοιχεία απαραίτητα για την ανάπτυξη των όγκων και των μεταστάσεων (201).

Ο σχηματισμός των υπεζωκοτικών συλλογών γενικά αφορά στη μετακίνηση κυττάρων και πλάσματος από την συστηματική κυκλοφορία στον υπεζωκοτικό χώρο: μία πορεία που προϋποθέτει τη διέλευση του αγγειακού και του ενδοθηλιακού φραγμού (101,158,171-173). Μάλιστα, αρχικά ο VEGF ήταν αρχικά γνωστός ως παράγοντας αγγειακής διαπερατότητας και η ικανότητά του αυτή να προάγει την αγγειακή διαπερατότητα τον καθιστά πολύτιμο στη διαδικασία σχηματισμού του υπεζωκοτικού υγρού (166). Επιπλέον, ενισχύει τη διαπερατότητα της μονοστοιβάδας των μεσοθηλιακών κυττάρων. Ο VEGF προάγει 50.000 φορές περισσότερο από την ισταμίνη την αγγειακή διαπερατότητα (176). Τοπική έγχυση του VEGF αυξάνει την έξοδο πλάσματος διαμέσου των τριχοειδών είτε με το σπάσιμο των μεσοκυττάρων συνδέσεων ή με το να προάγει το σχηματισμό θυρίδων στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Αρκετές μελέτες έχουν αναδείξει ότι αρκετοί ιστολογικοί τύποι καρκίνου του πνεύμονα εκφράζουν τον VEGF, ενώ επίσης παράγεται και από αρκετά φλεγμονώδη

κύτταρα, όπως εοσινόφιλα, λεμφοκύτταρα, μακροφάγα, ουδετερόφιλα (174,202). Από αυτή τη σκοπιά, ο VEGF ίσως παίζει ένα σημαντικό ρόλο στην παθογένεια των εξιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών που δημιουργούνται δευτεροπαθώς στην κακοήθεια και μπορούν να βρεθούν αυξημένα στο υπεζωκοτικό υγρό (157).

Σε μελέτες που έχουν δημοσιευτεί στο παρελθόν έχουν βρεθεί υψηλότερα επίπεδα VEGF σε υπεζωκοτικές συλλογές κακοήθους προέλευσης (171-176,203). Ο Thickett *et al* σε μία προοπτική, μακρόχρονη μελέτη παρακολούθησης 78 ασθενών με υπεζωκοτικές συλλογές απέδειξε ότι τα επίπεδα του VEGF ήταν αυξημένα σε κακοήθεις, παραπνευμονικές συλλογές καθώς και σε εμπυήματα. Τα επίπεδα του VEGF ήταν >1000 pg/ml στις περισσότερες κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές καθώς και σε εμπυήματα (102). Τα αποτελέσματα αυτά βρίσκονται σε συμφωνία με τα ευρήματά μας, τα οποία επίσης επισημαίνουν ότι τα επίπεδα του VEGF είναι αυξημένα σε κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές. Επιπλέον, στη μελέτη μας, ο VEGF είχε τη μεγαλύτερη ειδικότητα στη διάκριση καλοήθων και κακοήθων συλλογών αποδεικνύοντας την υπεροχή του ανάμεσα σε άλλες βιοχημικές παράμετρους με τις οποίες συγκρίθηκε. Ο Shen δημοσίευσε μια μετα-ανάλυση που πρότεινε ότι τα επίπεδα του VEGF στο πλευριτικό υγρό θα μπορούσαν να βελτιώσουν τη διάγνωση της κακοήθους υπεζωκοτικής συλλογής (199). Από αυτή την άποψη, ο VEGF θα μπορούσε να χρησιμεύσει ως ένας βιολογικός δείκτης στη διάκριση μιας πιθανής κακοήθους εξέλιξης μιας λεμφοκυτταρικής υπεζωκοτικής συλλογής και επομένως να χρησιμοποιηθεί ως ένα επικουρικό εργαλείο στις συμβατικές – μη παρεμβατικές – μεθόδους διερεύνησης μιας υπεζωκοτικής συλλογής. Αυτό αποτελεί μια πολύ σημαντική πληροφορία καθώς η κακοήθεια αποτελεί την κύρια διαγνωστική πρόκληση μιας εξιδρωματικής, λεμφοκυτταρικής υπεζωκοτικής συλλογής που δεν έχει μια προφανή διάγνωση, ακόμα και μετά από εκτεταμένη διερεύνησή της.

Επίσης, σε μία μελέτη του Πανεπιστημίου της Θεσσαλίας το 2007 των Daniil *et al* μελετήθηκε ο διαγνωστικός ρόλος πολλαπλών βιοδεικτών του πλευριτικού υγρού σε ομάδες ασθενών με υπεζωκοτικές συλλογές διαφορετικών προελεύσεων (κακοήθεια, παραπνευμονικές συλλογές και φυματιώδους αιτιολογίας υπεζωκοτικές συλλογές)(204). Στη μελέτη αυτή παρατηρήθηκε ότι τα επίπεδα του VEGF ήταν αυξημένα σε ασθενείς με κακοήθεις υπεζωκοτικές συλλογές. Παρόλα αυτά, ο VEGF δε θεωρήθηκε ως σημαντικός παράγοντας στη διάκριση παραπνευμονικών και κακοήθων υπεζωκοτικών συλλογών. Στη δική μας μελέτη οι παραπνευμονικές συλλογές είχαν εξαιρεθεί καθώς μελετήθηκαν μόνο λεμφοκυτταρικές υπεζωκοτικές συλλογές. Άλλωστε, αν αναλογιστεί κανείς ότι η διάγνωση μιας παραπνευμονικής συλλογής έχει συγκεκριμένα κριτήρια και γίνεται σχετικά εύκολα, στη μελέτη που προαναφέρθηκε η εναπομείνουσα ομάδα στην οποία τα επίπεδα του VEGF ήταν αυξημένα ήταν η ομάδα της κακοήθειας που συμφωνεί με τα αποτελέσματα της μελέτης μας. Στην παρούσα μελέτη αναδείξαμε τη χρησιμότητα του βιοδείκτη VEGF καθώς τα επίπεδά του στο υπεζωκοτικό υγρό (μg/dl) σε ασθενείς με κακοήθεια ήταν σημαντικά αυξημένα σε σχέση με τους ασθενείς που είχαν καλοήγη έκβαση. Επεκτείνοντας την υπόθεσή μας, όταν θέσαμε τα δεδομένα σε μια ROC curve καμπύλη παρατηρήσαμε ότι με ένα cut-off 552 μg/dl η ευαισθησία ήταν 87.77 % και η ειδικότητα 80 % για τη διάγνωση της κακοήθειας.

Τέλος, στην παρούσα έρευνα μελετήσαμε μια ομάδα ασθενών με υπεζωκοτικές συλλογές, οι οποίες κατά την αρχική τους διαγνωστική προσέγγιση δεν είχαν διάγνωση. Είναι γενικά αποδεκτό ότι στην παρούσα φάση το πλέον ασφαλές διαγνωστικό μέσο για να κατοχυρώσεις την κακοήγη προέλευση μιας υπεζωκοτικής συλλογής είναι η θωρακοσκόπηση η οποία έχει ευαισθησία της τάξης του 95% (205-6). Η θωρακοσκόπηση έχει το πλεονέκτημα ότι παρέχει ταυτόχρονα με τη διάγνωση και άλλες θεραπευτικές επιλογές, όπως η πλευρόδεση με ταλκ.Ωστόσο, αυτή η διαγνωστική επιλογή έχει επίσης το μειονέκτημα ότι είναι περισσότερο

επεμβατική, έχει υψηλό κόστος και ενέχει κινδύνους όταν εφαρμόζεται σε ασθενείς ηλικιωμένους ή ασθενείς με μεγάλη συννοσηρότητα (207). Από την άλλη αποδείχτηκε στην έρευνα ότι οι 15 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε VATS και η ιστολογική διάγνωση ήταν χωρίς στοιχεία κακοήθειας οπότε η υπεζωκοτική συλλογή θεωρήθηκε αδιευκρίνιστης αιτιολογίας, εμφάνιζαν όλοι τη στιγμή της πρώτης τους παρακέντησης χαμηλά επίπεδα VEGF στο πλευριτικό τους υγρό.

Συμπερασματικά, στους ασθενείς αυτούς που δεν υπήρχε η κλινική υποψία κακοήθειας και εμφάνιζαν χαμηλά επίπεδα VEGF στο πλευριτικό υγρό θα μπορούσε μια απλή παρακολούθηση της υπεζωκοτικής συλλογής να είναι το επόμενο διαγνωστικό βήμα και όχι άμεσα μια περισσότερο επεμβατική μέθοδος όπως η VATS. Αντίθετα, σε ασθενείς με κλινική υποψία κακοήθειας και υψηλά επίπεδα VEGF η VATS θα πρέπει να αποτελεί την άμεση και γρήγορη επόμενη διαγνωστική επιλογή, ενώ θα πρέπει να υπάρχει μια περισσότερο στενή παρακολούθηση του ασθενή καθώς τα υψηλά επίπεδα της κυτταροκίνης αυτής στην πρώτη παρακέντηση υποδηλώνουν την ύπαρξη αυξημένης αγγειογενετικής δραστηριότητας και επομένως πιθανής βιολογικής επιθετικότητας ενός όγκου. Επομένως, ο δείκτης VEGF σε μια λεμφοκυτταρική συλλογή που παραμένει χωρίς διάγνωση θα μπορούσε να δράσει επικουρικά στην απόφαση για μια περισσότερο επεμβατική διαγνωστική προσέγγιση ή όχι.

3. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. **Rahman NM, Chapmen SJ, Davies RJ:** Pleural effusion: a structured approach to care. *Br Med Bull* 2004;72:31-41
2. **Diaz-Guzman E, Dweik RA:** Diagnosis and management of pleural effusions: a practical approach. *Compr Ther* 2007;33:237-241
3. **Light RW, Macgregor MI, Luchsinger PC, et al:** Pleural effusions: the diagnostic separation of transudates and exudates. *Ann Intern Med* 1972;77:507-513
4. **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
5. **Conner BD, Lee YC, Branca P, et al:** Variations in pleural fluid WBC count and differential counts with different sample containers and different methods. *Chest* 2003;123:1181-1187
6. **Villena V, Lopez-Encuentra A, Pozo E, et al:** Interferon gamma levels in pleural fluid for the diagnosis of tuberculosis. *Am J Med* 2003;115:365-
7. **Chang S-C, Perng RP:** The role of fiberoptic bronchoscopy in evaluating the causes of pleural effusions. *Arch Intern Med* 1989;149:855-857
8. **San Jose ME, Valdes L, Saavedra MJ, et al:** Lymphocyte populations in tuberculous pleural effusions. *Ann Clin Biochem* 1999;36:492-500
9. **Light RW:** Pleural diseases. *Curr Opin Pulm Med* 2003;9:251-253
10. **Brown LF, Detmar M, Claffey K:** Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: A multifunctional angiogenic cytokine. *Regulation of angiogenesis* 1997;79:233-269
11. **Dvorak HF, Brown LF, Detmar M:** Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hypermeability and angiogenesis. *Am J Pathol* 1995;146:1029-1039
12. **Carmeliet P, Ferreira V, Breier G:** Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature* 1996;380:435-439
13. **Ferrara N, Carver-Moore K, Chen H, et al:** Heterozygous embryonic lethality induced by targeted inactivation of the VEGF gene. *Nature* 1996;380:439-442
14. **Dvorak HF, Nagy JA, Dvorak AM:** Structure of solid tumors and their vasculature:

Implications for therapy with monoclonal antibodies. *Cancer Cells* 1991;3: 77-85

15. Jeltsch M, Kaipainen A, Joukov V, et al: Hyperplasia of lymphatic vessels in VEGF-C transgenic mice. *Science* 1997;276: 1423-1425

16. Soker S, Takashima S, Miao HQ, et al: Neutrophilin-1 is expressed by endothelial and tumor cells as an isoform-specific receptor for vascular endothelial growth factor. *Cell* 1998;92:735-745

17. Matsumoto T, Claesson-Welsh L: VEGF-receptor signal transduction. *Trends Biochem Sci* 2003;112:488-94

18. Carmeliet P, Moons L, Luttun A, et al: Synergism between vascular endothelial growth factor contributes to angiogenesis and plasma extravasation in pathological conditions. *Nat Med* 2001;7:575-583

19. DiSalvo J, Bayne ML, Conn G, et al: Purification and characterization of a naturally occurring vascular endothelial growth factor: Placenta growth factor heterodimer. *J Biol Chem* 1997;270:7717-7723

20. Olofsson B, Pajusola K, Kaipainen A, et al: Vascular endothelial growth factor B, a novel growth factor for endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci* 1996;93:2576-2581

21. Joukov V, Kaipainen A, Jeltsch M, et al: Vascular endothelial growth factors VEGF-B and VEGF-C. *J Cell Physiol* 1997;173:211-215

22. Meyer M, Clauss M, Lepple-Wienheues A, et al: A novel vascular endothelial growth factor encoded by Orf virus. VEGF-E, mediates angiogenesis via signaling through VEGFR-2(KDR) but not VEGFR-1 (flt-1) receptor tyrosine kinases. *EMBO J* 1999;18:363-374

23. Aoki Y, Tosato G: Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor in the pathogenesis of primary effusion lymphomas. *Leuk Lymphoma* 1999;41:229-733

24. Ferrara N. Basic Science and clinical progress. *Endocrine Reviews* 2004;25:581-611

25. Eriksson U, Alitalo K: Structure, expression and receptor-binding properties of novel vascular endothelial growth factors. *Curr Top Microbiol Immunol* 1999;237:41-57

26. Claffey KP, Robinson GS: Regulation of VEGF/VPF expression in tumor cells: Consequences for tumor growth and metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 1996;15:165-

- 27. Shih SC, Claffey KP:** Hypoxia-mediated regulation of gene expression in mammalian cells. *Int J Exp Pathol* 1999;79:347-357
- 28. Levy AP, Levy NS, Wengner S, et al:** Transcriptional regulation of the rat vascular endothelial growth factor gene by hypoxia. *J Biol Chem* 1995;270:13333-13340
- 29. Forsythe JA, Jiang BH, Iver NV, et al:** Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor. *Mol Cell Biol* 1996;16:4604-4613
- 30. Gerber HP, Condorelli F, Park J, et al:** Differential transcriptional regulation of the two vascular endothelial growth factor receptor genes: Flt-1, but not Flk -1/KDR, is up regulated by hypoxia. *J Biol Chem* 1997;272:23659-23667
- 31. Jain RK:** Transport of molecules in the tumor interstitium: A review. *Cancer Res* 1997;47: 3039-3051
- 32. Mukhopadhyay D, Tsiokas L, Zhou XM, et al:** Hypoxic induction of human vascular growth factor expression through c-Src activation , *Nature* 1995;375:577-581
- 33. Rak J, Mitsuhashi Y, Bayko L, et al:** Mutant *ras* oncogenes upregulate VEGF/VPF expression: Implications for induction and inhibition of tumor angiogenesis. *Cancer Res* 1995; 55:4575-4580
- 34. Rak J, Filmus J, Finkenzeller G, et al:** Oncogenes as inducers of tumor angiogenesis. *Cancer Metastasis Rev* 1995;14:263-277
- 35. Rak J, Kerbel RS:** Ras regulation of vascular endothelial growth factor and angiogenesis. *Methods Enzymol* 2001; 333: 267-283
- 36. Ohh M, Kaelin WG JR:** The von Hippel-Lindau tumors suppressor protein. *New perspectives.Mol Med Today* 1999;5: 257-263
- 37. Clifford SC, Maher ER:** Von Hippel-Lindau disease: Clinical and molecular perspectives. *Adv Cancer Res* 2001; 82: 85-105
- 38. Pal S, Datta K, Mukhopadhyay D:** Central role of p53 on regulation of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor (VPF/VEGF) expression in mammary carcinoma. *Cancer Res* 2001;61:6952-6957
- 39. Starvi GT, Zachary IC, Baskerville PA, et al:** Basic fibroblast growth factor upregulates the expression of vascular endothelial growth factor in vascular smooth muscle cells: Synergistic interaction with hypoxia. *Circulation* 1995; 92:11-14

- 40. Slaton JW, Inoue K, Perrotte P, et al:** Expression levels of genes that regulate metastasis and angiogenesis correlate with advanced pathological stage of renal cell carcinoma. *Am J Pathol* 2001;158:735-743
- 41. Berse B, Brown LF, Van de Water L, et al:** Vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) gene is expressed differentially in normal tissues, macrophages, and tumors. *Mol Biol Cell* 1992;3:211-220
- 42. Cullinan-Bove K, Koos RD:** Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor expression in the rat uterus: Rapid stimulation by estrogen correlates with estrogen-induced increases in uterine capillary permeability and growth. *Endocrinology* 1993;133:829-837
- 43. Garrido C, Saule S, Gospodarowicz D:** Transcriptional regulation of vascular endothelial growth factor gene expression in ovarian bovine granulosa cells. *Growth Factors* 1993;8:109-117
- 44. Adams J, Carder PJ, Downey S, et al:** Vascular endothelial growth factor (VEGF) in breast cancer: Comparison of plasma, serum, and tissue VEGF and microvessel density and effects of tamoxifen. *Cancer Res* 2000;60:2898-2905
- 45. Soh EY, Sobhi SA, Wong MG, et al:** Thyroid-stimulating hormone promotes the secretion of vascular endothelial growth factor in thyroid cancer cell lines. *Surgery* 1996;120:944-947
- 46. Tsopanoglou NE, Maragoudakis ME:** On the mechanism of thrombin-induced angiogenesis. *J Biol Chem* 1999;34: 23969-23976
- 47. Kronemann N, Bouloumi A, Bassus S, et al:** Aggregating human platelets stimulate expression of vascular endothelial growth factor in cultured vascular smooth muscle cells through a synergistic effect of transforming growth factor-beta and platelet-derived growth factor (AB). *Circulation* 1999; 100:855-860
- 48. Li J, Hampton T, Morgan JP, et al:** Stretch-induced VEGF expression in the heart. *J Clin Invest* 1997;100:18-24
- 49. Gruden G, Thomas S, Burt D, et al:** Mechanical stretch induces vascular permeability factor in human mesangial cells: Mechanisms of signal transduction. *Proc Natl Acad Sci* 1997; 94:12112-12116
- 50. Chen KD, Li YS, Kim M, et al:** Mechanotransduction in response to shear stress: Roles of receptor tyrosine kinase, integrins, and Shc. *J Biol Chem* 1999;274:18393-

18400

- 51. Fukumura D, Xu L, Chen Y, et al:** Hypoxia and acidosis independently up-regulate vascular endothelial growth factor transcription in brain tumors in vivo. *Cancer Res* 2001;61:6020-6024
- 52. Hu YL, Tee MK, Goetzl EJ, et al:** Lysophosphatidic acid induction of vascular endothelial growth factor expression in human ovarian cancer cellw. *J Natl Cancer Inst* 2001;93:762-768
- 53. Gu JW, Brady AL, Anand V, et al:** Adenosine upregulates VEGF expression in cultured myocardial vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1999; 277:H595-H602
- 54. Nauck M, Karakiulakis G, Perruchoud AP, et al:** Corticosteroids inhibit the expression of the vascular endothelial growth factor gene in human vascular smooth muscle cells. *Eur J Pharmacol* 1998;341:309-315
- 55. Hicklin DJ, Ellis LM:** Role of the vascular endothelial growth factor in tumor growth and angiogenesis 2005;10:1011-27
- 56. DeVries C, Escobedo JA, Ueno H, et al:** The fms-like tyrosine kinase, a receptor for vascular endothelial growth factor. *Science* 1992; 255: 989-991
- 57. Terman BI, Carriou ME, Kovacs E, et al:** Identification of a new endothelial cell growth factor receptor tyrosine kinase. *Oncogene* 1991;6:1677-1683
- 58. Dvovak HF:** Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. *J Clin Oncol* 2002;1:4368-80
- 59. Shalaby F, Rossant J, Yamaguchi TP, et al:** Failure of blood-island formation and vasculogenesis in afalk-l-deficient mice. *Nature* 1995;376:62-6
- 60. Matsumoto T, Claesson-Welsh L:** VEGF receptor signal transduction. *Sci STKE* 2001;112:1-17
- 61. Hutchings H, Ortega N, Plouet J.** Extracellular matrix-bound vascular endothelial growth factor promotes endothelial cell adhesion, migration and survival through integrin ligation. *FASEB J* 2003;17:1520-2
- 62. Bussolati B, Dunk C, Grohman M, et al:** Vascular endothelial growth factor receptor-1 modulates vascular endothelial growth factor-mediated angiogenesis via nitric oxide. *Am J Pathol* 2001;159: 993-2001
- 63. Lee J, Gray A, Yuan J, LouthS-M:** Vascular endothelial growtg factor-related

protein: a ligand and specific activator of the tyrosine kinase receptor Fl4. Proc Natl Acad Sci 1996;93:1988-92

64. Kaipainen A, Korhonen J, Mustonen T, et al: Expression of the fms-like tyrosine kinase FLT4 gene becomes restricted to endothelium of lymphatic vessels during development. Proc Natl Acad Sci 1995;92: 3566-70

65. Partanen T, Arola J, Saaristo A, et al: VEGF-C and VEGF-D expression in neuroendocrine cells and their receptor, VEGF-3 in fenestrated blood vessels in human tissues. FASEB J 2000;14:2087-96

66. Klagsbrun M, Takashima S, Mamluk R: The role of neuropilin in vascular and tumor biology. Adv Exp Med Biol 2002;515: 33-48

67. Bargi A, Tessier-Lavigne M: Neuropilins as semaphoring receptors: in vivo functions in neuronal cell migration and axon guidance. Adv Exp Med Biol 2002;515:13-31

68. Kawasaki T, Bekku Y, Suto F et al: Requirement of neuropilin 1-mediated Sema3a signals in patterning of the sympathetic nervous system. Development 2002;129:671-80

69. Yuan L, Moyon D, Pardanuad L, et al: Abnormal lymphatic vessel development in neuropilin 2 mutant mice. Development 2002;129:4797-806

70. Dvorak AM, Kohn S, Morgan ES, et al: The vesiculo-vacuolar organelle (VVO): A distinct endothelial cell structure that provides a transcellular pathway for macromolecular extravasation. J Leukoc Biol 1996;59:100-115

71. Pettersson A, Nagy JA, Brown LF, et al: Heterogeneity of the angiogenic response induced in different induced in different normal adult tissues by vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor. Lab Invest 2000;80:99-115

72. Sundberg C, Nagy JA, Brown LF, et al: Glomeruloid microvascular proliferation follows adenoviral vascular permeability factor/VEGF-164 gene delivery. Am J Pathol 2001;158:1145-1160

73. Dvorak HF, Nagy JA, Feng D, et al: Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor and the significance of microvascular hyperpermeability in angiogenesis. Curr Top Microbiol Immunol 1999;237 :97-132

74. Kadambi A, Carreira CM, Yun CO, et al: Vascular endothelial growth factor (VEGF)-C differentially affects tumor vascular function and leukocyte recruitment:

- Role of VEGF-receptor 2 and host VEGF-A. *Cancer Res* 2001;61; 2404-2408
- 75. Nagy J, Benjamin L, Dvorak H:** Vascular permeability, vascular hyperpermeability and angiogenesis. *Angiogenesis* 2008; 11:109-119
- 76. Palade G. E.** The microvascular endothelium revisited. *Endothelial cell biology* 1998;2:3-22
- 77. Water L, Tracy PB, Aronson D et al:** Tumor cell generation of thrombin via functional prothrombinase assembly. *Cancer Res* 1985;45: 5521-5525
- 78. Feng D, Nagy JA, Hipp J, et al:** Vesiculo-vacuolar organelles and the regulation of venule permeability to macromolecules by vascular permeability factor, histamine, and serotonin. *J Exp Med* 1996;183:1981-1986
- 79. Feng D, Nagy JA, Hipp J, et al:** Reinterpretation of endothelial cell gaps induced by vasoactive mediators in guinea-pig, mouse and rat: many are transcellular pores. *J Physiol* 1997;504:747-761
- 80. Nagy JA, Masse EM, Herzberg KT, et al:** Pathogenesis of ascites tumor growth: vascular permeability factor, vascular hyperpermeability and ascites fluid accumulation. *Cancer Res* 1995;55:360-368
- 81. Pettersson A, Nagy JA, Brown LF, et al:** Heterogeneity of the angiogenic response induced in different normal adult tissues by vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor. *Lab Invest* 2000;80 :99-115
- 82. Dvorak HF, Rickles FR:** Angiogenesis: update 2005. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2005;3:1835-42
- 83. Nagy JA, Feng D, Vasile E, et al:** Permeability properties of tumor surrogate blood vessels induced by VEGF-A. *Lab In vest* 2006;86:767-780
- 84. Feng D, Nagy JA, Pyne K, et al:** Pathways of macromolecular extravasation across microvascular endothelium in response to VPF/VEGF and other vasoactive mediators. *Microcirculation* 1999;6: 23-44
- 85. Garcia-Cardena G, Folkman J:** Is there a role for nitric oxide in tumor angiogenesis? *J Natl Cancer Inst* 1998;90:560-561
- 86. Watanabe Y, Lee SW, Detmar M, et al:** Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor (VPF/VEGF) delays and induces escape from senescence in human dermal microvascular endothelial cells. *Oncogene* 1997;14:2025-2032
- 87. Brown LF, Detmar M, Tognazzi K, et al:** Uterine smooth muscle cells express

functional receptors (flt-1 and KDR) for vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor. *Lab Invest* 1997;76:245-255

88. Robinson GS, Ju M, Shih SC, et al: Nonvascular role for VEGF: VEGFR-1, 2 activity is critical for neural retinal development. *FASEB J* 2001;15:1215-1217

89. Nagy J, Vasile E, Brown L, et al: Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor-A (VPF/VEGF, VEGF-A) induces lymphangiogenesis as well as angiogenesis. *FASEB* 2002;16: A367

90. Bachelder RE, Crago A, Chung J, et al: Vascular endothelial growth factor is an autocrine survival factor for neuropilin-expressing breast carcinoma cells. *Cancer Res* 2001;61:5736-5740

91. Gale NW, Vancopoulos GD: Growth factors acting via endothelial cell-specific receptor tyrosine kinases: VEGFs, angiopoietins and ephrins in vascular development. *Genes Dev* 1999;13(9):1055-66

92. Vancopoulos GD, Davis S, Gale NW, et al: Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature* 2000;407(6801):242-248

93. Papaioannou AI, Kostikas K, Kollia P, et al: Clinical implications for VEGF in the lung: friend or foe? *Respiratory Research* 2006;7:1-13

94. Galambos C, Ng YS, Ali A, et al: Defective pulmonaru development in the absence of heparin-binding vascular endothelial growth factor isoforms. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002;27(2):194-203

95. Acarregui MJ, Penisten ST, GossKL, et al: Vascular endothelial growth factor geneexpression in human fetal lung in vitro. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999;20(1): 14-23

96. Tang JR, Markham NE, Lin YJ, et al: Inhaled nitric oxide attenuates pulmonary hypertension and improves lung growth in infant rats after neonatal treatment with a VEGF receptor inhibitor. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004, 287(2):L344-51

97. Kaner RJ, Ladetto JV, Sinhg R, et al: Lung overexpression of the vascular endothelial growth factor gene induces pulmonary edema. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000;22(6):657-664

98. Kazi AS, Lotfi S, Goncharova EA: Vascular endothelial growth factor-induced secretion of fibronectin is ERK dependent. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physio* 2004, 286(3):L539-45

- 99. Kaner RJ, Crystal RG:** Compartmentalization of vascular endothelial growth factor to the epithelial surface of the human lung. *Mol Med* 2001;7(4):240-246
- 100. Boussat S, Eddahibi S, Coste A, et al:** Expression and regulation of vascular endothelial growth factor in human pulmonary epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000 ;279(2):L371-8
- 101. Grove CS, Lee YC:** Vascular endothelial growth factor : the key mediator in pleural effusion formation. *Curr Opin Pulm Med* 2002; 8(4):294-301
- 102. Thickett DR, Armstrong L, Millar AB:** Vascular endothelial growth factor (VEGF) in inflammatory and malignant pleural effusions. *Thorax* 1999; 54(8):707-710
- 103. Lavie L, Kraiczi H, Hefetz A, et al:** Plasma vascular endothelial growth factor in sleep apnea syndrome: effects of nasal continuous positive air pressure treatment. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165(12):1624-1628
- 104. Medford AR, Keen LJ, Bidwell LJ:** Vascular endothelial growth factor gene polymorphism and acute respiratory distress syndrome. *Thorax* 2005;60(3):244-248
- 105. Mura M, dos Santos CC, Stewart D:** Vascular endothelial growth factor and related molecules in acute lung injury. *J Appl Physiol* 2004;97(5):1605-1617
- 106. Thickett DR, Armstrong L, Christie SJ:** Vascular endothelial growth factor may contribute to increased vascular permeability in acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Care Med* 2001, 164(9):1601-1605
- 107. Thickett DR, Armstrong L, Millar AB:** A role for vascular endothelial growth factor in acute and resolving lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166(10):1332-1337
- 108. Ware LB, Kaner RJ, Crystal RG, et al:** VEGF levels in the alveolar compartment do not distinguish between ARDS and hydrostatic pulmonary oedema. *Eur Respir J* 2005;26(1):101-105
- 109. Corne J, Chupp G, Lee CG, et al:** IL-3 stimulates vascular endothelial cell growth factor and protects against hyperoxic acute lung injury. *Clin Invest* 2000;106(6):783-791
- 110. Kanazava H, Nomura S, Yohikawa J:** Role of microvascular permeability on physiologic differences in asthma and eosinophilic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;169(10):1125-1130
- 111. Asai K, Kanazzawa H, Ocani K, et al:** Imbalance between vascular endothelial

growth factor and endostatin levels in induced sputum from asthmatic subjects. *J Allergy Clin Immunol* 2000;110(4):571-575

112. Kanazawa H, Hirata K, Yohikawa J: Involvement of vascular endothelial growth factor in exercise induced bronchoconstriction in asthmatic patients. *Thorax* 2002;57(110):885-888

113. Feltis BN, Wignarajah D, Zheng L, et al: Increased vascular endothelial growth factor and receptors: relationship to angiogenesis in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;173(11):1201-1207

114. Hoshimo M, Nakamura Y, Hamid QA: Gene expression of vascular endothelial growth factor and its receptors and angiogenesis in bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107(6):1034-1038

115. Hoshino M, Takahashi M, Aoike N: Expression of vascular endothelial growth factor, basic fibroblast growth factor, and angiogenin immunoreactivity in asthmatic airways and its relationship to angiogenesis. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107(2):295-301

116. Chetta A, Zanini A, Foresi A, et al: Vascular endothelial growth factor up-regulation and bronchial wall remodeling in asthma. *Clin Exp Allergy* 2005;35(11):1437-1442

117. Wen FQ, Liu X, Manda W, et al: TH2 Cytokine-enhanced and TGF-beta-enhanced vascular endothelial growth factor production by cultured human airway smooth muscle cells is attenuated by IFN-gamma and corticosteroids. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111 (6):1307-1318

118. Bandi N, Kompella UB: Budesonide reduces vascular endothelial growth factor secretion and expression in airway and alveolar epithelial cells. *Eur J Pharmacol* 2001;425(2):109-116

119. Lee KS, Kim SR, Park HS: Cysteinyl leukotriene receptor antagonist regulates vascular permeability by reducing vascular endothelial growth factor expression. *J Allergy Clin Immunol* 2004;495:1093-1099

120. Kanazawa H, Yoshikawa T, Hirata K: Effects of pranlukast administration on vascular endothelial growth factor levels in asthmatic patients. *Chest* 2004;125(5):1700-1705

121. Lee YC, Kwak YG, Song CH: Contribution of vascular endothelial growth factor to

airway hyperresponsiveness and inflammation in a murine model of toluene diisocyanate-induced asthma. *J Immunol* 2002;168(7):3595-3600

122. Hirose S, Hosoda Y, Furuya S, et al: Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors correlates closely with formation of the plexiform lesion in human pulmonary hypertension. *Pathol Int* 2000;50:472-479

123. Voelkel NF, Cool C, Taraseviciene-Stewart L, et al: Janus face of vascular endothelial growth factor: the obligatory survival factor for lung vascular endothelium controls precapillary artery remodeling in severe pulmonary hypertension. *Crit Care Med* 2002;30:251-6

124. Fujita M, Mason RJ, Cool C, et al: Pulmonary hypertension in TNF-alpha-overexpressing mice is associated with decreased VEGF gene expression. *Appl Physiol* 2002;93(6):2162-2170

125. Tuder RM, Chacon M, Alger L, et al: Expression of angiogenesis-related molecules in plexiform lesions in severe pulmonary hypertension: evidence for a process of disordered angiogenesis. *J Pathol* 2001;195(3):367-374

126. Meta-Greenwood E, Meyrick B, Soifer SJ, et al: Expression of VEGF and its receptors Flt-1 and Flk-1/KDR is altered in lambs with increased pulmonary blood flow and pulmonary hypertension. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003;285(1):L222-231

127. Taraseviciene-Stewart L, Kasahara Y, Alger L, et al: Inhibition of the VEGF receptor 2 combined with chronic hypoxia causes cell death-dependent pulmonary endothelial cell proliferation and severe pulmonary hypertension. *Faseb J*. 2001;15(2):427-438

128. Campbell AI, Zhao Y, Sandhu R, et al: Cell-based gene transfer of vascular endothelial growth factor attenuates monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *Circulation* 2001;104(18):2242-2248.

129. Gong F, Tang H, Lin Y, et al: Gene transfer of vascular endothelial growth factor reduces bleomycin-induced pulmonary hypertension in immature rabbits. *Pediatr Int*.2005;47(3):242-247

- 130. Eddahibi S, Humbert M, Sediame S, et al:** Imbalance between platelet vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor in pulmonary hypertension. Effect of prostacyclin therapy. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;162:1493–1499
- 131. Fehrenbach H, Kasper M, Haase M, et al:** Differential immunolocalization of VEGF in rat and human adult lung, and in experimental rat lung fibrosis: light, fluorescence, and electron microscopy. *Anat Rec.* 1999;254(1):61–73
- 132. Simler NR, Brenchley PE, Horrocks AW, et al:** Angiogenic cytokines in patients with idiopathic interstitial pneumonia. *Thorax* 2004;59(7):581–585
- 133. Meyer KC, Cardoni A, Xiang ZZ:** Vascular endothelial growth factor in bronchoalveolar lavage from normal subjects and patients with diffuse parenchymal lung disease. *J Lab Clin Med.*2000;135(4):332–338
- 134. Koyama S, Sato E, Haniuda M, et al:** Decreased level of vascular endothelial growth factor in bronchoalveolar lavage fluid of normal smokers and patients with pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;166(3):382–385
- 135. Cosgrove GP, Brown KK, Schiemann WP, et al:** Pigment epithelium-derived factor in idiopathic pulmonary fibrosis: a role in aberrant angiogenesis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;170(3):242–251
- 136. Ebina M, Shimizukawa M, Shibata N, et al:** Heterogeneous increase in CD34-positive alveolar capillaries in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;169(11):1203–1208
- 137. Renzoni EA:** Neovascularization in idiopathic pulmonary fibrosis: too much or too little? *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;169(11):1179–1180
- 138. Tolnay E, Kuhnen C, Voss B, et al:** Expression and localization of vascular endothelial growth factor and its receptor flt in pulmonary sarcoidosis. *Virchows Arch.*1998;432(1):61–65

- 139. Sekiya M, Ohwada A, Miura K, et al:** Serum vascular endothelial growth factor as a possible prognostic indicator in sarcoidosis. *Lung*. 2003;181(5):259–265
- 140. Shahar E, Whitney CW, Redline S, et al:** Sleep-disordered breathing and cardiovascular disease: cross-sectional results of the Sleep Heart Health Study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;163(1):19–25.
- 141. Imagawa S, Yamaguchi Y, Higuchi M, et al:** Levels of vascular endothelial growth factor are elevated in patients with obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome. *Blood* 2001;98(4):1255–1257. doi: 10.1182/blood.V98.4.1255
- 142. Teramoto S, Kume H, Yamamoto H, et al:** Effects of oxygen administration on the circulating vascular endothelial growth factor (VEGF) levels in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Intern Med*. 2003;42(8):681–685
- 143. Schulz R, Hummel C, Heinemann S, et al:** Serum levels of vascular endothelial growth factor are elevated in patients with obstructive sleep apnea and severe nighttime hypoxia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;165(1):67–70
- 144. Kaditis AG, Alexopoulos EI, Karadonta I, et al:** Obstructive sleep-disordered breathing and plasma levels of vascular endothelial growth factor in children. *Respir Med*. 2006;100(5):835–840
- 145. Inoue M, Itoh H, Ueda M, et al:** Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in human coronary atherosclerotic lesions: possible pathophysiological significance of VEGF in progression of atherosclerosis. *Circulation*.1998;98:2108–2116.
- 146. Alatas F, Alatas O, Metintas M, et al:** Vascular endothelial growth factor levels in active pulmonary tuberculosis. *Chest* 2004;125(6):2156-2159
- 147. Matsuyama W, Hashiguchi T, Matsumuro K, et al:** Increased serum level of vascular endothelial growth factor in pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162(3):1120–1122

- 148. Matsuyama W, Kubota R, Hashiguchi T, et al:** Purified protein derivative of tuberculin upregulates the expression of vascular endothelial growth factor in T lymphocytes in vitro. *Immunology* 2002;106:96–101
- 149. Abe Y, Nakamura M, Oshika Y, et al:** Serum levels of vascular endothelial growth factor and cavity formation in active pulmonary tuberculosis. *Respiration*. 2001;68(5):496–500.
- 150. Tabone MD, Landman-Parker J, Acril B, et al:** Are basic fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor prognostic indicators in pediatric patients with malignant solid tumors? *Clin Cancer Res* 2001;(7):538-543
- 151. Abdulrauf SI, Edvardsen K, Ho KL, et al:** Vascular endothelial growth factor expression and vascular density as prognostic markers of survival in patients with low-grade astrocytoma. *J Neurosurg* 88:513-520
- 152. Toi M, Hoshina S, Takayanagi T, et al:** Association of vascular endothelial growth factor expression with tumor angiogenesis and with early relapse in primary breast cancer. *Jpn J Cancer Res* 1994; 85:1045-49
- 153. Sato F, Shimada Y, Watanabe G, et al:** Expression of vascular endothelial growth factor, matrix metalloproteinase-9 and E-cadherin in the process of lymph node metastasis in oesophageal cancer. *Br J Cancer* 1999; 80:1366-1372
- 154. George ML, Eccles SA, Tutton MG, et al:** Correlation of plasma and serum vascular endothelial growth factor levels with platelet count in colorectal cancer: Clinical evidence of platelet scavenging? *Clin Cancer Res* 2000;6:3147-3152
- 155. Salven P, Orpana A, Joensuu H:** Leukocytes and platelets of patients with cancer contain high levels of vascular endothelial growth factor. *Clin Cancer Res* 1999;5:487-491
- 156. Olson TA, Mohanraj D, Carson LF, et al:** Vascular permeability factor gene expression in normal and neoplastic human ovaries. *Cancer Res* 1994;54:276-280

- 157. Bradshaw M, Mansfield A, Peikert T.** The role of vascular endothelial growth factor in the pathogenesis, diagnosis and treatment of malignant pleural effusion. *Curr Oncol Rep* 2013;15(3):207-216
- 158. Cheng D, Lee YC, Rogers JT, et al.** Vascular endothelial growth factor level correlates with transforming growth factor-beta isoform levels in pleural effusions. *Chest.* 2000;118(6):1747–1753.
- 159. Cheng D, Rodriguez RM, Perkett EA, et al:** Vascular endothelial growth factor in pleural fluid. *Chest* 1999; 116(3):760–765.
- 160. Yanagawa H, Takeuchi E, Suzuki Y, et al:** Vascular endothelial growth factor in malignant pleural effusion associated with lung cancer. *Cancer Immunol Immunother.* 1999; 48(7):396–400.
- 161. Hamed EA, El-Noweihi AM, Mohamed AZ:** Vasoactive mediators (VEGF and TNF-alpha) in patients with malignant and tuberculous pleural effusions. *Respirology.* 2004; 9(1):81–86.
- 162. Lim SC, Jung SI, Kim YC:** Vascular endothelial growth factor in malignant and tuberculous pleural effusions. *J Korean Med Sci.* 2000;15(3):279–283
- 163. Kaya A, Poytaz B, Celik G:** Vascular endothelial growth factor in benign and malignant pleural effusions. *Arch Bronconeumol* 2005;41(7):376-9
- 164. Momi H, Matsuyama W, Inoue K, et al:** Vascular endothelial growth factor and proinflammatory cytokines in pleural effusions. *Respir Med.* 2002;96(10):817–822.
- 165. Ishimoto O, Saijo Y, Narumi K, et al:** High level of vascular endothelial growth factor in hemorrhagic pleural effusion of cancer. *Oncology.* 2002; 63(1):70–75.
- 166. Sack U, Hoffmann M, Zhao XJ, et al:** Vascular endothelial growth factor in pleural effusions of different origin. *Eur Respir J.* 2005;25(4):600–604.

- 167. Kraft A, Weindel K, Ochs A, et al:** Vascular endothelial growth factor in the sera and effusions of patients with malignant and nonmalignant disease. *Cancer* 1999;85(1):178–187.
- 168. Mohammed KA, Nasreen N, Hardwick J, et al:** Bacterial induction of pleural mesothelial monolayer barrier dysfunction. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.*2001; 281(1):L119–25
- 169. Kiropoulos T, Kostikas K, Gourgoulianis K.I:** Vascular endothelial growth factor levels in pleural fluid and serum of patients with tuberculous pleural effusions. *Chest* 2005;128(1):468
- 170. Aleman C, Sanchez L, Alegre J, et al:** Differentiating between malignant and idiopathic pleural effusions: the value of diagnostic procedures. *Q J Med* 2006;100:351-359
- 171. Croghan GA, Nichols F, Cassivi S, et al:** VEGF A, C, and D levels in malignant pleural effusions. *J Clin Oncol* 2008;26(15S)
- 172. Fiorelli A, Vicidomini G, Di Domenico M, et al:** Vascular endothelial growth factor in pleural fluid for differential diagnosis of benign and malignant origin and its clinical applications. *Interact Cardiovasc Surg* 2011;12(3):420-430
- 173. Lieser E, Bradshaw M, Croghan G et al:** Proangiogenesis factors and cell phenotyping in the etiology and diagnosis of malignant pleural effusions. *J Thorac Oncol* 2011;6(6):S750-751
- 174. Yanagawa H, Takeuchi E, Suzuki Y, et al:** Vascular endothelial growth factor in malignant pleural effusion associated with lung cancer. *Cancer Immunol Immunother* 1999;48(7):396-400
- 175. Zebrowski BK, Liu W, Ramirez K, et al:** Markedly elevated levels of vascular endothelial growth factor in malignant ascites. *Ann Surg Oncol* 1999;6(4):373-8

- 176. Zebrowski BK, Yano S, Liu W, et al:** Vascular endothelial growth factor levels and induction of permeability in malignant pleural effusions. *Clin Cancer Res* 1999;5(11):3364-8
- 177. Prager GW, Lackner EM, Krauth MT, et al:** Targeting of VEGF-dependent transendothelial migration of cancer cells by bevacizumab. *Mol Oncol* 2010;4(2):150-160
- 178. A1-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, et al:** Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(7):3983-3989
- 179. Cui R, Takahashi F, Ohashi R, et al:** Osteopontin is involved in the formation of malignant pleural effusion in lung cancer. *Lung Cancer* 2009;63(3):368-74
- 180. Stathopoulos GT, Psallidas I, Moustaki A, et al:** A central role for tumor-derived monocyte chemoattractant protein-1 in malignant pleural effusion. *J Natl Cancer Inst.* 2008;100(20):1464-76
- 181. Stathopoulos GT, Sherrill TP, Karabela SP, et al:** Host-derived interleukin-5 promotes adenocarcinoma-induced malignant pleural effusion. *Am J Respir Crit Care Med.*2010;182(10):1273-81
- 182. Stathopoulos GT, Kollintza A, Moschos C, et al:** Tumor necrosis factor-alpha promotes malignant pleural effusion. *Cancer Res* 2007;67(20):9825-9829
- 183. Stathopoulos GT, Kalomenidis I, et al:** Malignant pleural effusion; tumor-host interactions unleashed. *Am J Respir Crit Care Med* 2012;186(6):487-92
- 184. Caine GJ, Lip GY, Blann AD:** Platelet-derived VEGF, Flt-1, angiopoietin-1 and P-selectin in breast and prostate cancer: further evidence for a role of platelets in tumour angiogenesis. *Ann Med* 2004;36(4):273-7
- 185. Gerber HP, Kowalski J, Sherman D, et al:** Complete inhibition of rhabdomyosarcoma xenograft growth and neovascularization requires blockade of

both tumor and host vascular endothelial growth factor. *Cancer Res* 2000;60(22):6253-8

186. Fukumura D, Xavier R, Sugiura T, et al: Tumor induction of VEGF promoter activity in stromal cells. *Cell* 1998;94(6):715-25

187. Tsuzuki Y, Fukumura D, Oosthuysen B, et al: Vascular endothelial growth factor (VEGF) modulation by targeting hypoxia-inducible factor-1alpha. *Cancer Res* 2000;60(22):6248-52

188. Kishimoto J, Ehama R, Ge Y, Kobayashi T, et al: In vivo detection of human vascular endothelial growth factor promoter activity in transgenic mouse skin. *Am J Pathol* 2000;157(1):103-110

189. Gary Lee YC, Melkerneker D, Thompson PJ, et al: Transforming growth factor beta induces vascular endothelial growth factor elaboration from pleural mesothelial cells in vivo and in vitro. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165(1):88-94

190. Edge SB: The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual. *Ann Surg Oncol* 2010;17:1471-4

191. Domej W, Tilz GP, Foldes-Papp Z, et al: Cystatin C of pleural effusion as a novel diagnostic aid in pleural diseases of different aetiologies. *Clin Sci (Lond)*.2002;102(3):373-80

192. Matveychuk A, Rashid G, Fridman Z, et al: Pleural ELFA D-dimer assay: a surrogate marker for malignant pleural effusion. *Thromb Res* 2012;129(5):648-652

193. Pernemalm M, De Petris L, Eriksson H, et al: Use of narrow-range peptide IEF to improve detection of lung adenocarcinoma markers in plasma and pleural effusion. *Proteomics*.2009;9(13):3414-24

194. Shijubo N, Honda Y, Fujishima T, et al: Lung surfactant protein-A and carcinoembryonic antigen in pleural effusions due to lung adenocarcinoma and malignant mesothelioma. *Eur Respir J*. 1995;8(3):403-6

- 195. Bard MP, Hegmans JP, Hemmes A, et al:** Proteomic analysis of exosomes isolated from human malignant pleural effusions. *Am J Respir Cell Mol Bio* 2004;31(1):114-21
- 196. Hsieh WY, Chen MW, Ho HT, et al:** Identification of differentially expressed proteins in human malignant pleural effusions. *Eur Respir J*.2006;28(6):1178-85
- 197. Rodriguez-Pineiro AM, Blanco-Prieto S, Sanchez-Otero N, et al:** On the identification of biomarkers for non-small lung cancer in serum and pleural effusion. *J Proteomics*.2010;73(8):1511-22
- 198. Botana-Rial M, Casado-Ray P, Leiro-Fernandez V, et al:** Validity of procalcitonin and C-reactive protein measurement when differentiating between benign and malignant pleural effusion. *Clin Lab*.2011;57(5-6):373-8
- 199. Shen YC, Liu MQ, Wan C, et al:** Diagnostic accuracy of vascular endothelial growth factor for malignant pleural effusion: A meta-analysis. *Exp Ther Med* 2012;3(6):1072-6
- 200. Tammela T, Enholm B, Alitalo K:** The biology of vascular endothelial growth factors. *Cardiovascular Research* 2005;(65):550-563
- 201. Hoeben et al:** Vacular Endothelial Growth Factor and Angiogenesis. *Pharmacological Reviews* 2004;(56):550-575
- 202. Yano S, Shinohara H, Herbst, et al:** Formation of pleural effusion by human lung adenocarcinoma directly correlates with expression of VEGF/VPF. *Pros Assoc Cancer Res* 1999;40:227-231
- 203. Fathy M, Ansary MA, Zakaria M:** Role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in diagnosis of pleural effusion of different origins. *Egyptian Journal of Chest Disease and Tuberculosis* 2014(63),611-615
- 204. Danii ZD, Zintzaras E, Kiropoulos T, et al:** Discrimination of exudative pleural effusion based on multiple biological parameters. *ERJ* 2007;30:957-964

- 205. Maskell NA, Butland RJA:** BTS guidelines for the investigation of a unilateral pleural effusion in adults. *Thorax* 2003;58:8-17
- 206. Lee P, Colt HG:** Pleuroscopy in 2013. *Clin Chest Med* 2013;34(1):81-91
- 207. El Solh AA, Toufic A, Pineda L, et al:** A longitudinal Study of Idiopathic Exudative Lymphocytic Pleural Effusion in Older People. *JAGS* 2005;53:1957-1960
- 208. Venekamp LN, Velkeniers B, Noppen M:** Does 'Idiopathic Pleuritis' Exist? Natural History of Non-Specific Pleuritis diagnosed after thoracoscopy. *Respiration* 2005;72:74-78

4. ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο VEGF, επίσης γνωστός και ως παράγοντας αγγειακής διαπερατότητας, αποτελεί μια κυτταροκίνη η οποία αναγνωρίζεται ως ισχυρός μεσολαβητής της αγγειογένεσης, ασκώντας μια σειρά από λειτουργίες στο αγγειακό ενδοθήλιο, οι οποίες περιλαμβάνουν την επιβίωση, τον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και τη νεοαγγειογένεση. Ο VEGF όχι μόνο διαθέτει πιθανή αγγειοδιασταλτική δυνατότητα, αλλά επίσης και την ικανότητα να αυξήσει την αγγειακή και τη μεσοθηλιακή διαπερατότητα. Αυξημένη διαπερατότητα ως αποτέλεσμα διέγερσης του VEGF προκαλείται με διάφορους μηχανισμούς οι οποίοι περιλαμβάνουν τη διεύρυνση των θυρίδων των ενδοθηλιακών κυττάρων, την απώλεια της συνδετικής ακεραιότητας των κυττάρων και το σχηματισμό διακυτταρικών δεσμών.

Ο VEGF εκφράζεται από πολλά είδη καρκινικών κυττάρων όπως του παγκρέατος, του στομάχου, του παχέος εντέρου, όπως επίσης του πνεύμονα, του μαστού, του προστάτη καθώς και του μελανώματος. Εκφράζεται επίσης και από κύτταρα φυσιολογικών ιστών, όπως του πνεύμονα, των νεφρών, των επινεφριδίων, της καρδιάς, του ήπατος και του στομάχου αλλά και από τα μακροφάγα του περιτοναίου.

Οι υπεζωκοτικές συλλογές μπορούν να εμφανιστούν ως επιπλοκή πολλών διαφορετικών παθήσεων. Η διάγνωση των υπεζωκοτικών συλλογών αποτελεί ένα δύσκολο πρόβλημα στην καθημερινή κλινική πράξη. Οι συμβατικές μέθοδοι δεν είναι πάντα ικανές να καθορίσουν την αιτία των υπεζωκοτικών συλλογών. Η κακοήθεια και οι παραπνευμονικές συλλογές είναι οι κυρίαρχες αιτίες των εξιδρωματικών υπεζωκοτικών συλλογών. Παρόλαυτα, η διάγνωση της φυματιώδους πλευρίτιδας θα έπρεπε επίσης να ληφθεί υπόψη σε κάθε ασθενή με εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή. Μια ποικιλία βιοδεικτών έχουν κατά καιρούς προταθεί να διευκολύνουν στη διαφορική διάγνωση μιας υπεζωκοτικής συλλογής. Ο ρόλος του VEGF στο σχηματισμό κακοήθων υπεζωκοτικών συλλογών βρίσκεται υπό έρευνα. Υψηλά επίπεδα VEGF έχουν παρατηρηθεί σε υπεζωκοτικές συλλογές τόσο καλόηθους όσο και κακοήθους αιτιολογίας, αλλά υψηλότερα επίπεδα VEGF έχουν παρατηρηθεί κυρίως σε συλλογές κακοήθους προέλευσης.

Στόχος της παρούσας διατριβής ήταν ο υπολογισμός των επιπέδων του αγγειακού ενδοθηλιακού παράγοντα VEGF στο πλευριτικό υγρό και τον ορό ασθενών με λεμφοκυτταρικές υπεζωκοτικές συλλογές, οι οποίες θεωρήθηκαν άγνωστης προέλευσης μετά την πρώτη διαγνωστική προσέγγιση του ασθενή και η σύγκριση των τιμών που προέκυψαν με την τελική έκβαση των ασθενών. Σκοπός ήταν να αποδειχτεί η ικανότητα του VEGF να ανιχνεύσει μια υποκρύπτουσα κακοήθεια και ως εκ τούτου να εντοπίσει εκείνους τους ασθενείς με υψηλά επίπεδα VEGF στο πλευριτικό υγρό οι οποίοι θα επωφελούνταν από μια περισσότερο επεμβατική διαγνωστική διαδικασία, όπως η VATS.

Στη μελέτη συμμετείχαν 71 ασθενείς με εξιδρωματικές λεμφοκυτταρικές υπεζωκοτικές συλλογές. Η παρούσα λοιπόν διατριβή απέδειξε ότι ανάμεσα σε αυτή την ομάδα ασθενών οι οποίοι εμφάνιζαν αδιάγνωστες υπεζωκοτικές συλλογές κατά την πρώτη διαγνωστική προσέγγιση όσοι εμφάνιζαν υψηλές τιμές VEGF ανέπτυξαν κατά τη διάρκεια της μελέτης κάποιας μορφής κακοήθειας· σε αντίθεση με την ομάδα των ασθενών οι οποίοι κατά την πρώτη διαγνωστική παρακέντηση εμφάνιζαν χαμηλές τιμές VEGF και στη διάρκεια της δίχρονης μελέτης είχαν καλοήγη έκβαση. Δηλαδή ανέπτυξαν κάποιας μορφής καλοήθους πάθησης στην οποία αποδόθηκε η υπεζωκοτική συλλογή ή η υπεζωκοτική συλλογή απέδραμε και οι ασθενείς δεν ανέπτυξαν κάποιου είδους πάθησης.

Δεύτερον, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά των τιμών του VEGF του πλευριτικού υγρού ανάμεσα στους ασθενείς που στη διάρκεια της μελέτης ανέπτυξαν καρκίνο του πνεύμονα, σε αυτούς που ανέπτυξαν μεσοθηλίωμα ή άλλης μορφής κακοήθειας. Δηλαδή, η διακριτική ικανότητα του VEGF ανάμεσα στις διάφορες μορφές κακοήθειας δεν ήταν στατιστικά αξιόλογη.

Τρίτον, αποδείχτηκε ότι ανάμεσα στις άλλες μεταβλητές του πλευριτικού υγρού (πρωτεΐνες, LDH, γλυκόζη) που συγκρίθηκαν με την τελική έκβαση των ασθενών μόνο ο VEGF σχετιζόταν ισχυρά με την ύπαρξη κακοήθειας.

Τέλος, όσον αφορά τον ορό των ασθενών δεν αποδείχτηκε στατιστικά σημαντική διαφορά των τιμών του VEGF ανάμεσα στις δύο ομάδες των ασθενών, γεγονός που αποδεικνύει μια σημαντική τοπική απελευθέρωση της κυτταροκίνης αυτής μέσα στην υπεζωκοτική κοιλότητα.

Κατά την πρώτη διαγνωστική παρακέντηση των ασθενών – οπότε και έγινε η συλλογή του υγρού στο οποίο μετρήθηκε ο VEGF – δεν ήταν δυνατή η πρόβλεψη της τελικής έκβασης των ασθενών. Με την ολοκλήρωση λοιπόν της μελέτης και τη σύγκριση της τελικής πορείας με τις αρχικές τιμές του VEGF φαίνεται ξεκάθαρα ο ρόλος του VEGF στην ανίχνευση ασθενών οι οποίοι έχουν μια υποκρύπτουσα κακοήθεια. Με τη μελέτη μας επιβεβαιώνεται ότι ο VEGF έχει ισχυρές αγγειογενετικές, μιτογόνες ιδιότητες, ενώ παίζει ίσως τον πιο σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό υπεζωκοτικών συλλογών μη φλεγμονώδους αιτιολογίας που οφείλονται σε αυξημένη διαπερατότητα των μεμβρανών του υπεζωκότα.

4. ΑΓΓΛΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Vascular endothelial growth factor (VEGF), also known as vascular permeability factor, is a glycoprotein, which possesses critical function in angiogenesis, exerting a number of effects on the vascular endothelium including survival, proliferation, differentiation, sprouting and tube formation. VEGF not only possesses potent vasodilatory effects, but also the ability to increase vascular and mesothelial permeability. Increased permeability as a result of VEGF stimulation is mediated by several mechanisms including induction of endothelial fenestrations, loss of junctional integrity and the formation of transcellular gaps. Many cancers have been shown to over-express VEGF, a finding associated with a poor prognosis in at least pancreatic, gastric, and colonic carcinomas, as well as in lung, breast, and prostate cancers and melanoma.

VEGF is also expressed by the cells of normal tissues, such as the lung, kidney, adrenal gland, heart, liver and stomach, as well as in macrophages of the peritoneum.

Pleural effusion can occur as a complication of many different diseases. The diagnosis of pleural effusions remains a controversial issue. Conventional methods are not always capable of establishing the cause of pleural effusion. Malignant disease involving the pleura and parapneumonic effusion are the leading causes of exudative pleural effusions. However, the diagnosis of tuberculous pleuritis should also be considered in any patient with an exudative pleural effusion. The role of VEGF in MPE formation is under investigation, with current data strongly implicating VEGF as a critical cytokine in MPE pathogenesis. Elevated levels of VEGF have been observed in pleural effusions due to both malignant and benign processes, but higher levels of VEGF are consistently found in pleural effusions of malignant origin.

The aim of this study was to estimate the levels of VEGF in pleural fluid and serum of patients with lymphocytic pleural effusions, which were of unknown origin after the first diagnostic approach of the patient and the comparison of the values obtained with the final outcome of patients. The purpose was to demonstrate the ability of VEGF to detect malignancy and therefore to identify those patients with high VEGF

levels in pleural fluid who would benefit from a more invasive diagnostic procedure, such as VATS.

71 patients with exudative lymphocytic pleural effusions participated in the study. Therefore, the present study proved that among this group of patients presenting with undiagnosed pleural effusions in the first diagnostic approach those who had high VEGF values developed during the study some form of malignancy in contrast to the group of patients -during the first diagnostic approach- had low values and VEGF during the two-years study had benign outcome.

Secondly, no statistically significant difference was observed in VEGF values in the pleural fluid among patients who developed lung cancer during the study, mesothelioma or other malignancy. Meaning that the levels of VEGF between the various forms of malignancy were not statistically significant.

It was also proved that among other variables of pleural fluid (protein, LDH, glucose) which were compared with the outcome of patients, VEGF was the only biomarker strongly related with the presence of malignancy.

Finally, the serum of patients demonstrated a non-statistically significant difference of VEGF values among the two groups of patients, demonstrating a significant local release of this cytokine in the pleural cavity.

During the first diagnostic thoracentesis of patients – when the first collection of the fluid was demonstrated- there was no possible way to predict the final outcome of the patients. At the end of the study, and therefore the comparison of the final track in the initial values of VEGF clearly shown the role of VEGF in the detection of patients having a malignancy masks. To our knowledge this is the first study to demonstrate the usefulness of VEGF as a biomarker that detects the presence of malignancy in patients presenting with a lymphocytic collection of indeterminate origin.