



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΠΝΕΥΜΟΝΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθυντής: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Ι ΓΟΥΡΓΟΥΛΙΑΝΗΣ

Διδακτορική Διατριβή

**"ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑΣ ΤΗΣ ΙΔΙΟΠΑΘΟΥΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗΣ ΙΝΩΣΗΣ:
ΤΟ ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΤΗΣ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗΣ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΛΕΠΤΙΝΗΣ"**

ΦΩΤΕΙΝΗ ΜΑΛΛΗ

Ειδικευόμενη Πνευμονολογίας και Φυματιολογίας 2013

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των
απαιτήσεων για την απόκτηση του
Διδακτορικού Διπλώματος
Λάρισα, 2013



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΠΝΕΥΜΟΝΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθυντής: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Ι ΓΟΥΡΓΟΥΛΙΑΝΗΣ

Διδακτορική Διατριβή

**"ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑΣ ΤΗΣ ΙΔΙΟΠΑΘΟΥΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗΣ ΙΝΩΣΗΣ:
ΤΟ ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΤΗΣ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗΣ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΛΕΠΤΙΝΗΣ"**

ΦΩΤΕΙΝΗ ΜΑΛΛΗ

Ειδικευόμενη Πνευμονολογίας και Φυματιολογίας 2013

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των
απαιτήσεων για την απόκτηση του
Διδακτορικού Διπλώματος
Λάρισα, 2013

© 2009 Φωτεινή Μάλλη

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Ιατρικό Τμήμα του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα (Νόμος 5343, άρθρο 202, παράγραφος 2)

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

- 1^{ος} Εξεταστής**
(Επιβλέπουσα) Δρ. Ζωή **Δανιήλ**
*Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Πνευμονολογίας, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*
- 2^{ος} Εξεταστής** Δρ. Κωνσταντίνος Ι. **Γουργουλιάνης**
*Καθηγητής Πνευμονολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας*
- 3^{ος} Εξεταστής** Δρ. Γεώργιος **Βασιλόπουλος**
*Αναπληρωτής Καθηγητής Αιματολογίας, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*
- 4^{ος} Εξεταστής** Δρ. Αναστάσιος **Γερμενής**
*Καθηγητής Εργαστηριακής Ανοσολογίας, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*
- 5^{ος} Εξεταστής** Δρ. Πασχάλης-Αδάμ **Μολυβδάς**
*Καθηγητής Φυσιολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας*
- 6^{ος} Εξεταστής** Δρ. Επαμεινώνδας **Ζακυνθινός**
*Αναπληρωτής Καθηγητής Εντατικής Θεραπείας, Τμήμα
Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*
- 7^{ος} Εξεταστής** Δρ. Ευφροσύνη **Παρασκευά**
*Επίκουρη Καθηγήτρια Φυσιολογίας, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*

*Η παρούσα διατριβή πραγματοποιήθηκε με την υποστήριξη της
Ελληνικής Πνευμονολογικής Εταιρείας*

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή αποτελεί προϊόν ουσιαστικής και πολύτιμης συνεργασίας με αξιόλογους επιστήμονες στους οποίους θα ήθελα να εκφράσω τη βαθιά μου ευγνωμοσύνη. Κατ'αρχήν, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κ. Ζωή Δανιήλ για την αμέριστη υποστήριξη που μου παρείχε, τις πολύτιμες συμβουλές και την ουσιαστική καθοδήγησή της κατά τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας μελέτης. Θα ήθελα επίσης να της εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου γιατί μου δίδαξε την «τέχνη» της έρευνας και αποτέλεσε σημαντικό συμπαράστατη και αρωγό καθ'όλη τη διάρκεια της συνεργασίας μας.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να αναφερθώ στον Καθηγητή κ. Κωνσταντίνο Γουργουλιάνη και να τον ευχαριστήσω για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε και για την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με την έρευνα. Επίσης θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για την πολύτιμη καθοδήγησή του και γιατί μου δίδαξε τη σημαντικότητα του ήθους, της ευγένειας και του ομαδικού πνεύματος στο χώρο της εργασίας.

Παράλληλα, ευχαριστώ τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Γεώργιο Βασιλόπουλο για τις σημαντικές παρατηρήσεις του από το σχεδιασμό μέχρι την ολοκλήρωση της παρούσας διατριβής. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω θερμά τον Καθηγητή κ. Πασχάλη-Αδάμ Μολυβδά για την εκ μέρους του αποδοχή μου στο Εργαστήριο Φυσιολογίας και την Επίκουρη Καθηγήτρια κ. Ευφροσύνη Παρασκευά για τις πολύτιμες συμβουλές της στις εργαστηριακές τεχνικές.

Θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κ. Παναγιώτη Γεωργούλια και την κ. Ειρήνη Τσιλιώνη για την εργαστηριακή τους συμβολή στη διεξαγωγή της παρούσας μελέτης. Επίσης, ευχαριστώ ειλικρινά τις συναδέλφους κ. Φωτεινή

Μπαρδάκα και κ. Αγγέλα Κουτσοκέρα για τη συνεργασία μας και τη συμβολή τους στην εκπόνηση της παρούσας διατριβής.

Ακόμα, θα ήθελα να απευθύνω ένα ευχαριστώ στους ασθενείς και υγιείς εθελοντές που συμμετείχαν στα πειράματα της παρούσης διατριβής για την ευγενική διάθεση του χρόνου τους.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τη μητέρα μου Μαργαρίτα, την αδελφή μου Εργίνα και το σύζυγό της Άγγελο, όχι μόνο για τις πολύτιμες συμβουλές τους αλλά και για την υπομονή και κατανόησή τους.

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Όνοματεπώνυμο: **Μάλλη Φωτεινή**

Παρούσα Διεύθυνση: **Κολοκοτρώνη 46, Τ.Κ. 41223, Λάρισα**

Αριθμός τηλεφώνου: **2410233358/6936973283**

e-mail: **mallifoteini@yahoo.gr**

Ημερομηνία γέννησης: **15/10/1982**

Τόπος Γεννήσεως: **Αθήνα**

Υπηκοότητα: **Ελληνική**

ΣΠΟΥΔΕΣ

2000-2006: **Φοίτηση στο Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων**

2006: **Πτυχίο Ιατρικής (Βαθμός αποφοίτησης: Λίαν Καλώς)**

2008-Σήμερα: **Υποψήφια διδάκτορας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας**

ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ-ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ

2005: **Αριστείο Προόδου** από το Εργαστήριο Παθολογικής Ανατομικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

2008: **Υποτροφία** της Ελληνικής Πνευμονολογικής Εταιρείας για την εργασία με τίτλο: «The possible role of circulating endothelial progenitor cells and leptin in vascular remodeling associated with idiopathic pulmonary fibrosis»

2009: **Έπαινος** Καλύτερης Ανακοίνωσης στο 18^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος της ομάδας εργασίας « Διάχυτες Διάμεσες Πνευμονοπάθειες» για την εργασία με θέμα : «Συσχέτιση γενετικών πολυμορφισμών στα γονίδια MyD88 και TLR9 με την ανάπτυξη σαρκοείδωσης»

2010: **Έπαινος** Καλύτερης Ανακοίνωσης στο 19^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος της ομάδας εργασίας «Διάχυτες Διάμεσες Πνευμονοπάθειες» για την εργασία με θέμα «Εκφραση των πρωτεϊνών BAAFR και TACI σε ασθενείς με σαρκοείδωση»

2010: **Υποτροφία** της Ελληνικής Πνευμονολογικής Εταιρείας για την εργασία με τίτλο: «Genetic association studies between the MyD88 adaptor pathway SNPs and the development of Sarcoidosis and Tuberculosis»

2011: Επιλογή ως **κριτής** για το περιοδικό “Journal of Asthma”

2011: **2^ο Βραβείο** Αναρτημένης Ανακοίνωσης (Βραβείο Παναγιώτη Χόρτη) για την εργασία με θέμα: «Η Clara cell secretory protein ως βιολογικός δείκτης εξέλιξης του βρογχικού άσθματος στην εφηβεία»

2011: **2^ο Βραβείο** Προφορικής Ανακοίνωσης στο 20^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακα για την εργασία με θέμα: «Συσχέτιση Γενετικών Πολυμορφισμών στο Γονίδιο MyD88 με την ανάπτυξη Φυματίωσης»

2012: Επιλογή ως **κριτής** για το περιοδικό “Plos One”

ΕΡΓΑΣΙΑ

12/2007-12/2011: Επιστημονικός Συνεργάτης της Πνευμονολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Νοσοκομείου Λάρισας (Ιατρός Ερευνητής του έργου «ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΕΡΓΟ ΣΤΗΝ ΠΝΕΥΜΟΝΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΤΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ») (επιστημονικός υπεύθυνος ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΓΟΥΡΓΟΥΛΙΑΝΗΣ).

02-12-2011 ως 26-10-2011: Ιατρός Υπηρεσίας Υπαίθρου στο Κέντρο Υγείας Φαρσάλων (Περιφερειακό Ιατρείο Αγ. Γεωργίου)

27-10-2011 ως σήμερα: Ειδικευόμενη ιατρός στην Πνευμονολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας

ΛΟΙΠΕΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΕΣ

2007 ως σήμερα: Συμμετοχή σε πρόγραμμα έγκαιρης διάγνωσης και αποκατάστασης της Χρόνιας Αποφρακτικής Πνευμονοπάθειας σε κατοίκους της υπαίθρου της περιφέρειας Θεσσαλίας

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΤΑΙΡΕΙΕΣ

2009 ως σήμερα: Μέλος της **Ελληνικής Πνευμονολογικής Εταιρείας**

2009 ως σήμερα: Μέλος της **Ευρωπαϊκής Πνευμονολογικής Εταιρείας** (European Respiratory Society)

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

Αγγλικά: Cambridge Lower

Ιταλικά: Diploma B2, Istituto Italiano (Salonica)

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

2007: **16^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος:** «Αναδρομική μελέτη των κλινικών και εργαστηριακών χαρακτηριστικών ασθενών με Πνευμονική Εμβολή: Συσχέτιση με την έκβαση της νόσου» Α. Ι. Παπαϊωάννου, Ζ. Δανιήλ, **Φ. Μάλλη**, Μ. Μπακαρόζη, Μ. Μόκα, Κ.Ι. Γουργουλιάνης

2008: **17^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος.** «Αυξημένη συχνότητα θυρεοειδικής νόσου και θυρεοειδικής αυτοανοσίας σε ασθενείς με σαρκοείδωση στην περιοχή της Θεσσαλίας» **Φ. Μάλλη**, Α. Μπαργιώτα, Α.Ε. Γερμενής, Α. Κουτσοκέρα, Α.Ι. Παπαϊωάννου, Ε. Ζακυνθινός, Κ.Ι. Γουργουλιάνης, Ζ. Δανιήλ.

2008: **17^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος.** «Επιδιόρθωση της υποξίας στην έκφραση των HMSH2 & HMLH1 επιδιορθωτικών γονιδίων του DNA στο μη-μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα» Δ. Βαγγέλη, Ζ. Δανιήλ, Τ. Τίλογλου, Κ. Κουμηνής, J. Dahabreh, J.K.Filed, Ε. Καραγιάννη, **Φ. Μάλλη**, Γ.Κ. Κουκούλης, Κ.Ι. Γουργουλιάνης

2008: **17^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος.** «MRNA-φαινοτυπική έκφραση των HMSH2 & HMLH1 επιδιορθωτικών γονιδίων του DNA στο μη-μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα» Δ. Βαγγέλη, Ζ. Δανιήλ, J. Dahabreh, Ε. Καραγιάννη, **Φ. Μάλλη**, Γ.Κ. Κουκούλης, Κ.Ι. Γουργουλιάνης,

2008: **17^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος.** «Παράγοντες Πρόγνωσης της επιβίωσης ασθενών με πνευμονική εμβολή» Α. Παπαϊωάννου, Η. Ζινζαράς, **Φ. Μάλλη**, Μ. Μπακαρόζη, Μ. Μόκα, Ε. Ζακυνθινός, Κ.Ι. Γουργουλιάνης, Ζ. Δανιήλ.

2008: **17^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος.** «Κυκλοφορούντα πρόδρομα ενδοθηλιακά κύτταρα σε ασθενείς με ιδιοπαθή πνευμονική ίνωση» Α. Κουτσοκέρα, Ε. Παρασκευά, **Φ. Μάλλη**, Ε. Ζακυνθινός, Μ. Νταλαπάσχα, Α. Παπαϊωάννου, Π.Α. Μολυβδάς, Κ.Ι. Γουργουλιάνης, Ζ. Δανιήλ.

2008: **European respiratory society annual congress 2008, Berlin, Germany.** “Circulating endothelial progenitor cells in patients with idiopathic pulmonary fibrosis (preliminary results)” Α. Koutsokera, Μ. Ntalapascha, Ε. Zakyntinos, **F. Malli**, Α. Ι. Papaioannou, Κ. Gourgoulisanis, Ζ. Daniil.

2008: **European respiratory society annual congress 2008, Berlin, Germany.** “Exhaled nitric oxide in patients with idiopathic pulmonary fibrosis and pulmonary hypertension” Α. Koutsokera, **F. Malli**, Ε. Zakyntinos, Μ. Ntalapascha, Κ. Kostikas, Κ. Gourgoulisanis, Ζ. Daniil.

2009: **18^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος.** «Συσχέτιση Γενετικών πολυμορφισμών στα γονίδια MyD88 και TLR9 με την ανάπτυξη σαρκοειδωσης » Ζ. Δανιήλ, Β. Μολλάκη, **Φ. Μάλλη**, Α. Κουτσοκέρα, Κ.Ι. Γουργουλιάνης, Γ.Ι. Βασιλόπουλος

2009: **European respiratory society annual congress 2009, Vienna, Austria.** “Genetic association studies between the MyD88 adaptor pathway SNPs and the development of sarcoidosis” Ζ. Daniil, V. Mollaki, **F. Malli**, Α. Koutsokera, Κ.Ι. Gourgoulis, G. Vassilopoulos.

2009: **European respiratory society annual congress 2009, Vienna, Austria.** “Prevalence of thyroid disease and thyroid autoimmunity in sarcoidosis” **F. Malli**, Α. Bargiota, Ι. Plisiotis, Ε. Zakynthinos, Α.Ε. Germenis, Κ.Ι. Gourgoulis, Ζ.Δ. Daniil.

2009: **European respiratory society annual congress 2009, Vienna, Austria.** “Quantiferon-TB gold in tube method in sarcoidosis patients” Ι. Gerogianni, Μ. Papala, **F. Malli**, Ε. Petinaki, Κ. Gourgoulis, Ζ. Daniil.

2010: **19^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος.** « Επίπεδα 8-ισοπροστανίου και FeNO σε ασθενείς με ιδιοπαθή πνευμονική ίνωση και σαρκοειδωση» **Φ. Μάλλη**, Α. Κουτσοκέρα, Ε. Τσιλιώνη, Κ. Κωστίκας, Κ.Ι. Γουργουλιάνης, Ζ. Δανιήλ

2010: **19^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος.** «Συνδυασμός Πνευμονικής Ίνωσης και Εμφυσήματος: Αναφορά από την πανελλήνια ομάδα Διαμέσων Νοσημάτων» Ζ. Δανιήλ, **Φ. Μάλλη**, Μ. Δημάδη, Κ. Αντωνίου, Α. Τζουβελέκης, Φ. Δρακοπαναγιωτάκης, Φ. Κοκκίνης, Γ. Μαργαριτόπουλος, Κ. Μανίκα, Δ. Μπούρος, Δ. Παπακώστα

2010: **19^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος.** «Βιοδείκτες (Biomarkers) σε ασθενείς με κακοήγη υπεζωκοτική συλλογή (προκαταρκτικά αποτελέσματα)» **Φ. Μάλλη**, Φ. Κοτρογιάννη, Ε. Θεοφάνους, Ε. Τσιλιώνη, Σ. Οικονομίδη, Θ. Κυρόπουλος, Θ. Κερενίδη, Κ.Ι. Γουργουλιάνης,

2010: **19^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος.** «Η έκφραση των πρωτεϊνών TACI και BAFF-R σε ασθενείς με σαρκοειδωση» Φ. Μπαρδάκα, Ζ. Δανιήλ, Κ. Αντωνίου, Α. Μαμάρα, Κ. Λιαδάκη, **Φ. Μάλλη**, Ε. Βασσάλου, Κ.Ι. Γουργουλιάνης, Μ. Σπελέτας

2010: **European respiratory society annual congress 2010, Barcelona, Spain.** “TACI and BAFF-R expression in sarcoidosis” F. Bardaka, Ζ. Daniil, Α. Mamara, Κ. Liadaki, **F. Malli**, Κ.Ι. Gourgoulis, Μ. Speletas

2010: **European respiratory society annual congress 2010, Barcelona, Spain.** “Combined pulmonary Fibrosis and Emphysema: a report from the Hellenic Interstitial Lung Diseases Group” Ζ. Daniil, **F. Malli**, Μ. Dimadi, Κ. Antoniou, Α. Tzouveleki, F. Drakopanagiotakis, F. Kokkinis, G. Margaritopoulos, Κ.Μανίκα, D. Bouros, D. Papakosta

2010: **European respiratory society annual congress 2010, Barcelona, Spain.** “Predicting short-term mortality in patients with pulmonary embolism: A simple model” Α. Papaioannou, Ε. Zintzaras, Ε. Zakynthinos, F. Malli, Μ. Mpakarozis, S. Moka, Κ.Ι. Gourgoulis, Ζ. Daniil

2010: **European respiratory society annual congress 2010, Barcelona, Spain.** 8-
 “Isoprostane and FeNO levels in IPF and Sarcoidosis patients (preliminary results)” **F. Malli**, A. Koutsokera, I. Tsilioni, K. Kostikas, K.I Gourgoulianis, Z. Daniil

2011: **20^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος.** «Η Clara cell secretory protein ως δείκτης εξέλιξης του βρογχικού άσθματος στην εφηβεία» **Φ.Κοτρογιάνη, Φ. Μάλλη**, Ε. Παπαδημητρίου, Ν. Καραμάνος, Κ.Ι.Γουργουλιάνης, Γ. Συρογιαννόπουλος

2011: **20^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος.** «Επίπεδα λεπτίνης και αδιπονεκτίνης σε ασθενείς με Ιδιοπαθή Πνευμονική Ίνωση» **Φ. Μάλλη**, Π. Γεωργούλιας, Β. Βαλοτάσιου, Ε. Τσιλιώνη, Δ. Μακρής, Κ.Ι. Γουργουλιάνης, Ζ. Δανιήλ

2011: **20^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος.** «Συσχέτιση γενετικών πολυμορφισμών στο γονίδιο MyD88 με την ανάπτυξη Φυματίωσης» **Φ. Μάλλη**, Ε. Γερογιάννη, Κ. Αγγέλου, Β. Μολλάκη, Φ. Μπαρδάκα, Κ.Ι. Γουργουλιάνης, Γ. Βασιλόπουλος, Ζ. Δανιήλ

2011: **20^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος.** «Ο ρόλος της λεπτίνης, της αδιπονεκτίνης και της γρελίνης στο άσθμα- στη σταθερή νόσο και την παρόξυνση» Α. Τσαρούχα, Ζ. Δανιήλ, **Φ. Μάλλη**, Π. Γεωργούλιας, Κ. Κωστίκας, Μ. Μηνάς, Α. Μπαργιώτα, Κ.Ι. Γουργουλιάνης

2011: **European respiratory society annual congress 2011, Amsterdam, Netherlands.** “Leptin and adiponectin levels in Idiopathic Pulmonary Fibrosis” **F Malli**, P. Georgoulis, V. Varvara, I Tsilioni, K. Gourgoulianis, Z. Daniil

2011: **European respiratory society annual congress 2011, Amsterdam, Netherlands.** “Detection of specific mitochondrial RNA gene mutations in asthma patients: Contribution of haplogroup U. **F Malli**, E. Zifa, K. Gourgoulianis, Z. Mamuris, Z. Daniil

2011: **European respiratory society annual congress 2011, Amsterdam, Netherlands.** Genetic association studies between the MyD88 adaptor pathway SNPs and the development of tuberculosis” **F Malli**, V. Mollaki, A. Koutsokera, I. Gerogianni,, K. Gourgoulianis, G. Vassilopoulos, Z. Daniil

2011: **European respiratory society annual congress 2011, Amsterdam, Netherlands.** “MMP-mediated regulation of EnaC channel in pleural mesothelium” Ε. Apostolidou, **F. Malli**, Ε. Paraskeva, Κ. Gourgoulianis, P.A. Molyvdas, C. Hatzoglou

2012: **Σεμινάριο με θέμα: Θεραπευτικοί Προβληματισμοί στο βρογχικό άσθμα.** “Ανίχνευση γονιδιακών μεταλλάξεων μιτοχονδριακού RNA σε ασθενείς με άσθμα”

ΟΜΙΛΙΕΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ ΚΑΤΟΠΙΝ ΠΡΟΣΚΛΗΣΗΣ

2010: Κλινικό εργαστήριο Interactive «**Παρουσίαση 6 Ενδιαφέροντων Περιστατικών**», **Στρογγυλό τραπέζι Διαμέσων Πνευμονοπαθειών**, 19^ο πανελλήνιο συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Ρόδος, Ελλάδα

2012: 38^ο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο «**Συζήτηση Κλινικών περιστατικών με Θέμα: Πνευμονολογία**»

ΜΕΤΑΦΡΑΣΤΙΚΟ ΕΡΓΟ

2009: Συμμετοχή στη Μετάφραση του Βιβλίου: «**Παθολογική χειρουργική Νοσηλευτική, Έννοιες και Πρακτική**» Susan C DeWit, Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδης

2009: Συμμετοχή στη Μετάφραση του Βιβλίου «**Γενική Ιατρική**» John Murtagh, Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδης

2010: Συμμετοχή στη Μετάφραση του Βιβλίου «**Παθήσεις του Υπεζωκότα**» Richard W. Light, Ιατρικές Εκδόσεις Κωνσταντάρας

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΕΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

1. SYSTEMIC OXIDATIVE STRESS IN PATIENTS WITH PULMONARY SARCOIDOSIS.
A. Koutsokera, A. I. Papaioannou, **F. Malli**, A. Katsabeki, T. Kiropoulos, T. Kerenidi, K. I. Gourgoulianis, Z. Daniil
Pulm Pharmacol Ther 2009: Dec 22.
Συντελεστής απήχησης: 2,283
Αναφορές: 1
2. CONCURRENT SARCOIDOSIS AND MELANOMA: COEXISTENCE MORE THAN BY CHANCE?
F. Malli, K. I. Gourgoulianis, Z. Daniil
Dermatology 2010: Jan 12.
Συντελεστής απήχησης: 2,741
Αναφορές: 5
3. THE ROLE OF LEPTIN IN THE RESPIRATORY SYSTEM: AN OVERVIEW
F. Malli, A. I. Papaioannou, K. I. Gourgoulianis, Z. Daniil
Respiratory Research 2010: Oct 31.
Συντελεστής απήχησης: 3,13
Αναφορές: 16
4. PREDICTING SHORT-TERM MORTALITY IN PATIENTS WITH PULMONARY EMBOLISM: A SIMPLE MODEL
A.I. Papaioannou, A. Kastanis, **F. Malli**, E. Zakynthinos, M. Minas, M. Mpakarozzi, S Moka, E. Zintzaras, K.I Gourgoulianis, Z. Daniil
American Journal of The Medical Sciences, 2012:Nov 26
Συντελεστής απήχησης: 1,39

5. LEPTIN, ADIPONECTIN, AND GHRELIN LEVELS IN FEMALE PATIENTS WITH ASTHMA DURING STABLE AND EXACERBATIONS PERIODS
A.Tsaroucha, Z. Daniil, **F. Malli**, P. Georgoulas, M. Minas, K. Kostikas, A. Bargiota, E. Zintzaras, K.I. Gourgoulianis
J Asthma, 2012:Dec 21
Συντελεστής απήχησης: 1,53

6. ENDOTHELIAL PROGENITOR CELLS IN THE PATHOGENESIS OF IDIOPATHIC PULMONARY FIBROSIS: AN EVOLVING CONCEPT
F. Malli, A. Koutsokera, E. Paraskeva, E. Zakynthinos, M. Papagianni, D. Makris, I. Tsilioni, P.A. Molyvdas, K. I. Gourgoulianis, Z. Daniil
Plos One, 2013: Jan 14
Συντελεστής απήχησης: 4,092

7. INCREASED PRIMARY AUTOIMMUNE THYROID DISEASES AND THYROID ANTIBODIES IN SARCOIDOSIS: EVIDENCE FOR AN UNDERRECOGNISED EXTRATHORACIC INVOLVEMENT IN SARCOIDOSIS?
F. Malli, A. Bargiota, K. Theodoridou, Z. Florou, F. Bardaka, G. N. Koukoulis, K. I. Gourgoulianis, Z. Daniil
Hormones Journal, submitted and accepted (under minor revision)
Συντελεστής απήχησης: 2,43

**"ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑΣ ΤΗΣ ΙΔΙΟΠΑΘΟΥΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗΣ ΙΝΩΣΗΣ:
ΤΟ ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΤΗΣ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗΣ ΚΑΙ Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΛΕΠΤΙΝΗΣ**

ΦΩΤΕΙΝΗ ΜΑΛΛΗ

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής 2013

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. Γεώργιος Βασιλόπουλος**, *Αναπληρωτής Καθηγητής Αιματολογίας, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας*

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση (ΠΠ) είναι μια χρόνια, προοδευτικά επιδεινούμενη, ινωτική διάμεση πνευμονία με άγνωστη αιτιολογία, που περιορίζεται στους πνεύμονες. Η νόσος έχει εξαιρετικά κακή πρόγνωση και η μέση επιβίωση των ασθενών με ΠΠ εκτιμάται σε 2 ως 5 έτη από τη διάγνωσή της. Σε μια προσπάθεια εύρεσης αποτελεσματικής θεραπείας, πολλές έρευνες τα τελευταία χρόνια έχουν επικεντρωθεί στη μελέτη της παθογένειας της ΠΠ, ωστόσο ως σήμερα ο ακριβής παθογενετικός μηχανισμός παραμένει άγνωστος. Φαίνεται ότι η παθογένεια της νόσου περιλαμβάνει διάφορους μηχανισμούς που δρουν παράλληλα με τελικό αποτέλεσμα την εναπόθεση κολλαγόνου και την καταστροφή της αρχιτεκτονικής του πνευμονικού παρεγχύματος.

Είναι γνωστό από τη βιβλιογραφία ότι διαταραχές στο μηχανισμό της αγγειογένεσης συμμετέχουν στην παθογένεια της νόσου. Μάλιστα, έχει προταθεί ότι η έναρξη της ινοποιού διαδικασίας προκύπτει όταν κάποιο άγνωστο ως σήμερα ερέθισμα προκαλεί μεταξύ άλλων και διαταραχή της ακεραιότητας του ενδοθηλίου που επαλείφει τις κυψελίδες. Σχετικά με το ρόλο της φλεγμονής στην παθογένεια της ΠΠ, αν και είχε αμφισβητηθεί στο παρελθόν, πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι η φλεγμονώδης απάντηση πιθανά έχει σημαντικό ρόλο στα αρχικά στάδια της ινοποιού διαδικασίας.

Τα κυκλοφορούντα πρόδρομα ενδοθηλιακά κύτταρα αποτελούν μια ομάδα κυττάρων του μυελού των οστών που είναι απαραίτητα για την επιδιόρθωση των βλαβών του αγγειακού δικτύου κατά την ενήλικη ζωή. Τα κύτταρα αυτά έχουν την ικανότητα να διαφοροποιούνται προς ώριμα ενδοθηλιακά κύτταρα και να εκκρίνουν παράγοντες που επάγουν την αγγειογένεση. Ουσιαστικά αποτελούν μια δεξαμενή

κυττάρων που κινητοποιούνται από το μυελό των οστών από ενδογενή και εξωγενή σήματα και συμμετέχουν στην επιδιόρθωση του ενδοθηλίου.

Η λεπτίνη είναι μια πρωτεΐνη που παράγεται κυρίως από τα λιποκύτταρα και υπό φυσιολογικές συνθήκες ανευρίσκεται στον οργανισμό σε ποσό ανάλογο της λιπώδους μάζας. Μεταξύ άλλων, η λεπτίνη είναι σημαντικός μεσολαβητής της ανοσολογικής απάντησης και έχει προφλεγμονώδη δράση. Μελέτες έχουν δείξει ότι η λεπτίνη επάγει την παραγωγή Th1 κυτταροκινών και μειώνει την παραγωγή Th2 κυτταροκινών.

Στόχος της παρούσας διδακτορικής διατριβής αποτέλεσε η αξιολόγηση της συμμετοχής της αγγειογένεσης και της φλεγμονής στην παθογένεια της ΙΙΙ με τη μέτρηση των επιπέδων των κυκλοφορούντων πρόδρομων ενδοθηλιακών κυττάρων και της λεπτίνης σε ασθενείς με ΙΙΙ.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

<u>A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</u>	σελ. 21
<u>Κεφάλαιο 1. ΙΔΙΟΠΑΘΗΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΙΝΩΣΗ</u>	σελ. 22
1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	σελ. 22
1.1.1 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ	σελ. 22
1.1.2 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ	σελ. 24
1.1.3 ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ	σελ. 24
1.1.4 ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΚΑΙ ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΣ	σελ. 26
1.1.5 ΠΙΘΑΝΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ	σελ. 26
1.1.6 ΦΥΣΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ	σελ. 27
1.1.7 ΠΡΟΓΝΩΣΗ	σελ. 28
1.1.8 ΘΕΡΑΠΕΙΑ	σελ. 29
1.2 ΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΤΥΠΟΥ ΤΗΣ ΣΥΝΗΘΟΥΣ ΔΙΑΜΕΣΗΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΑΣ (USUAL INTERSTITIAL PNEUMONIA, UIP)	σελ. 33
1.2.1 ΑΚΤΙΝΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ UIP ΠΡΟΤΥΠΟΥ	σελ. 33
1.2.2 ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ UIP ΠΡΟΤΥΠΟΥ	σελ. 36
1.3 ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΙΔΙΟΠΑΘΟΥΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗΣ ΙΝΩΣΗΣ	σελ. 39
1.4 ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΗΣ ΙΔΙΟΠΑΘΟΥΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗΣ ΙΝΩΣΗΣ	σελ. 43
1.4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	σελ. 43
1.4.2 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗΣ	σελ. 44
1.4.3 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ	σελ. 46
<u>Κεφάλαιο 2. ΠΡΟΔΡΟΜΑ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ</u>	σελ. 47
2.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	σελ. 47
2.2. ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΚΑΙ ΠΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΩΝ ΠΡΟΔΡΟΜΩΝ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ	σελ. 47
2.3. ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ ΤΩΝ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΩΝ ΠΡΟΔΡΟΜΩΝ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ	σελ. 49

2.4. ΕΞΩΓΕΝΕΙΣ ΡΥΘΜΙΣΤΕΣ ΤΩΝ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΩΝ ΠΡΟΔΡΟΜΩΝ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ	σελ. 50
2.5. ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΩΝ ΠΡΟΔΡΟΜΩΝ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ - ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΝΟΣΗΜΑΤΑ	σελ. 51
2.6. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΩΝ ΠΡΟΔΡΟΜΩΝ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΟΝ ΠΝΕΥΜΟΝΑ	σελ. 52
2.6.1. ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΥΠΕΡΤΑΣΗ	σελ.52
2.6.2. ΧΡΟΝΙΑ ΑΠΟΦΡΑΚΤΙΚΗ ΠΝΕΥΜΟΝΟΠΑΘΕΙΑ	σελ. 54
2.6.3. ΒΡΟΓΧΙΚΟ ΑΣΘΜΑ	σελ. 54
2.6.4. ΙΔΙΟΠΑΘΗΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΙΝΩΣΗ	σελ. 55
<u>Κεφάλαιο 3. ΛΕΠΤΙΝΗ</u>	σελ. 56
3.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	σελ.56
3.2 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΛΕΠΤΙΝΗΣ ΣΤΗ ΦΛΕΓΜΟΝΗ	σελ.59
3.3. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΛΕΠΤΙΝΗΣ ΣΤΗΝ ΙΝΩΣΗ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΟΡΓΑΝΩΝ	σελ
3.3.1. ΗΠΑΡ	σελ 59
3.3.2. ΝΕΦΡΟΣ	σελ. 62
3.3.3. ΙΔΙΟΠΑΘΗΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΙΝΩΣΗ	σελ. 64
<u>Κεφάλαιο 4. ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ</u>	σελ. 65
4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	σελ. 65
4.2. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ ΣΤΗ ΦΛΕΓΜΟΝΗ	σελ. 66
4.3 Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ ΣΤΗΝ ΙΝΩΣΗ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ	σελ. 67
<u>Β. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</u>	σελ. 69
1. ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΠΡΩΤΟ: ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΩΝ ΠΡΟΔΡΟΜΩΝ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΙΔΙΟΠΑΘΗ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΙΝΩΣΗ	σελ. 70
2. ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΔΕΥΤΕΡΟ: ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΛΕΠΤΙΝΗΣ ΚΑΙ ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΙΔΙΟΠΑΘΗ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΙΝΩΣΗ	σελ. 90
3. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	σελ. 114
4. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	σελ. 126

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

σελ. 134

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

1. ENDOTHELIAL PROGENITOR CELLS IN THE PATHOGENESIS OF IDIOPATHIC PULMONARY FIBROSIS: AN EVOLVING CONCEPT
Foteini Malli, Angela Koutsokera, Efrosini Paraskeva, Epaminondas Zakynthinos, Maria Papagianni, Dimosthenes Makris, Irene Tsilioni, Paschalis Adam Molyvdas, Konstantinos I Gourgoulisanis, Zoe Daniil
Plos One, 2013: Jan 14
Συντελεστής απήχησης: 4,092

2. THE ROLE OF LEPTIN IN THE RESPIRATORY SYSTEM: AN OVERVIEW
Foteini Malli, Andriana I Papaioannou, Konstantinos I Gourgoulisanis, Zoe Daniil
Respiratory Research, 2010: Oct 31.
Συντελεστής απήχησης: 3,13
Αναφορές: 16

3. Leptin and adiponectin in Idiopathic Pulmonary Fibrosis: association with hypoxia
Foteini Malli, Panagiotis Georgoulis, Varvara Valotassiou, Irene Tsilioni, Konstantinos I Gourgoulisanis, Zoe Daniil
Υπό κρίση

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΙΔΙΟΠΑΘΗΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΙΝΩΣΗ

1.1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Ιδιοπαθής Πνευμονική Ίνωση (ΙΠΙ, Idiopathic Pulmonary Fibrosis) είναι μια χρόνια νόσος η οποία οδηγεί σε καταστροφή της αρχιτεκτονικής του πνευμονικού παρεγχύματος. Σύμφωνα με τις διεθνείς θέσεις ομοφωνίας, η ΙΠΙ ορίζεται σαν μια ειδική μορφή χρόνιας και προοδευτικά επιδεινούμενης ινοποιού διάμεσης πνευμονίας με άγνωστη αιτιολογία¹. Η νόσος προσβάλλει κυρίως ασθενείς μεγάλης ηλικίας και περιορίζεται στον πνεύμονα χωρίς συστηματικές εκδηλώσεις. Η παθολογοανατομική εικόνα της ΙΠΙ είναι εκείνη της συνήθους διάμεσης πνευμονίας (usual interstitial pneumonia, UIP) με υποϋπεζωκοτική κυρίως κατανομή των βλαβών. Κύρια ιστολογική βλάβη της UIP είναι η ίνωση του διαμέσου ιστού (εικόνα μελικηρύθρας σε συνδυασμό με διάσπαρτες εστίες ινοβλαστών και φλεγμονής. Απαραίτητη προϋπόθεση για τη διάγνωση της νόσου είναι ο αποκλεισμός όλων των γνωστών αιτίων που μπορούν να προκαλέσουν εικόνα UIP, όπως νοσήματα του κολλαγόνου, τοξικότητα από φάρμακα και περιβαλλοντικοί παράγοντες (π.χ. έκθεση σε αμιάντο).

1.1.1. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Η κλινική προσέγγιση της ΙΠΙ θα πρέπει να περιλαμβάνει δεδομένα από το αναλυτικό ιστορικό, την αντικειμενική εξέταση, τον ακτινολογικό έλεγχο, το λειτουργικό έλεγχο του αναπνευστικού και βέβαια τον απεικονιστικό και μικροβιολογικό έλεγχο. Ξεκινώντας από την κλινική εικόνα, οι ασθενείς παρουσιάζουν προοδευτικά επιδεινούμενη αναπνευστική λειτουργία που εκδηλώνεται

με ολοένα αυξανόμενη δύσπνοια στην προσπάθεια¹. Η δύσπνοια είναι το βασικό σύμπτωμα και συνήθως είναι παρούσα για περισσότερο από 6 μήνες προτού ο ασθενής επισκεφθεί για πρώτη φορά τον ιατρό. Η εισβολή της είναι βαθμιαία. Είναι σημαντικό το αίσθημα δύσπνοιας να αξιολογηθεί συγκριτικά με προγενέστερα διαστήματα καθώς οι περισσότεροι ασθενείς «εξοικειώνονται» με τη βαθμιαία εμφάνισή του και συχνά μπορεί να διαλάθει της προσοχής τους. Ο βήχας είναι ένα σύμπτωμα που δεν εμφανίζεται σε όλους τους ασθενείς. Συνήθως είναι μη παραγωγικός ενώ αν η ΙΠΠ συνδυάζεται (π.χ. σε καπνιστές) με χρόνια βρογχίτιδα μπορεί να εμφανιστεί απόχρεμψη.

Στα αρχικά στάδια η αντικειμενική εξέταση του θώρακα μπορεί να μη αποκαλύψει παθολογικά ευρήματα. Ωστόσο, σε περισσότερο από 80% των περιπτώσεων, η ακρόαση του θώρακα αποκαλύπτει την παρουσία αμφοτερόπλευρων λεπτών τελοεισπνευστικών μη μουσικών ήχων (οι οποίοι ονομάζονται Velcro rales). Οι ήχοι αυτοί εντοπίζονται κυρίως στις βάσεις των πνευμόνων ενώ σε πιο εκτεταμένη νόσο μπορεί να επεκταθούν και σε ανώτερες ζώνες. Η πληκτροδακτυλία συναντάται σε 25-50% των ασθενών². Στα τελικά στάδια της νόσου μπορεί να παρατηρηθεί κύανωση, πνευμονική υπέρταση και περιφερικά οιδήματα³.

Η ΙΠΠ δεν προσβάλλει άλλα συστήματα αλλά μπορεί να συνδυαστεί με γενικά συμπτώματα όπως απώλεια βάρους, αίσθημα κακουχίας και αδυναμίας. Είναι σημαντικό κατά την αρχική προσέγγιση και την παρακολούθηση του ασθενούς να αναζητούνται συμπτώματα και σημεία ενδεικτικά αυτοάνοσων νοσημάτων όπως αρθραλγίες, οιδήματα των αρθρώσεων, μυοσκελετικά άλγη, πυρετός, φωτοευαισθησία, ξηροστομία, ξηροφθαλμία και φαινόμενο Raynaud.

1.1.2. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Τα ευρήματα του εργαστηριακού ελέγχου είναι συνήθως μη ειδικά στους ασθενείς με ΙΠΠ. Η πολυερυθραιμία είναι σπάνια παρά την χρόνια διαλείπουσα υποξυγοναιμία που εμφανίζουν οι ασθενείς. Περιστασιακά παρατηρείται αύξηση της ταχύτητας καθίζησης των ερυθρών αιμοσφαιρίων, υπεργαμμασφαιριναιμία και αύξηση της LDH στον ορό. Η νόσος σε 10-20% συνδυάζεται με αύξηση των τίτλων των αντιπυρηνικών αντισωμάτων (antinuclear antibodies, ANA), του ρευματοειδούς παράγοντα (rheumatoid factor, RF) και κρυσφαιριναιμία αλλά σπάνια οι τίτλοι είναι ιδιαίτερα υψηλοί. Η ανεύρεση υψηλών τίτλων ANA (>1:160) πρέπει να εγείρει την υποψία υποκείμενου αυτοάνοσου νοσήματος. Τέλος, δεν αναδεικνύονται διαταραχές στο ηλεκτροκαρδιογράφημα παρά μόνο όταν ο ασθενής αναπτύξει πνευμονική υπέρταση και δεξιά καρδιακή ανεπάρκεια (δευτεροπαθή) ή αν συνυπάρχει υποκείμενο καρδιακό νόσημα.

1.1.3 ΔΟΚΙΜΑΣΙΕΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ

Στην ΙΠΠ παρατηρούνται περιοριστικού τύπου διαταραχές της πνευμονικής λειτουργίας. Οι βασικές λειτουργικές διαταραχές στην ΙΠΠ περιλαμβάνουν την ελάττωση των πνευμονικών όγκων (ζωτική χωρητικότητα, vital capacity, VC και ολική ζωτική χωρητικότητα, total lung capacity, TLC) και της διαχυτικής ικανότητας για το μονοξείδιο του άνθρακα (diffusing lung capacity, DLCO).

Στους ασθενείς με ΙΠΠ (αν δε συνυπάρχει εμφύσημα) όλοι οι πνευμονικοί όγκοι είναι μειωμένοι. Οι πνεύμονες είναι «σκληροί» (stiff) και παρουσιάζουν σημαντική μείωση της ενδοτικότητας (δηλαδή ανθίστανται στην έκπτυξή τους) και αυξημένη ελαστική τάση επαναφοράς. Ουσιαστικά, στην ΙΠΠ το ινωτικό παρέγχυμα

που περιβάλλει τους αεραγωγούς προκαλεί έκπτυξη των τοιχωμάτων τους με αποτέλεσμα η διάμετρος των αεραγωγών να είναι μεγάλη σε όλους τους πνευμονικούς όγκους. Κατά τις δοκιμασίες δυναμικής εκπνοής (σπιρομέτρηση), η δυναμική εκπνεόμενη χωρητικότητα (forced vital capacity, FVC) είναι μειωμένη ενώ ο λόγος FEV₁/FVC είναι μεγαλύτερος από το φυσιολογικό. Παρότι ο ολικός εκπνεόμενος όγκος είναι μειωμένος, η εκπνοή είναι ταχύτατη και η δυναμική εκπνευστική ροή (FEF_{25-75%}) παρουσιάζει παθολογικά υψηλή τιμή. Μια μειοψηφία των ασθενών εμφανίζει μείωση και στο δυναμικά εκπνεόμενο όγκο κατά το πρώτο δευτερόλεπτο (forced expiratory volume in 1 second, FEV₁) γεγονός που πιθανά αντανακλά τις επιπτώσεις του καπνίσματος.

Η ελάττωση της DLCO συνήθως προηγείται της μείωσης των πνευμονικών όγκων. Η μείωση της DLCO οφείλεται κυρίως στη πάχυνση της κυψελιδοτριχοειδικής μεμβράνης λόγω της εναπόθεσης κολλαγόνου στο διάμεσο ιστό αλλά και σε διαταραχή της σχέσης αερισμού-αιμάτωσης.

Οι ασθενείς με ΙΙΙ παρουσιάζουν διαταραχές της αναπνευστικής τους λειτουργίας και κατά την άσκηση. Η μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου και η αποβολή του διοξειδίου του άνθρακα είναι μειωμένες. Ο κατά λεπτό αερισμός κατά την άσκηση αυξάνεται λόγω της αύξησης της αναπνευστικής συχνότητας σε αντίθεση με τα φυσιολογικά άτομα που αυξάνουν τον αναπνεόμενο όγκο. Πρακτικά, οι ασθενείς κατά την άσκηση παρουσιάζουν γρήγορες και επιπόλαιες αναπνοές πιθανά λόγω ερεθισμού των J-υποδοχέων των κυψελιδικών τοιχωμάτων. Αποτέλεσμα αυτού είναι ότι η κυψελιδοτριχοειδική διαφορά (alveolar to arterial gradient, P_(A-a)O₂) κατά την άσκηση να αυξάνεται συγκριτικά με την ηρεμία.

Ενώ κατά τα αρχικά στάδια η μερική τάση οξυγόνου στο αρτηριακό αίμα (P_aO₂) διατηρείται σε φυσιολογικά επίπεδα, με την πρόοδο της νόσου παρουσιάζεται

μειωμένη. Η υποξυγοναιμία είναι συνήθως μικρή στην ηρεμία αλλά επιτείνεται κατά την άσκηση. Ο κύριος μηχανισμός υποξυγοναιμίας είναι η διαταραχή της σχέσης αερισμού-αιμάτωσης ενώ ένας επιπρόσθετος λόγος είναι η διαταραχή στο μηχανισμό διάχυσης των αερίων λόγω της παχυσμένης κυψελιδοτριχοειδικής μεμβράνης. Σε προχωρημένα στάδια οι ασθενείς παρουσιάζουν χαμηλή τιμή μερικής τάσης διοξειδίου του άνθρακα στο αρτηριακό αίμα (P_aCO_2) που οφείλεται στον αυξημένο κυψελιδικό αερισμό.

1.1.4. ΕΠΙΠΤΩΣΗ ΚΑΙ ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΣ

Η ακριβής επίπτωση και ο επιπολασμός της νόσου δεν είναι γνωστά καθώς δεν υπάρχουν μεγάλες μελέτες που να τα έχουν εκτιμήσει. Από μία μελέτη που πραγματοποιήθηκε στο Ν. Μεξικό εκτιμήθηκε ότι η επίπτωση της ΙΠΠ είναι 10,7 περιπτώσεις ανά 100.000 ανά έτος για το ανδρικό φύλο και 7.4 περιπτώσεις ανά 100.000 ανά έτος για τις γυναίκες⁴. Από μια άλλη μελέτη στο Ενωμένο Βασίλειο προέκυψε ότι η επίπτωση της ΙΠΠ είναι 4,6 περιπτώσεις ανά 100.000 ανθρωπο-έτη⁵.

Ο επιπολασμός της νόσου κυμαίνεται από 2 ως 29 περιπτώσεις ανά 100.000 γενικού πληθυσμού¹. Σε μια πιο πρόσφατη μελέτη στις ΗΠΑ ο επιπολασμός εκτιμήθηκε σε 14,0 ως 42,7 περιπτώσεις ανά 100.000 πληθυσμού⁶.

1.1.5. ΠΙΘΑΝΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

Η ΙΠΠ αποτελεί εξ ορισμού νόσημα με άγνωστη αιτιολογία, ωστόσο έχουν προταθεί διάφοροι παράγοντες κινδύνου.

ΚΑΠΝΙΣΜΑ: Το κάπνισμα αποτελεί ισχυρό παράγοντα κινδύνου για ΙΠΠ ιδιαίτερα σε ασθενείς με σχετικά μεγάλη καπνιστική συνήθεια (>20 yrs)⁷.

ΓΑΣΤΡΟΟΙΣΟΦΑΓΙΚΗ ΠΑΛΙΝΔΡΟΜΗΣΗ: Αρκετές μελέτες έχουν αναγνωρίσει τη χρόνια γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση (ΓΟΠ) και τις πιθανές μικροεισροφήσεις που τη συνοδεύουν σαν παράγοντα κινδύνου για την ΙΠΠ.

ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ: Η εισπνοή κόνεων μπορεί να προκαλέσει διάμεση πνευμονοπάθεια με το ίδιο ιστολογικό πρότυπο με την ΙΠΠ (π.χ. σκόνη χαλκού, ορείχαλκου και χάλυβα)⁸. Ωστόσο, τότε δεν πρόκειται για ιδιοπαθή πνευμονική ίνωση. Επίσης, διάφορα επαγγέλματα όπως οι γεωργοί, οι κτηνοτρόφοι, οι εκτροφείς πτηνών και οι κομμωτές φαίνεται ότι διατρέχουν υψηλότερο κίνδυνο ανάπτυξης ΙΠΠ από το γενικό πληθυσμό⁹. Ωστόσο, τα παραπάνω έχουν προκύψει από επιδημιολογικές μελέτες και τα αποτελέσματά τους πρέπει να ερμηνεύονται με προσοχή.

ΙΟΙ: Η έκθεση στον ιό Epstein-Barr και τον ιό της Ηπατίτιδας C έχει συσχετιστεί με την ΙΠΠ.

1.1.6. ΦΥΣΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ

Η νόσος χαρακτηρίζεται από μια προοδευτική έκπτωση της αναπνευστικής λειτουργίας με τελική κατάληξη στις περισσότερες περιπτώσεις το θάνατο από αναπνευστική ανεπάρκεια ή από άλλες αιτίες που σχετίζονται με τη νόσο (δεξιά καρδιακή ανεπάρκεια, οξεία παρόξυνση της νόσου). Η διάμεση επιβίωση έχει υπολογιστεί σε 2-3 έτη μετά τη διάγνωση^{1,10}. Ωστόσο, πρόσφατες κλινικές μελέτες δείχνουν ότι η επιβίωση των ασθενών με μέτρια έκπτωση της αναπνευστικής λειτουργίας ($FVC_{\%προβλεπόμενης} \geq 50\%$ και $DLCO_{\%προβλεπόμενης} \geq 40\%$ και $P_aO_2 \geq 55\text{mmHg}$) μπορεί να είναι μεγαλύτερη¹¹.

Η φυσική πορεία της νόσου ποικίλλει και δεν μπορεί να προβλεφθεί κατά τη διάγνωση. Οι περισσότεροι ασθενείς έχουν μια αργή, βαθμιαία πρόοδο της νόσου.

Κάποιοι ασθενείς παραμένουν σταθεροί ενώ άλλοι επιδεινώνονται γρήγορα¹². Η μειοψηφία των ασθενών (5-10%) παρουσιάζει στην πορεία της νόσου ή κατά τη διάγνωση, οξεία παρόξυνση της νόσου που συχνά είναι θανατηφόρα¹³.

1.1.7. ΠΡΟΓΝΩΣΗ

Η πρόγνωση της ΙΠΠ είναι δύσκολο να προβλεφθεί. Είναι σημαντικό να αναγνωρίζονται ασθενείς με αυξημένο κίνδυνο θνητότητας προκειμένου να παραπέμπονται σε ειδικά κέντρα που πραγματοποιούν μεταμόσχευση πνεύμονα. Δυστυχώς, στη βιβλιογραφία δεν υπάρχουν αρκετές προοπτικές μελέτες που να επιτρέπουν την ασφαλή εκτίμηση της πρόγνωσης της νόσου. Κάποια χαρακτηριστικά έχουν σχετιστεί με κακή πρόγνωση όπως η $DLCO_{\%προβλεπόμενης} < 40\%$, ή η παρουσία πνευμονικής υπέρτασης (Πίνακας 1). Ωστόσο, η πορεία που θα ακολουθήσει η νόσος είναι πολύ δύσκολο να εκτιμηθεί με ασφάλεια καθώς σημαντικό ποσοστό των ασθενών επιδεινώνονται οξέως μετά από περιόδους σχετικής σταθερότητας.

Πίνακας 1. Κλινικά χαρακτηριστικά που σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο θνητότητας (Προσαρμοσμένο από: *AN OFFICIAL ATS/ERS/JRS/ALAT STATEMENT: IDIOPATHIC PULMONARY FIBROSIS 2011¹*).

<p>Κατά τη διάγνωση</p> <p>Βαθμός δύσπνοιας</p> <p>$DLCO_{\%προβλεπόμενης} < 40\%$</p> <p>$SatO_2 < 88\%$ κατά τη δοκιμασία βάρδιας 6 λεπτών</p> <p>Έκταση της εικόνας δίκην μελικηρύθρας στη HRCT*</p> <p>Πνευμονική υπέρταση</p>
<p>Κατά την παρακολούθηση</p> <p>Αύξηση της δύσπνοιας</p> <p>Μείωση της $FVC_{\%προβλεπόμενης}$ κατά $\geq 10\%$</p> <p>Μείωση της $DLCO_{\%προβλεπόμενης}$ κατά $\geq 15\%$</p> <p>Επιδείνωση των ινωτικών βλαβών στη HRCT*</p>

*HRCT, High resolution computed tomography, υπολογιστική τομογραφία θώρακα υψηλής ευκρίνειας

1.1.8. ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Το 2000, η Αμερικανική Θωρακική Εταιρεία (ATS) από κοινού με την Ευρωπαϊκή Πνευμονολογική Εταιρεία (ERS) είχαν ανακοινώσει τις πρώτες κατευθυντήριες οδηγίες για τη διάγνωση και τη θεραπεία της ΙΠΠ, αλλά και την παρακολούθηση και την αξιολόγηση της ανταπόκρισης των ασθενών στη χορηγούμενη θεραπεία¹⁴. Όμως, νέα δεδομένα που προέκυψαν από την έρευνα των τελευταίων ετών οδήγησαν στην ανάγκη να διατυπωθούν νέες ορθολογικές οδηγίες

βασιζόμενες στα αποτελέσματα προηγούμενων σημαντικών μελετών. Έτσι δημιουργήθηκε μια διεθνής ομάδα επιστημόνων με ειδικό ενδιαφέρον για τις διάμεσες πνευμονοπάθειες αλλά και με αναγνωρισμένο διεθνώς έργο σχετικό με τα νοσήματα αυτά (εκπροσωπώντας την ATS, την ERS, την Ιαπωνική Πνευμονολογική Εταιρεία (JRS) και την Λατινο-αμερικανική Πνευμονολογική Εταιρεία ALAT) με σκοπό την αναθεώρηση των προηγούμενων οδηγιών. Η ομάδα των επιστημόνων επισκόπησε την εκτεταμένη βιβλιογραφία, που έχει δημοσιευθεί τα τελευταία χρόνια σχετικά με την αντιμετώπιση της ΙΠΠ και δημοσίευσε νέες τεκμηριωμένες κατευθυντήριες οδηγίες με βάση ένα σύστημα βαθμονόμησης των υπάρχοντων ενδείξεων (evidence-based)¹. Οι νέες κατευθυντήριες οδηγίες/συστάσεις βασίζονται, για πρώτη φορά, σε πραγματικές ενδείξεις προερχόμενες από την αξιολόγηση προηγούμενων μελετών. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα να ελαχιστοποιείται το σφάλμα που δημιουργεί η υιοθέτηση της γνώμης των ειδικών, στην οποία κατά κύριο λόγο στηρίζονταν η μέχρι τώρα πρακτική για την αντιμετώπιση της ΙΠΠ.

Η επιτροπή, λαμβάνοντας υπόψη την έλλειψη τυχαιοποιημένων μελετών που να αποδεικνύουν την αποτελεσματικότητα των υπάρχοντων φαρμάκων, κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η φαρμακευτική θεραπεία της ΙΠΠ είναι χωρίς όφελος για τους περισσότερους από τους ασθενείς. Για το λόγο αυτό κατέληξε σε συστάσεις οι οποίες αντιτίθενται στη χρήση των περισσότερων φαρμακευτικών σχημάτων και σκευασμάτων.

Καμία γνωστή φαρμακευτική αγωγή δεν έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει θετικά την επιβίωση και την τελική έκβαση των ασθενών με ΙΠΠ. Οι ασθενείς με τη νόσο έχουν ανάγκη από σωστή και συχνή προσέγγιση και θα πρέπει να ενημερώνονται για τη φύση της νόσου τους και για την πρόγνωση της από τον θεράποντα ιατρό τους. Θα πρέπει επίσης να ενθαρρύνεται η συμμετοχή τους σε νέα φαρμακευτικά πρωτόκολλα

ενώ είναι απαραίτητο να παραπέμπονται έγκαιρα για μεταμόσχευση. Ειδικά, οι ασθενείς που διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο να καταλήξουν σε σύντομο διάστημα από τη διάγνωση της νόσου θα πρέπει να αξιολογούνται άμεσα και να κατευθύνονται σε μεταμοσχευτικά κέντρα.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της ψηφοφορίας της επιτροπής, η σύσταση "ισχυρό ναι", απευθύνεται στην πλειονότητα των ασθενών που θα ήθελαν να ακολουθήσουν θεραπευτική παρέμβαση με τη χρήση της μακροχρόνιας οξυγονοθεραπείας και σε όσους θα ήθελαν να υποβληθούν σε μεταμόσχευση πνεύμονα έφοσον βέβαια είναι κατάλληλοι για μεταμόσχευση. Η σύσταση "αδύναμο ναι" αναφέρεται στη χρήση των κορτικοστεροειδών κατά την οξεία παρόξυνση της ΠΠ, στη θεραπεία της ασυμπτωματικής ΓΟΠ και στην εφαρμογή της πνευμονικής αποκατάστασης στην πλειονότητα των ασθενών, αλλά πολλοί δε θα ακολουθήσουν την παραπάνω θεραπευτική παρέμβαση. Στην κατηγορία "ισχυρό όχι" οι περισσότεροι ασθενείς δε θα ήθελαν την ακόλουθη θεραπευτική παρέμβαση και μόνο ένα μικρό ποσοστό θα την ακολουθήσει. Η θεραπεία αναφέρεται στη χρήση της μονοθεραπείας με κορτικοστεροειδή, κολχικίνη, κυκλοσπορίνη Α, στη συνδυασμένη αγωγή κορτικοστεροειδών με ανοσορρυθμιστικούς παράγοντες, την ιντερφερόνη-γ-1b, το bosentan και το etanercept.

Στην κατηγορία " αδύναμο όχι " η πλειοψηφία των ασθενών δε θα ήθελε την ακόλουθη θεραπευτική παρέμβαση, αλλά πολλοί θα την ακολουθήσουν, δηλαδή οι ακόλουθες θεραπευτικές παρεμβάσεις δε θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για την πλειοψηφία των ασθενών με ΠΠ, αλλά μπορεί να είναι μια λογική επιλογή σε μια μειοψηφία. Η επιτροπή περιλαμβάνει σε αυτή την κατηγορία τη μονοθεραπεία με Ν-ακετυλοκυστεΐνη, την πιρφενιδόνη, τη θεραπεία της πνευμονικής υπέρταση που

σχετίζεται με ΙΠΙ και τη χρήση του μηχανικού αερισμού σε ασθενείς με αναπνευστική ανεπάρκεια λόγω της ΙΠΙ.

Το προηγούμενο έτος, ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός Φαρμάκων (EMA) ενέκρινε για πρώτη φορά τη χορήγηση της πιρφενιδόνης ως θεραπευτική αγωγή για την ΙΠΙ. Η πιρφενιδόνη (5-methyl-1-phenyl-2-(1H)-pyridone) είναι ένας αντινωτικός παράγοντας που έχει την ικανότητα να αναστέλλει *in vitro* την επαγόμενη από το TGF-β σύνθεση κολλαγόνου και παρεμποδίζει τον πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών¹⁵. Έτσι η πιρφενιδόνη μπορεί να καθυστερήσει την έκπτωση της αναπνευστικής λειτουργίας και την πρόοδο της νόσου. Τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα της μελέτης, σε συνδυασμό με τα πρόσφατα στοιχεία σχετικά με την προγνωστική σημασία των αλλαγών στην FVC και την εξάλεπτη δοκιμασία βάρδισης (6 minute walk test, 6MWT), παρέχουν περαιτέρω ενδείξεις σχετικά με το σημαντικό κλινικό όφελος από τη θεραπεία με την πιρφενιδόνη στους ασθενείς με ΙΠΙ. Σύμφωνα με τα παραπάνω στοιχεία, και εν αναμονή των αποτελεσμάτων από τις κλινικές δοκιμές που βρίσκονται σε εξέλιξη, η πιρφενιδόνη ως μονοθεραπεία μπορεί να θεωρηθεί ως μια "λογική" θεραπευτική προσέγγιση για την ΙΠΙ.

1.2.ΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΤΥΠΟΥ ΤΗΣ ΣΥΝΗΘΟΥΣ ΔΙΑΜΕΣΗΣ

ΠΝΕΥΜΟΝΙΑΣ (USUAL INTERSTITIAL PNEUMONIA, UIP)

1.2.1. ΑΚΤΙΝΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ UIP ΠΡΟΤΥΠΟΥ (ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗ ΤΟΜΟΓΡΑΦΙΑ ΘΩΡΑΚΑ ΥΨΗΛΗΣ ΕΥΚΡΙΝΕΙΑΣ)

Η απλή ακτινογραφία θώρακα είναι συνήθως παθολογική στη συντριπτική πλειοψηφία των ασθενών. Στα αρχικά στάδια παρατηρείται η εικόνα διάχυτης δικτυωτής ή δικτυοζιδιακής απεικόνισης των κατώτερων πνευμονικών πεδίων με περιφερική εντόπιση. Με την εξέλιξη της νόσου παρατηρείται επιδείνωση του δικτυωτού στοιχείου και μείωση των πνευμονικών όγκων.

Η ειδικότητα της απλής ακτινογραφίας θώρακα είναι χαμηλή. Η υπολογιστική τομογραφία θώρακα υψηλής ευκρίνειας (High Resolution Computed Tomography, HRCT) είναι πολύ σημαντική για τη διαγνωστική προσπέλαση και την παρακολούθηση των ασθενών με ΙΠΙ (Πίνακας 2). Βασικό εύρημα για τη διάγνωση είναι η εικόνα δίκην μελικηρύθρας, δηλαδή η συρροή κυστικών περιοχών, με διάμετρο συνήθως 3-10 χιλιοστά, σαφών ορίων και με υποϋπεζωκοτική εντόπιση (Πίνακας 2). Άλλα χαρακτηριστικά της UIP στη HRCT είναι οι δικτυωτές σκιάσεις που συχνά συνοδεύονται από βρογχεκτασίες εξ' έλξης. Εικόνα δίκην θολής υάλου παρατηρείται συχνά αλλά έχει μικρότερη έκταση από τις δικτυωτές σκιάσεις.

Η κατανομή των βλαβών στη UIP είναι χαρακτηριστική. Συνήθως οι σκιάσεις εντοπίζονται στις βάσεις και την περιφέρεια των πνευμόνων. Η συνύπαρξη διαταραχών στον υπεζωκότα (π.χ. υπεζωκοτικές πλάκες, αποτιτανώσεις, μεγάλη υπεζωκοτική συλλογή) υποδεικνύει την παρουσία δευτεροπαθούς αιτίου ίνωσης (π.χ. έκθεση σε αμίαντο). Όμοια, η παρουσία μικροοζιδίων, η εικόνα παγίδευσης αέρα, η εκτεταμένη εικόνα δίκην θολής υάλου, η παρουσία πύκνωσης ή περιβρογχοαγγειακής

κατανομής των βλαβών πρέπει να εγείρει την υποψία άλλης διάγνωσης. Επίσης μπορεί να ανευρεθούν ήπια διογκωμένοι λεμφαδένες στο μεσοθωράκιο (<1,5 εκ).

Η θετική προγνωστική αξία της HRCT στη διάγνωση της UIP είναι 90-100%¹. Η παρουσία προτύπου UIP στη HRCT σημαίνει με μεγάλη ακρίβεια ότι και η ιστολογική βιοψία θα αναδείξει UIP πρότυπο. Αν στη HRCT απουσιάζει η εικόνα δίκην μελικηρύθρας αλλά ανευρίσκονται δικτυωτές σκιάσεις με υποϋπεζωκοτική εντόπιση στις βάσεις των πνευμόνων αμφοτερόπλευρα και απουσιάζουν ευρήματα που συνηγορούν υπέρ μιας άλλης διάγνωσης (π.χ. εικόνα δίκην θολής υάλου, μικροοζίδια, κτλ) τότε η απεικονιστική εικόνα είναι συμβατή με πιθανή UIP και ο ασθενής πρέπει να υποβληθεί σε χειρουργική βιοψία προκειμένου να τεθεί η διάγνωση. Η ιστολογική εξέταση μπορεί να αναδείξει UIP πρότυπο.

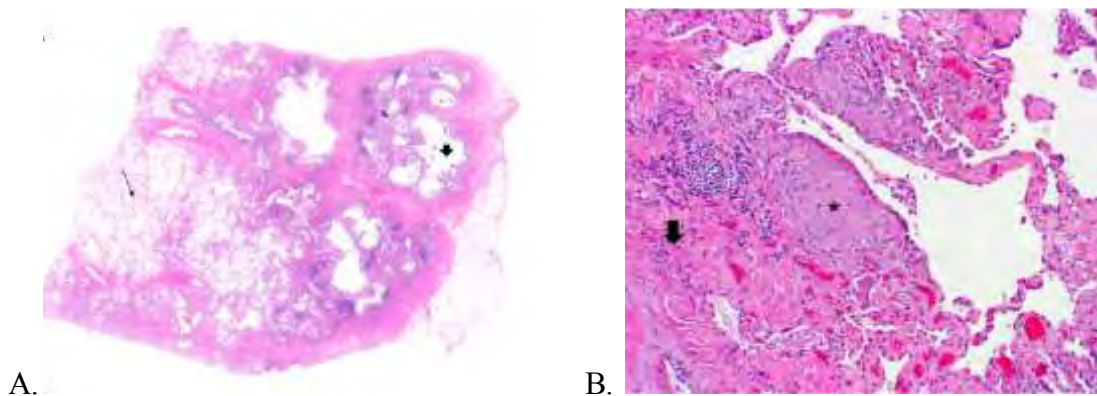
Πίνακας 2. Ακτινολογικά κριτήρια του UIP προτύπου (Προσαρμοσμένο από: AN OFFICIAL ATS/ERS/JRS/ALAT STATEMENT: IDIOPATHIC PULMONARY FIBROSIS 2011¹).

UIP πρότυπο (απαιτείται η παρουσία και των 4 χαρακτηριστικών)	Πιθανό UIP πρότυπο (απαιτείται η παρουσία 3 χαρακτηριστικών)	Εικόνα μη συμβατή με UIP πρότυπο (οποιοδήποτε από τα χαρακτηριστικά)
<p>1.Υποπέζωκοτική εντόπιση στις βάσεις των πνευμόνων</p> <p>2.Δικτυωτές σκιάσεις</p> <p>3.Εικόνα δίκην μελικηρύθρας με ή χωρίς βρογχεκτασίες εξ' έλξης</p> <p>4.Απουσία χαρακτηριστικών της τρίτης στήλης</p>	<p>1.Υποπέζωκοτική εντόπιση στις βάσεις των πνευμόνων</p> <p>2.Δικτυωτές βλάβες</p> <p>3.Απουσία χαρακτηριστικών της τρίτης στήλης</p>	<p>1.Εντόπιση στις ανώτερες ή μεσαίες ζώνες των πνευμόνων</p> <p>2.Περιβρογχοαγγειακή κατανομή των βλαβών</p> <p>3.Εκτεταμένη εικόνα δίκην θολής υάλου (έκταση > από εκείνη των δικτυωτών σκιάσεων)</p> <p>4.Παρουσία μικροοζιδίων (πολλαπλά, αμφοτερόπλευρα, με επίταση στους άνω λοβούς)</p> <p>5.Παρουσία κύστεων (πολλαπλές, αμφοτερόπλευρες, με εντόπιση εκτός των περιοχών μελικηρύθρας)</p> <p>6.Εικόνα παγίδευσης αέρα/ εικόνα μωσαϊκού (αμφοτερόπλευρα σε 3 ή περισσότερους λοβούς)</p> <p>7.Πύκνωση σε λοβό/ βρογχοπνευμονικό τμήμα</p>

1.2.2. ΠΑΘΟΛΟΓΟΑΝΑΤΟΜΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ UIP ΠΡΟΤΥΠΟΥ

Η ΙΠΙ χαρακτηρίζεται ιστολογικά από εικόνα UIP. Κύριο χαρακτηριστικό της νόσου είναι η πάχυνση του διαμέσου ιστού λόγω εναπόθεσης κολλαγόνου. Το βασικό εύρημα και το κύριο διαγνωστικό κριτήριο για τη διάγνωση της UIP είναι η παρουσία ετερογένειας των βλαβών, δηλαδή η ταυτόχρονη παρουσία περιοχών φυσιολογικού και έντονα παθολογικού πνεύμονα (περιοχές με ίνωση και μελικηρύθρα) σε διαφορετικές περιοχές του ίδιου ιστικού τεμαχίου (Εικόνα 1). Τα κυψελιδικά διαφραγμάτια μπορεί να εμφανίζουν πάχυνση λόγω διήθησής τους από κύτταρα φλεγμονής. Επίσης παρατηρείται διήθηση του διαμέσου ιστού από λεμφοκύτταρα, πλασματοκύτταρα, ιστιοκύτταρα, ηωσινόφιλα και πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα.

Εικόνα 1. Χειρουργική βιοψία που δείχνει το UIP πρότυπο. (Α) Περιοχές μελικηρύθρας (παχύ βέλος), περιοχές φυσιολογικού πνευμονικού παρεγχύματος (λεπτό βέλος) και ίνωση στις υποϋπεζωκοτικές περιοχές (Β) Περιοχές χρόνιας ίνωσης (παχύ βέλος), ινοβλαστική εστία (αστερίσκος) που αναγνωρίζεται από το ελλειπτικό της σχήμα και την παρουσία οιδηματώδους κολλαγόνου. (Προσαρμοσμένο από: AN OFFICIAL ATS/ERS/JRS/ALAT STATEMENT: IDIOPATHIC PULMONARY FIBROSIS 2011¹).



Ακόμα παρατηρείται υπερπλασία των πνευμονοκυττάρων τύπου II και του βρογχικού επιθηλίου. Οι ζώνες ίνωσης αποτελούνται από κολλαγόνο και εστίες ινοβλαστών και μυοϊνοβλαστών (fibroblast foci) και αποτελούν σταθερό εύρημα.

Σε περιοχές που η πάχυνση του διαμέσου ιστού είναι εντονότερη παρατηρείται η ύπαρξη συνδετικού ιστού. Σε περιοχές με περισσότερο εκτεταμένη νόσο, η πάχυνση του διαμέσου ιστού είναι τόσο εκσεσημασμένη ώστε οι κυψελίδες καταστρέφονται. Αυτό συχνά συνδυάζεται με διάταση των αεραγωγών και αποτελεί το παθολογοανατομικό υπόβραθο των περιοχών μελικηρύθρας που αναγνωρίζονται στην υπολογιστική τομογραφία θώρακα. Στις περιοχές μελικηρύθρας οι κυστικοί αεροχώροι περιβάλλονται από πυκνό κολλαγόνο και συχνά περιέχουν βλέννη και φλεγμονώδη κύτταρα.

Καθώς η νόσος εξελίσσεται αναγνωρίζονται σαφώς αφοριζόμενες περιοχές ίνωσης που εναλλάσσονται με μικρές κυστικές περιοχές διαμέτρου <2 χιλιοστά. Τελικά σχηματίζονται πολυάριθμες κυστικές βλάβες με διάμετρο 5-20 χιλιοστά που διαχωρίζονται από περιοχές με ποικίλη ποσότητα ινώδους ιστού (εικόνα δίκην μελικηρύθρας).

Πίνακας 3. Παθολογοανατομικά κριτήρια του UIP προτύπου (Προσαρμοσμένο από: AN OFFICIAL ATS/ERS/JRS/ALAT STATEMENT: IDIOPATHIC PULMONARY FIBROSIS 2011¹).

UIP πρότυπο (απαιτείται η παρουσία και των 4 κριτηρίων)	Πολύ Πιθανό UIP πρότυπο (απαιτείται η παρουσία 5 χαρακτηριστικών)	Πιθανό UIP πρότυπο (απαιτείται η παρουσία 3 κριτηρίων)	Όχι UIP πρότυπο (οποιοδήποτε από τα 6 κριτήρια)
<p>1. Ενδείξεις έντονης ίνωσης/διαταραχής της αρχιτεκτονικής, ±εικόνα μελικηρύθρας με κυρίως υποπέζωκοτική κατανομή</p> <p>2. Κατά τύπους εικόνα ίνωσης του διαμέσου ιστού</p> <p>3. Ινοβλαστικές εστίες</p> <p>4. Απουσία χαρακτηριστικών που είναι συμβατά με άλλες διαγνώσεις (τέταρτη στήλη)</p>	<p>1. Ενδείξεις έντονης ίνωσης/ διαταραχής της αρχιτεκτονικής± εικόνα μελικηρύθρας</p> <p>2. Απουσία ινοβλαστικών εστίων ή κατανομής κατά τύπους (όχι και των δύο)</p> <p>3. Απουσία χαρακτηριστικών που είναι συμβατά με άλλες διαγνώσεις (τέταρτη στήλη)</p>	<p>1. Κατά τύπους ή διάχυτη κατανομή των βλαβών της ίνωσης με ή χωρίς διήθηση του διαμέσου ιστού από φλεγμονή</p> <p>2. Απουσία των άλλων κριτηρίων του UIP προτύπου (πρώτη στήλη)</p> <p>3. Απουσία χαρακτηριστικών που είναι συμβατά με άλλες διαγνώσεις (τέταρτη στήλη)</p>	<p>1. Μεμβράνες υαλίνης</p> <p>2. Εστίες οργανούμενης πνευμονίας</p> <p>3. Κοκκιώματα</p> <p>4. Έντονη διήθηση του διαμέσου ιστού μακριά από εστίες μελικηρύθρας</p> <p>5. Διαταραχές των κεντρικών αεραγωγών</p> <p>6. Χαρακτηριστικά συμβατά με άλλες διαγνώσεις</p>

1.3.ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΙΔΙΟΠΑΘΟΥΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗΣ ΙΝΩΣΗΣ

Πρόσφατα έγινε αναθεώρηση των διαγνωστικών κριτηρίων για την ΙΠΙ. Τα παλαιότερα κριτήρια που είχαν δημοσιευθεί το 2000 είναι τα παρακάτω:

Μείζονα κριτήρια

1. Αποκλεισμός άλλων γνωστών αιτίων διαμέσου πνευμονικής νόσου, όπως τοξικότητα φαρμάκων, περιβαλλοντική έκθεση και αυτοάνοσα νοσήματα.
2. Περιοριστικού τύπου διαταραχή του αερισμού στο λειτουργικό έλεγχο του αναπνευστικού (μείωση της FVC και συχνά αύξηση της σχέσης FEV₁/FVC) και διαταραχή της ανταλλαγής αερίων (αύξηση της P_(A-a)O₂ κατά την ηρεμία ή την άσκηση και πτώση της DLCO) .
3. Αμφοτερόπλευρες δικτυωτές σκιάσεις στις βάσεις των πνευμόνων με ελάχιστο ή μηδενικό στοιχείο τύπου θολής υάλου (ground glass) στην υπολογιστική τομογραφία θώρακος υψηλής ευκρίνειας.
4. Η διαβρογχική βιοψία πνεύμονα ή το BAL να μην παρουσιάζουν στοιχεία τα οποία να συνηγορούν υπέρ άλλου νοσήματος.

Ελάσσονα κριτήρια

1. Ηλικία άνω των 50 ετών.
2. Βαθμιαία εισβολή δύσπνοιας κατά την κόπωση η οποία δεν μπορεί να εξηγηθεί με άλλο τρόπο.
3. Διάρκεια νόσου άνω των 3 μηνών.
4. Αμφοτερόπλευροι τρίζοντες στις βάσεις των πνευμόνων, των οποίων η απήχηση είναι ξηρή.

Σε κάποιες περιπτώσεις, η τεκμηρίωση της διάγνωσης απαιτούσε χειρουργική βιοψία πνεύμονα. Ωστόσο, επί ανοσοεπαρκούς ασθενούς, η παρουσία όλων των

μείζονων κριτηρίων και τουλάχιστον τριών από τα ελάχιστονα κριτήρια επαρκούσε για την διάγνωση της ΙΠΠ. Τα κριτήρια αυτά αναθεωρήθηκαν το 2011. Τα νέα διαγνωστικά κριτήρια φαίνονται στον Πίνακα 4. Ο αποκλεισμός αιτιών υπεύθυνων για δευτεροπαθή πνευμονική ίνωση είναι βασικές για τη διάγνωση της ΙΠΠ. Η χειρουργική βιοψία δεν είναι απαραίτητη για τη διάγνωση της ΙΠΠ όταν το απεικονιστικό πρότυπο είναι εκείνο της UIP.

Συνοψίζοντας, η διάγνωση της ΙΠΠ προϋποθέτει τα ακόλουθα:

1. Αποκλεισμός άλλων γνωστών αιτιών διαμέσων πνευμονοπαθειών (π.χ. περιβαλλοντικά αίτια, αυτοάνοσα νοσήματα, τοξικότητα από φάρμακα)
2. Παρουσία UIP προτύπου στη HRCT (σε ασθενείς που δεν έχουν υποβληθεί σε χειρουργική βιοψία)
3. Συνδυασμός απεικονιστικών και ιστολογικών χαρακτηριστικών της UIP (σε ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε χειρουργική βιοψία)

Πίνακας 4. Σύνδεσμος απεικονιστικών και παθολογοανατομικών χαρακτηριστικών για τη διάγνωση της ΙΠΙ (Προσαρμοσμένο από: AN OFFICIAL ATS/ERS/JRS/ALAT STATEMENT: IDIOPATHIC PULMONARY FIBROSIS 2011¹).

HRCT ΠΡΟΤΥΠΟ	ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ (όταν πραγματοποιείται χειρουργική βιοψία)	ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΙΠΙ;
UIP	UIP Πολύ πιθανή UIP Πιθανή UIP Μη ταξινομούμενη ίνωση	Ναι
	Όχι UIP	Όχι
Πιθανή UIP	UIP Πολύ πιθανή UIP	Ναι
	Πιθανή UIP Μη ταξινομούμενη ίνωση	Πιθανή
	Όχι UIP	Όχι
Μη συμβατό με UIP	UIP	Πιθανή
	Πολύ πιθανή UIP Πιθανή UIP Μη ταξινομούμενη ίνωση Όχι UIP	Όχι

Ο αποκλεισμός άλλων αιτιών διάμεσης πνευμονοπάθειας είναι ένα μάλλον υποκειμενικό κριτήριο και δεν υπάρχει σαφής αλγόριθμος στη βιβλιογραφία. Ωστόσο ο ιατρός πρέπει να λαμβάνει ένα λεπτομερές ιστορικό με έμφαση στη χρήση φαρμάκων, στη συνοσηρότητα, στην αναζήτηση περιβαλλοντικών αιτιών διάμεσης πνευμονοπάθειας και στο οικογενειακό ιστορικό. Η χρόνια πνευμονίτιδα από υπερευαισθησία έχει παρόμοια απεικονιστικά χαρακτηριστικά με τη ΙΙΙ και γι' αυτό είναι σημαντικό να αναζητούνται με λεπτομέρεια στο ιστορικό περιβαλλοντικά αίτια. Στους ασθενείς αυτούς το βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα έχει αυξημένα λεμφοκύτταρα (>40%). Σε αυτή τη νόσο η διάγνωση τίθεται με χειρουργική βιοψία πνεύμονα. Ασθενείς με γνωστό αυτοάνοσο νόσημα εξ ορισμού δεν έχουν ΙΙΙ. Σε νεαρούς ασθενείς (<50 έτη), κυρίως γυναίκες με θετικά αυτοαντισώματα κατά τη διάγνωση, υπάρχει υψηλή πιθανότητα να εμφανίσουν αυτοάνοσο νόσημα κατά την παρακολούθηση για αυτό αυτοί οι ασθενείς πρέπει να παρακολουθούνται στενά.

Στα παλαιότερα διαγνωστικά κριτήρια περιλαμβανόταν η διενέργεια βρογχοσκόπησης και βρογχοκυψελιδικού εκπλύματος ή διαβρογχικής βιοψίας προκειμένου να αποκλειστούν άλλες διαγνώσεις. Ωστόσο στις νεώτερες οδηγίες η πραγματοποίηση βρογχοσκόπησης δεν κρίνεται απαραίτητη αλλά πρέπει να γίνεται μόνο σε εκείνους που ο κλινικός ιατρός την κρίνει χρήσιμη.

Γενικά η διάγνωση της ΙΙΙ προϋποθέτει τη συνεργασία του κλινικού ιατρού με τον ακτινολόγο και τον παθολογοανατόμο προκειμένου να τεθεί η διάγνωση.

1.4.ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΗΣ ΙΔΙΟΠΑΘΟΥΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗΣ ΙΝΩΣΗΣ

1.4.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο ακριβής παθογενετικός μηχανισμός της ΙΠΠ παραμένει αδιευκρίνιστος. Στη βιβλιογραφία υπάρχουν πολλαπλές μελέτες που αναζητούν το αίτιο και το μηχανισμό δημιουργίας της νόσου. Μία από τις πιο πρόσφατες υποθέσεις υποστηρίζει ότι κάποιο άγνωστο ερέθισμα, ή/και αντιγόνο, προκαλεί διαταραχές στη φλεγμονώδη απάντηση. Αυτό οδηγεί σε βλάβη του ενδοθηλίου και του επιθηλίου των κυψελίδων και τελικά την απελευθέρωση προϋνωτικών αυξητικών παραγόντων στην περιοχή της βλάβης¹⁶. Αυτές οι προϋνωτικές κυτταροκίνες προσελκύουν ινοβλάστες στην περιοχή οι οποίοι διαφοροποιούνται προς μυοϊνοβλάστες. Οι μυοϊνοβλάστες εκκρίνουν πρωτεΐνες της εξωκυττάριας ουσίας, όπως κολλαγόνο και πρωτεογλυκάνες. Πιθανά οι μυοϊνοβλάστες διαφεύγουν τους μηχανισμούς της απόπτωσης και καταλαμβάνουν το διάμεσο ιστό του πνεύμονα ενώ συνεχίζουν να παράγουν εξωκυττάρια ουσία και να ευοδώνουν την ινοποιό διαδικασία και την αγγειογένεση. Τελικά, τα υπερπλαστικά κυψελιδικά κύτταρα τύπου ΙΙ προσπαθούν να επιδιορθώσουν τη βλάβη των κυψελίδων αλλά χωρίς να αποκαθιστούν πλήρως τη λειτουργία τους. Φαίνεται λοιπόν ότι η παθογένεια της νόσου περιλαμβάνει διάφορους μηχανισμούς που δρουν παράλληλα με τελικό αποτέλεσμα την εναπόθεση κολλαγόνου στο διάμεσο ιστό και καταστροφή της αρχιτεκτονικής του πνευμονικού παρεγχύματος¹⁶. Παρακάτω θα αναλυθεί ο ρόλος της αγγειογένεσης και της φλεγμονής .

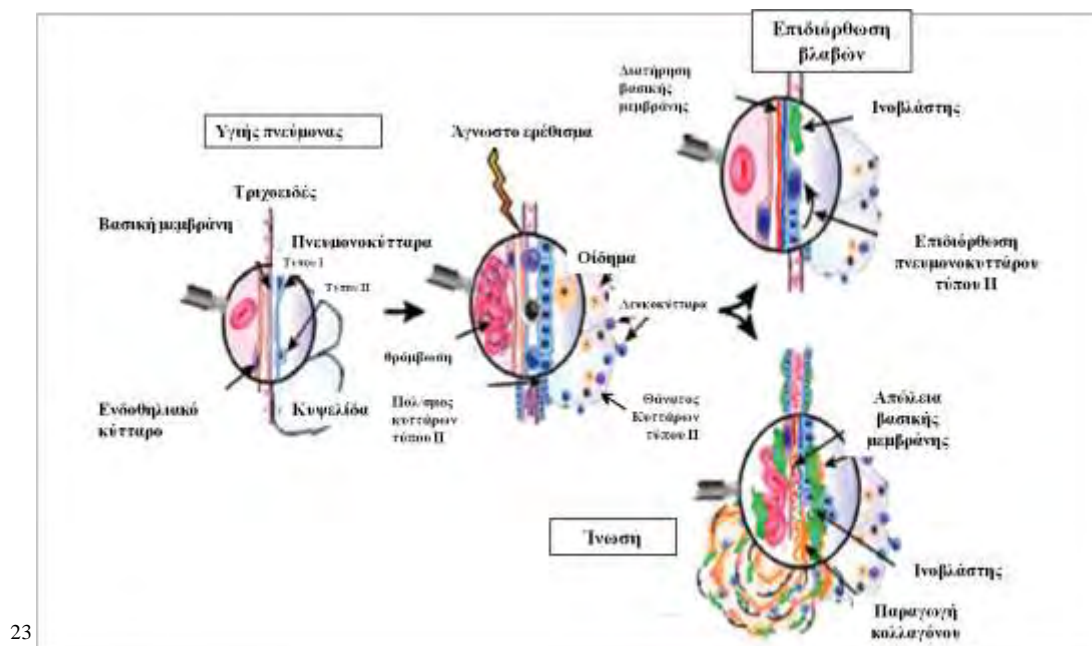
1.4.2. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗΣ

Πιθανά, διαταραχές στο μηχανισμό της αγγειογένεσης συμμετέχουν στην παθογένεια της ΠΠ. Ιστολογικές μελέτες έχουν δείξει εκτεταμένη αγγειακή επαναδιαμόρφωση (vascular remodeling) στους πνεύμονες ασθενών με ΠΠ. Φαίνεται ότι οι ινοβλαστικές εστίες (fibroblastic foci) παρουσιάζουν μειωμένη νεοαγγείωση^{17,18}. Επιπλέον αναστολείς της αγγειογένεσης όπως η ενδοστατίνη (endostatin) είναι αυξημένοι στην ΠΠ¹⁹. Από την άλλη μεριά, σε πειραματικά μοντέλα ίνωσης φαίνεται ότι η αναστολή χυμοκινών που επάγουν την αγγειογένεση και η εξωγενής χορήγηση αγγειοστατικών παραγόντων μειώνουν την εμφάνιση ίνωσης σε ζώα που λαμβάνουν μπλεομυκίνη²⁰⁻²². Φαίνεται λοιπόν ότι ενώ η αγγειογένεση συμμετέχει στην ινωτική διαδικασία, ο ακριβής ρόλος της δεν έχει απόλυτα διευκρινιστεί ως σήμερα.

Έχει προταθεί ότι η αποτυχημένη αποκατάσταση της ακεραιότητας του ενδοθηλίου που επαλείφει τις κυψελίδες μετά το αρχικό βλαπτικό ερέθισμα αποτελεί το εναρκτήριο σημείο της διαδικασίας της ίνωσης στην ΠΠ. Στο φυσιολογικό πνεύμονα, μετά τον τραυματισμό (injury) του κυψελιδοτριχοειδικού φραγμού ακολουθεί αιμορραγία και εξαγγείωση πλάσματος στον πνευμονικό ιστό. Τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια που φθάνουν στην περιοχή απελευθερώνουν κυτταροκίνες που δρουν σαν αυξητικοί παράγοντες ή χυμοταξίνες (chemotaxins) ενεργοποιώντας λευκοκύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα, ινοβλάστες, μυοϊνοβλάστες και επιθηλιακά κύτταρα των κυψελίδων. Η μετάβαση από αυτή τη φλεγμονώδη διαδικασία στην εναπόθεση εξωκυττάριας ουσίας ή την επιδιόρθωση της βλάβης πιθανά διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της νόσου. Όταν η βασική μεμβράνη των κυψελίδων είναι ακέραιη και το αρχικό ερέθισμα απομακρυνθεί, η εναπόθεση εξωκυττάριας ουσίας (κολλαγόνου κυρίως) αποφεύγεται και

αποκαθίσταται η φυσιολογική αρχιτεκτονική του παρεγχύματος. Στην ΙΙΙ αυτή διαδικασία φαίνεται ότι δε λειτουργεί φυσιολογικά αλλά αντίθετα η ακεραιότητα της βασικής μεμβράνης βλάπτεται. Στο αποτέλεσμα αυτό συμμετέχει η διαταραγμένη επανενδοθηλιοποίηση των αγγείων του πνεύμονα ²³(Εικόνα 2).

Εικόνα 2. Σχηματική παράσταση της φυσιολογικής και της παθολογικής ινωτικής απάντησης μετά από τραυματισμό του πνευμονικού παρεγχύματος (Προσαρμοσμένο από: *New mechanisms of pulmonary fibrosis Chest 2009*²³)



1.4.3. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ

Η συμμετοχή της φλεγμονής στην παθογένεια της ΙΠΠ υποστηρίζεται από ιστολογικές μελέτες που δείχνουν την παρουσία φλεγμονής σε γειτνίαση με τις περιοχές ίνωσης²⁴. Επιπλέον το βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα των ασθενών με ΙΠΠ συνήθως παρουσιάζει αυξημένα λευκοκύτταρα και ηωσινόφιλα²⁵. Αυτά τα κύτταρα απελευθερώνουν πρωτεάσες και οξειδωτικούς παράγοντες που προκαλούν βλάβη στο επιθήλιο των κυψελίδων. Επιπλέον, υπάρχει ισχυρή συσχέτιση των επιπέδων φλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως η IL-8, με παράγοντες βαρύτητας της νόσου²⁶.

Η χρόνια φλεγμονή πιθανά αποτελεί σημαντικό παράγοντα στην παθογένεια της ΙΠΠ. Όπως προκύπτει από πειραματικά μοντέλα η χρόνια φλεγμονώδης απάντηση μπορεί να αποτελεί το σημείο εκκίνησης της ινοποιού διαδικασίας^{27,28}. Ο TNF-α και η IL1-β επάγουν την οξεία/υποξεία και χρόνια φλεγμονώδη απάντηση με τελικό αποτέλεσμα την εναπόθεση κολλαγόνου στο διάμεσο ιστό του πνεύμονα²⁹⁻³¹. Ωστόσο, τα παραπάνω συμπεράσματα έχουν προκύψει από πειραματικά μοντέλα ίνωσης σε ζώα και δεν αναπαριστούν πλήρως την παθογένεια της ΙΠΠ στον άνθρωπο και για αυτό πρέπει να ερμηνεύονται με προσοχή.

Γενικά, ο ρόλος της φλεγμονής στην παθογένεια της ΙΠΠ είναι αμφιλεγόμενος. Αυτό βασίζεται στην αποτυχία των στεροειδών στη θεραπεία της νόσου. Ωστόσο αυτό το αρνητικό εύρημα δεν αποκλείει την πιθανότητα η φλεγμονή να συμμετέχει στα αρχικά στάδια της ινοποιού διαδικασίας.

2. ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΑ ΠΡΟΔΡΟΜΑ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

2.1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα καλύπτουν την εσωτερική επιφάνεια των αγγείων. Σύμφωνα με την κλασική γνώση, η *de novo* δημιουργία νέων αγγείων λαμβάνει χώρα μόνο κατά την εμβρυογένεση. Ωστόσο, το 1997 οι Asahara και οι συν²⁹ ανακάλυψαν μια ομάδα κυττάρων στο περιφερικό αίμα που είχαν την ικανότητα να διαφοροποιούνται προς ώριμα ενδοθηλιακά κύτταρα *ex vivo* και να συμμετέχουν στην νεοαγγείωση. Αυτή η ομάδα κυττάρων είναι τα κυκλοφορούντα πρόδρομα ενδοθηλιακά κύτταρα (circulating endothelial progenitor cells, EPCs).

2.2.ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΚΑΙ ΠΛΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΩΝ ΠΡΟΔΡΟΜΩΝ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Η δημιουργία των εμβρυικών αγγείων αρχίζει με ένα σύμπλεγμα (cluster) από πρόδρομα κύτταρα του μεσοδέρματος (αιμαγγειοβλάστες, hemangioblasts)³². Τα κύτταρα αυτά διαφοροποιούνται προς αγγειοβλάστες (εμβρυικά πρόδρομα ενδοθηλιακά κύτταρα) και αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα (hemopoietic stem cells, HSCs). Αυτό το σύμπλεγμα κυττάρων (αιμοποιητικά νησίδια, blood islands) αποτελείται από αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα στο κέντρο και αγγειοβλάστες στην περιφέρεια. Σε αυτό το εμβρυικό στάδιο καθώς και στην υπόλοιπη ζωή, τα HSCs παράγουν ουσίες «σήματα» όπως ο vascular endothelial growth factor (VEGF), ο

fibroblast growth factor και οι αγγειοποιητίνες που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη των αγγείων³³. Η ένωση πολλών αιμοποιητικών νησίδιών έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία πρωτόγονων (primitive) αγγείων. Αυτά τα αγγεία δημιουργούν το πολύπλοκο δίκτυο των τριχοειδών. Πρόσφατα αποκαλύφθηκε ότι οι εμβρυικοί αγγειοβλάστες υπάρχουν και στους ενήλικες. Αυτά τα κύτταρα στην ενήλικη ζωή ονομάζονται πρόδρομα ενδοθηλιακά κύτταρα (circulating endothelial progenitor cells, EPCs) και εντοπίζονται στο μυελό των οστών, στους σκελετικούς μύες και στο παρέγχυμα των αγγείων (vascular parenchyma). Ένα μικρό ποσοστό των EPCs κυκλοφορούν στο περιφερικό αίμα (με προέλευση τον μυελό των οστών) και στο αίμα του ομφαλίου λώρου (με προέλευση το ήπαρ του εμβρύου)^{29,34}.

Η κινητοποίηση των EPCs από το μυελό των οστών στην περιφέρεια περιλαμβάνει ένα πολύπλοκο καταρράκτη γεγονότων³⁵. Αρχικά, τα EPCs μεταναστεύουν από «ήσυχα» (quiescent) νησίδια του μυελού των οστών στην αγγειακή ζώνη (vascular zone). Από αυτή την περιοχή τα EPCs απελευθερώνονται στη συστηματική κυκλοφορία. Η απελευθέρωση αυτή επάγεται από διάφορες κυτταροκίνες όπως ο granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) ή ο VEGF. Τα EPCs κινητοποιούνται ταχέως στην κυκλοφορία μετά από βλάβη του ενδοθηλίου π.χ. από έγκαιμα ή αορτοστεφανιαία παράκαμψη³⁶. Η αύξηση των EPCs συμβαίνει 6-12 ώρες μετά τη βλάβη και συνδυάζεται με αύξηση των επιπέδων του VEGF στην κυκλοφορία. Επίσης, η ιστική ισχαιμία αποτελεί ισχυρό ενδογενές ερέθισμα για την απελευθέρωση EPCs από το μυελό των οστών³⁷. Το ενδογενές σήμα μεσολαβείται από την αύξηση των επιπέδων του VEGF. Η κινητοποίηση των EPCs από το μυελό των οστών εξαρτάται και από τη δραστηριότητα της ενδοθηλιακής συνθάσης του NO (endothelial nitric oxid synthase, eNOS) που εκκρίνεται από τα κύτταρα του στρώματος³⁸.

2.3.ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ ΤΩΝ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΩΝ ΠΡΟΔΡΟΜΩΝ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Τα EPCs στους ενήλικες είναι ένας μικρός πληθυσμός (<0,05%) του κλάσματος των λευκοκυττάρων των αιμοποιητικών μονοκυττάρων του μυελού των οστών³⁹. Τα κύτταρα αυτά απομονώνονται από το μυελό των οστών, το περιφερικό αίμα και τον ομφάλιο λώρο. Υπάρχουν 2 μέθοδοι απομόνωσης των EPCs.

1. Πρώιμα EPCs (early outgrowth EPCs)

Τα μονοκύτταρα που απομονώνονται επιστρώνονται σε τριβλία με φιμπρονεκτίνη και καλλιεργούνται παρουσία αυξητικών παραγόντων που προάγουν την ανάπτυξή τους. Μετά από 5-7 ημέρες τα EPCs δημιουργούν αποικίες. Αυτές οι αποικίες έχουν συγκεκριμένη μορφολογία που είναι παθογνωμονική. Αποτελούνται από ένα κεντρικό κλάσμα σφαιρικών κυττάρων που περιβάλλονται από πολλαπλά επιμήκη κύτταρα (endothelial cell colony forming units, CFU-EC).

2. Όψιμα EPCs (late outgrowth EPCs)

Τα μονοκύτταρα που απομονώνονται από το περιφερικό αίμα επιστρώνονται σε τριβλία με κολλαγόνο-I παρουσία καλλιεργητικού υλικού για ενδοθηλιακά κύτταρα. Τα όψιμα EPCs δημιουργούν αποικίες μετά από 14-21 ημέρες.

Οι δύο φαινότυποι έχουν διαφορετική ικανότητα πολλαπλασιασμού. Τα πρώιμα EPCs έχουν μικρή ικανότητα αναδιπλασιασμού. Αυτά τα κύτταρα ενσωματώνονται στην ενδοθηλιακή στιβάδα αλλά δεν μπορούν να σχηματίσουν λειτουργικά αγγεία *in vivo*. Ωστόσο, έχουν χαρακτηριστικά ενδοθηλιακών κυττάρων (π.χ. εκφράζουν το γονίδιο της eNOs). Τα όψιμα EPCs έχουν μεγάλη ικανότητα αναδιπλασιασμού και παίζουν σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της νεοαγγείωσης καθώς σχηματίζουν αγγεία *in vivo*.

Η έγχυση EPCs σε ισχαιμικά άκρα βελτιώνει σημαντικά την αιμάτωσή τους αλλά αυτό δεν οφείλεται μόνο στην ενσωμάτωσή τους στο ενδοθήλιο των αγγείων καθώς από μελέτες ανοσοϊστοχημείας προκύπτει ότι ελάχιστα κύτταρα αναγνωρίζονται στο τοίχωμα των νεοσχηματισμένων τριχοειδών⁴⁰. Τα EPCs έχουν παρακρινή δράση και εκκρίνουν παράγοντες που επάγουν την νεοαγγείωση. Αυτή η ιδιότητά τους είναι σημαντική για την επιδιόρθωση των βλαβών των ιστών. Οι δύο φαινότυποι των EPCs συμμετέχουν με διαφορετικό τρόπο στη διαδικασία της νεοαγγείωσης καθώς τα πρώιμα EPCs εκκρίνουν μεγαλύτερη ποσότητα αυξητικών παραγόντων σε σχέση με τα όψιμα⁴¹. Τα πρώιμα EPCs μπορεί να έχουν μικρή ικανότητα αναδιπλασιασμού αλλά εκκρίνουν παράγοντες ανάπτυξης που προάγουν την αγγειογένεση και έτσι αυξάνουν την ικανότητα αναδιπλασιασμού των όψιμων EPCs ή των ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων.

2.4.ΕΞΩΓΕΝΕΙΣ ΡΥΘΜΙΣΤΕΣ ΤΩΝ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΩΝ ΠΡΟΔΡΟΜΩΝ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Κυτταροκίνες όπως ο GM-CSF, ο G-CSF ή ο VEGF προσελκύουν τα EPCs και αυξάνουν τον αριθμό των κυκλοφορούντων EPCs³². Αντίστοιχα αποτελέσματα έχουν οι στατίνες (hydroxyl methyl glutaryl coenzyme A reductase inhibitors). Η ερυθροποιητίνη και τα οιστρογόνα αυξάνουν τον αριθμό των EPCs^{42,43}. Αυτό πιθανά οφείλεται στην αναστολή της απόπτωσης των EPCs που μεσολαβείται από την κασπάση-8.

2.5.ΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΩΝ ΠΡΟΔΡΟΜΩΝ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ- ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, κεντρικός ρόλος των πρόδρομων ενδοθηλιακών κυττάρων είναι η αποκατάσταση του τραυματισμένου ενδοθηλίου. Τα υγιή αγγεία είναι σχετικά σταθερά και το ενδοθήλιο τους αντικαθίσταται αργά με χρόνο ημιζωής περίπου 3 έτη³². Στην ενήλικη ζωή τα EPCs αποτελούν μια δεξαμενή κυττάρων που κινητοποιούνται από ενδογενή και εξωγενή σήματα και συμμετέχουν στην επιδιόρθωση του ενδοθηλίου. Κατά το οξύ αγγειακό τραύμα όπως συμβαίνει σε θερμικά εγκαύματα ή την αορτοστεφανιαία παράκαμψη παρατηρείται γρήγορη κινητοποίηση των EPCs από το μυελό των οστών³⁶. Μόλις σε 6-12 ώρες από τη βλάβη ο αριθμός των EPCs αυξάνεται κατά 50 φορές ενώ επιστρέφει στα βασικά (baseline) επίπεδα σε 48-72 ώρες. Παρόμοια αύξηση παρουσιάζουν και τα επίπεδα του VEGF στο πλάσμα γεγονός που υποδεικνύει ότι ο VEGF είναι ο κύριος ρυθμιστής της κινητοποίησης και της διαφοροποίησης των EPCs. Εκτός από το τραύμα τα EPCs κινητοποιούνται και σε συνθήκες τοπικής ισχαιμίας ή κατά το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου και αυτό πιθανά οφείλεται στην αύξηση των επιπέδων VEGF^{37,38,44}.

Η μείωση αλλά και η αύξηση των επιπέδων των EPCs έχει συσχετιστεί με διάφορα νοσήματα. Τα EPCs συμμετέχουν στην νεοαγγείωση των καρκινικών ιστών. Μάλιστα, μελέτες ανοσοϊστοχημείας έχουν δείξει την ύπαρξη EPCs στις αγγειοβριθείς περιοχές των κακοήθων όγκων⁴⁵. Επιπλέον, τα EPCs είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη νέων αγγείων και την αύξηση του μεγέθους των κακοήθων όγκων. Ακόμα, τα EPCs συσχετίζονται με τα καρδιαγγειακά νοσήματα. Χαμηλά επίπεδα των EPCs σχετίζονται με μειωμένη ικανότητα επιδιόρθωσης των βλαβών του ενδοθηλίου

των αγγείων και επακόλουθο αυξημένο κίνδυνο καρδιαγγειακών συμβαμάτων⁴⁶. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι ασθενείς με στεφανιαία νόσο και σακχαρώδη διαβήτη παρουσιάζουν δυσλειτουργία των EPCs. Συγκεκριμένα, τα EPCs των ασθενών με στεφανιαία νόσο έχουν μειωμένη μεταναστευτική ικανότητα ενώ σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τα EPCs παρουσιάζουν μειωμένη ικανότητα πολλαπλασιασμού^{47,48}.

2.6.0 ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΩΝ ΠΡΟΔΡΟΜΩΝ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΣΤΟΝ ΠΝΕΥΜΟΝΑ

Φαίνεται ότι τα EPCs παίζουν ρόλο σε νοσήματα του πνεύμονα όπως η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ), η πνευμονική υπέρταση ή το άσθμα όπου η βλάβη του ενδοθηλίου συμμετέχει στην παθοφυσιολογία τους. Λίγα είναι γνωστά για το ρόλο που διαδραματίζουν τα EPCs στα διάμεσα νοσήματα του πνεύμονα.

2.6.1. ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΥΠΕΡΤΑΣΗ

Η ενδοθηλιακή βλάβη και η αγγειογένεση παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της πνευμονικής υπέρτασης. Πρόσφατα έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι η βλάβη του ενδοθηλίου αποτελεί το πρώτο σκαλοπάτι στην αναδιαμόρφωση των αγγείων (vascular remodeling) που οδηγεί στην ανάπτυξη πνευμονικής υπέρτασης⁴⁹. Καθώς τα EPCs έχουν σημαντικό ρόλο στην ομοίωση της ενδοθηλιακής στιβάδας στη συστηματική και στην πνευμονική κυκλοφορία είναι πιθανό διαταραχές τους να συμμετέχουν στην παθογένεια της πνευμονικής υπέρτασης. Μάλιστα, η τρέχουσα βιβλιογραφία υποστηρίζει ότι τα μειωμένα επίπεδα EPCs μπορεί να συμμετέχουν στην αγγειακή αναδιαμόρφωση που οδηγεί στην ανάπτυξη πνευμονικής υπέρτασης⁴⁹.

Η παραπάνω υπόθεση έχει εξετασθεί σε πειραματικά μοντέλα πνευμονικής υπέρτασης σε ζώα. Η εξωγενής χορήγηση EPCs σε ζώα που έχουν εκτεθεί στην ενδοθηλιακή τοξίνη μονοκροταλίνη (πειραματικό μοντέλο πνευμονικής υπέρτασης) προλαμβάνει και διορθώνει την αύξηση των πιέσεων στη δεξιά κυκλοφορία και διατηρεί την αρχιτεκτονική των αγγείων της πνευμονικής μικροκυκλοφορίας^{50,51}. Ωστόσο, δεν παρατηρείται σημαντική ενσωμάτωση των EPCs στο ενδοθήλιο των αγγείων. Φαίνεται λοιπόν ότι τα EPCs μπορούν να αναστρέψουν τις βλάβες του ενδοθηλίου με παρακρινή μηχανισμό. Πρώιμα EPCs που έχουν απομονωθεί από ποντικούς με πνευμονική υπέρταση δευτεροπαθή σε χρόνια υποξυγοναιμία παρουσιάζουν διαταραχές στη λειτουργία τους⁵². Φαίνεται ότι η χρόνια υποξυγοναιμία σχετίζεται με μειωμένη παραγωγή NO και απάντηση στον SDF-1 (stromal derived factor 1) και ελαττωμένη ενσωμάτωση των κυττάρων στα αγγεία που υπόκεινται σε αναδιαμόρφωση (remodeling). Και σε αυτό το μοντέλο πνευμονικής υπέρτασης φαίνεται ότι αλλαγές στην παρακρινή δράση των EPCs συμμετέχουν στην παθογένεια της νόσου.

Τα επίπεδα των πρώιμων EPCs που απομονώνονται από ασθενείς με ιδιοπαθή πνευμονική υπέρταση είναι ελαττωμένα και τα EPCs παρουσιάζουν λειτουργικές διαταραχές όπως μειωμένη προσκόλληση στη φιμπρονεκτίνη^{53,54} ενώ τα επίπεδα των EPCs σχετίζονται με τη βαρύτητα της νόσου και την ικανότητα για άσκηση⁵⁴. Επίσης, φαίνεται ότι ασθενείς με ΙΙΙ και πνευμονική υπέρταση έχουν χαμηλότερα επίπεδα EPCs σε σύγκριση με ΙΙΙ ασθενείς χωρίς πνευμονική υπέρταση⁵⁵. Όμως, αυτή η μελέτη συμπεριέλαβε λίγους ασθενείς οι οποίοι δεν ήταν καλά χαρακτηρισμένοι καθώς η μελέτη δημοσιεύτηκε με τη μορφή του letter to the editor.

2.6.2. ΧΡΟΝΙΑ ΑΠΟΡΑΚΤΙΚΗ ΠΝΕΥΜΟΝΟΠΑΘΕΙΑ

Κλινικές μελέτες δείχνουν ότι οι ασθενείς με ΧΑΠ παρουσιάζουν μειωμένα επίπεδα EPCs σε σχέση με υγιείς εθελοντές⁵⁶. Μάλιστα, τα EPCs σχετίζονται στατιστικά σημαντικά με παράγοντες βαρύτητας της νόσου όπως ο FEV₁, η P_aO₂ και η μέγιστη πρόσληψη οξυγόνου κατά την εργοσπιρομετρία^{56,57}. Τα EPCs που απομονώνονται από ασθενείς με ΧΑΠ φαίνεται ότι παρουσιάζουν διαταραχές στη λειτουργία τους^{58,59}. Επιπλέον, κατά τη διάρκεια των οξέων παροξύνσεων της νόσου τα επίπεδα των EPCs είναι αυξημένα σε σύγκριση με τη σταθερή κατάσταση⁶⁰. Με βάση τα παραπάνω έχει διατυπωθεί η υπόθεση ότι η συστηματική φλεγμονή της ΧΑΠ πιθανά επηρεάζει τα επίπεδα των EPCs στη συστηματική κυκλοφορία.

2.6.3. ΒΡΟΓΧΙΚΟ ΑΣΘΜΑ

Η αγγειακή αναδιαμόρφωση αποτελεί σημαντικό χαρακτηριστικό του βρογχικού άσθματος και περιλαμβάνει την εμφάνιση νέων αγγείων γύρω από τους βρόγχους. Τα EPCs πιθανά διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε αυτή τη διαδικασία. Μελέτες έχουν δείξει ότι οι ασθματικοί ασθενείς παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα EPCs τα οποία σχετίζονται με αυξημένο αριθμό περιβρογχικών αγγείων⁶¹. Σε πειραματικά μοντέλα βρογχικού άσθματος φαίνεται ότι τα EPCs αυξάνουν μετά από μακροχρόνια έκθεση σε αλλεργιογόνα και αυτό σχετίζεται με την αγγειακή αναδιαμόρφωση⁶². Επιπλέον, φαίνεται ότι η ευαισθητοποίηση ποντικών σε οβαλβουμίνη αυξάνει τη συγκέντρωση EPCs στους πνεύμονες⁶³ και επάγει την έκφραση εοταξίνης-1, μια χυμοκίνη που προσελκύει ηωσινόφιλα⁶¹. Ωστόσο απαιτούνται περισσότερες μελέτες προκειμένου να αποσαφηνιστεί ο ρόλος των EPCs στην παθογένεια του βρογχικού άσθματος.

2.6.4. ΙΔΙΟΠΑΘΗΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΙΝΩΣΗ

Λίγα είναι γνωστά για τη πιθανή σχέση των EPCs με την ΙΠΙ. Από τη βιβλιογραφία προκύπτει ότι ασθενείς με πνευμονία και μειωμένα επίπεδα EPCs έχουν την τάση να παρουσιάζουν μόνιμα ινώδη στοιχεία στο πνευμονικό παρέγχυμα⁶⁴. Ωστόσο, ο ρόλος των EPCs στην παθογένεια της ΙΠΙ δεν έχει μελετηθεί.

3. ΛΕΠΤΙΝΗ

3.1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η λεπτίνη είναι μια πρωτεΐνη με 167 αμινοξέα, που ανακαλύφθηκε το 1994 και αποτελεί το προϊόν του *ob* γονιδίου το οποίο στον άνθρωπο εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 7 (7q31.3)⁶⁵. Η μεταγραφή και η μετάφραση του γονιδίου της λεπτίνης γίνεται κυρίως στα λιποκύτταρα και είναι ανάλογη του συνολικού ποσού λίπους στον οργανισμό⁶⁶. Η λεπτίνη παράγεται, σε μικρότερη όμως έκταση, και από άλλα όργανα και ιστούς όπως ο πλακούντας⁶⁷, ο μαζικός αδένας⁶⁸, ο βλεννογόνος του στόμαχου⁶⁹, και το πάγκρεας⁷⁰. Επιπλέον, το γονίδιο της λεπτίνης εκφράζεται και στον πνεύμονα. Συγκεκριμένα έχει παρατηρηθεί ότι η λεπτίνη παράγεται και εκκρίνεται από κύτταρα του βρογχικού επιθηλίου, πνευμονοκύτταρα τύπου II και μακροφάγα του πνεύμονα^{71,72}. Επίσης το *ob* γονίδιο εκφράζεται από τον εμβρυικό πνεύμονα⁷³, γεγονός που δείχνει ότι η λεπτίνη συμμετέχει πιθανόν στο μηχανισμό ωρίμανσης του πνεύμονα^{73,74}.

Η παραγωγή και η έκκριση της λεπτίνης από τα λιποκύτταρα ρυθμίζεται κυρίως από την πρόσληψη τροφής⁷⁵ αλλά και από πλήθος άλλων παραγόντων. Η ινσουλίνη⁷⁶ και τα γλυκοκορτικοειδή⁷⁷ φαίνεται να επάγουν την έκκριση λεπτίνης στον άνθρωπο. Τα επίπεδα λεπτίνης στον ορό είναι επίσης αυξημένα σε οξείες λοιμώξεις και στη σήψη^{78,79}. Είναι γνωστό ότι στις περιπτώσεις αυτές παρατηρούνται αυξημένα επίπεδα προφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως ο TNF- α ⁸⁰ και η IL-1(interleukin-1)⁸¹, οι οποίες επάγουν την έκφραση του *ob* γονιδίου και αυτό μπορεί να εξηγήσει τα αυξημένα επίπεδα λεπτίνης. Αντίθετα, οι χρόνιες φλεγμονές προκαλούν μείωση των επιπέδων λεπτίνης⁸². Τα επίπεδα λεπτίνης είναι αυξημένα στις γυναίκες

σε σύγκριση με τους άνδρες αντίστοιχης ηλικίας και σωματομετρικών χαρακτηριστικών καθώς η έκφραση της λεπτίνης αναστέλλεται από τη τεστοστερόνη και επάγεται από τις γυναικείες ορμόνες (ovarian sex steroids)⁸³. Τέλος τα επίπεδα λεπτίνης μειώνονται από τις κατεχολαμίνες⁸⁴.

Ο υποδοχέας της λεπτίνης (Ob-R) ανήκει στην υπεροικογένεια των υποδοχέων των κυτταροκινών τάξης I και έχει κοινά δομικά χαρακτηριστικά με τον υποδοχέα της ιντερλευκίνης-6 (IL-6)⁸⁵. Έχουν περιγραφεί 6 ισομορφές του υποδοχέα, 4 "μικρές" (Ob-R_a, Ob-R_c, Ob-R_d, Ob-R_f), μία "μεγάλη" (Ob-R_b) και μία διαλυτή στο αίμα (Ob-R_e)⁸³. Η Ob-R_b ισομορφή θεωρείται λειτουργικά ενεργή και εκφράζεται κυρίως στον υποθάλαμο αλλά και σε περιφερικούς ιστούς όπως το ήπαρ και η δράση της γίνεται μέσω του JAK-STAT μονοπατιού (through Janus Kinase–signal transducer and activation of transcription factor pathway)^{86,87}. Οι μικρές ισομορφές, έχουν άγνωστη μέχρι σήμερα λειτουργία και εκφράζονται σε διάφορα όργανα και ιστούς, όπως οι νεφροί και το ενδοθήλιο των αγγείων^{85,88}.

Υποδοχείς λεπτίνης εκφράζονται και στον πνευμονικό ιστό. Έχει παρατηρηθεί έκφραση του Ob-R σε εμβρυικό πνεύμονα ποντικών⁸⁹ και πιο συγκεκριμένα αναφέρεται έκφραση του Ob-R από εμβρυικά πνευμονοκύτταρα τύπου II κατά τη φάση ωρίμανσης του πνεύμονα. Ισομορφές του Ob-R έχουν ανιχνευθεί και σε εμβρυϊκούς πνεύμονες άλλων ζώων^{73,90} ενώ βάση των ιστολογικών ευρημάτων φαίνεται ότι η έκφραση του υποδοχέα αφορά κυρίως πνευμονοκύτταρα τύπου II. Επιπλέον, τα επιθηλιακά κύτταρα των βρόγχων και των κυψελίδων (π.χ. τα πνευμονοκύτταρα τύπου II) εκφράζουν τη λειτουργική ισομορφή του υποδοχέα της λεπτίνης^{71,72,91}. Επίσης, τα λεία μυϊκά κύτταρα των αεραγωγών⁹² και τα κύτταρα της υποβλεννογόνιας στιβάδας των κεντρικών αεραγωγών⁹³ παράγουν τον υποδοχέα της λεπτίνης. Αν και η λειτουργία του υποδοχέα της λεπτίνης στην περιφέρεια δεν έχει

διευκρινιστεί ακόμα, η παρουσία της λειτουργικής ισομορφής του υποδοχέα στον πνευμονικό ιστό υποδεικνύει ότι ο πνεύμονας αποτελεί όργανο στόχο για τη λεπτίνη.

Σύντομα μετά την ανακάλυψή της, η λεπτίνη θεωρήθηκε το αντίδοτο της παχυσαρκίας. Οι *ob/ob* ποντικοί, που έχουν μια μετάλλαξη μονής βάσης στο γονίδιο της λεπτίνης και δεν παράγουν λειτουργική πρωτεΐνη, έχουν αυξημένη όρεξη, είναι παχύσαρκοι και έχουν μειωμένο ρυθμό βασικού μεταβολισμού⁹⁴. Η χορήγηση ανασυνδυσασμένης λεπτίνης στους *ob/ob* ποντικούς διορθώνει τις παραπάνω διαταραχές. Η λεπτίνη διαπερνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, δρα στον υποθάλαμο, καταστέλλει την όρεξη και αυξάνει τις ενεργειακές ανάγκες του οργανισμού⁹⁵. Η ανορεξιογόνος δράση της λεπτίνης στον ανθρώπινο οργανισμό είναι πιο πολύπλοκη. Η παχυσαρκία στους ανθρώπους συνδυάζεται με αυξημένα επίπεδα λεπτίνης. Οι παχύσαρκοι παρουσιάζουν σχετική ανθεκτικότητα στη δράση της λεπτίνης στον υποθάλαμο⁹⁶. Υπάρχουν διάφορες υποθέσεις για την αιτία της αντίστασης στη λεπτίνη. Κάποιοι υποστηρίζουν ότι οφείλεται στη μειωμένη μεταφορά της λεπτίνης⁹⁷ ή/και στη μειωμένη δραστηριότητα του υποδοχέα της λεπτίνης στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ)⁹⁸.

Η ύπαρξη υποδοχέων λεπτίνης σε διάφορα όργανα και ιστούς φανερώνει την πολυπλοκότητα και ποικιλία των μηχανισμών δράσης της. Η λεπτίνη διαδραματίζει σημαντικό ρόλο σε διάφορες καταστάσεις όπως η ανοσολογική απάντηση⁹⁹, η δραστηριότητα του συμπαθητικού συστήματος^{100,101}, η αγγειογένεση¹⁰², η αναπαραγωγική διαδικασία¹⁰³, η επούλωση των τραυμάτων¹⁰⁴ κ.α. Όσον αφορά στον πνεύμονα η λεπτίνη φαίνεται να εμπλέκεται στο μηχανισμό παραγωγής του επιφανειοδραστικού παράγοντα¹⁰⁴, συμμετέχει στον έλεγχο της αναπνευστικής λειτουργίας¹⁰⁵ ενώ έχει συσχετιστεί με πλήθος νοσημάτων όπως το βρογχικό

άσθμα¹⁰⁶, το σύνδρομο παχυσαρκίας υποαερισμού⁴⁴ και τον καρκίνο του πνεύμονα⁴⁴. Ωστόσο, ο ρόλος της λεπτίνης στην ΙΠΠ δεν έχει μελετηθεί ως σήμερα.

3.2. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΛΕΠΤΙΝΗΣ ΣΤΗ ΦΛΕΓΜΟΝΗ

Η λεπτίνη είναι σημαντικός μεσολαβητής της ανοσολογικής απάντησης και έχει προφλεγμονώδη δράση. Η λεπτίνη αυξάνει την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών όπως ο TNF- α , η IL-6 και η IL-12⁸³. Επιπλέον επάγει την έκφραση της CCL2 από τα ηπατικά αστεροειδή κύτταρα (hepatic stellate cells, HSC's) μέσω του NF κ B¹⁰⁷. Επίσης, η λεπτίνη ενεργοποιεί τα πολυμορφοπύρρηνα λευκοκύτταρα και τον πολλαπλασιασμό των κυκλοφορούντων μονοκυττάρων *in vitro*, και επάγει την έκφραση παραγόντων ενεργοποίησης (activation factors) όπως ο CD25 και ο CD71^{108,109}. Επιπλέον ενεργοποιεί τη χημειοταξία των ουδετεροφίλων και την παραγωγή ελεύθερων ριζών οξυγόνου. Η λεπτίνη επάγει την παραγωγή Th1 κυτταροκινών (π.χ. IL12, INF- γ) και μειώνει την παραγωγή Th2 κυτταροκινών (π.χ. IL-4).

3.3. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΛΕΠΤΙΝΗΣ ΣΤΗΝ ΙΝΩΣΗ ΔΙΑΦΕΡΩΝ ΟΡΓΑΝΩΝ

3.3.1. ΗΠΑΡ

Η ανάπτυξη ίνωσης στο ήπαρ χαρακτηρίζεται από υπερβολική εναπόθεση πρωτεϊνών της εξωκυττάριας ουσίας (κυρίως κολλαγόνου) στο ηπατικό παρέγχυμα, με τελικό αποτέλεσμα την ανάπτυξη κίρρωσης, ηπατικής ανεπάρκειας και πυλαίας υπέρτασης. Έχει διαπιστωθεί ότι η χρόνια επίδραση επαναλαμβανόμενων βλαπτικών

παραγόντων έχει σαν αποτέλεσμα τη διήθηση του ηπατικού παρεγχύματος από φλεγμονώδη κύτταρα, την απόπτωση των ηπατοκυττάρων και την ενεργοποίηση των κυττάρων Kupffer (ενεργοποιημένα μακροφάγα του ήπατος) που οδηγούνται σε έκκριση προϊνωτικών μεσολαβητών. Παράλληλα τα ηπατικά ατρακτοειδή κύτταρα (hepatic stellate cells, HSC's) πολλαπλασιάζονται, ενεργοποιούνται και τελικά διαφοροποιούνται σε μυοϊνοβλάστες. Ενεργοποιημένα HSC's μεταναστεύουν και συσσωρεύονται σε περιοχές ιστικής αναδιαμόρφωσης (remodeling) όπου παράγουν και εκκρίνουν μεγάλες ποσότητες εξωκυττάριας ουσίας πλούσιας σε κολλαγόνο¹¹⁰. Η αυξημένη σύνθεση εξωκυττάριας ουσίας από τα HSC's και η μειωμένη αποδόμηση της από τις μεταλλοπρωτεϊνάσες του στρώματος οδηγούν τελικά στην εμφάνιση ίνωσης.

Πρόσφατες μελέτες εμπλέκουν τη λεπτίνη στον παθοφυσιολογικό μηχανισμό της ίνωσης του ηπατικού παρεγχύματος. Συγκεκριμένα έχουν περιγραφεί δύο σχετικές υποθέσεις. Η πρώτη υπόθεση υποστηρίζει ότι στο ήπαρ υπάρχει ένα πολύπλοκο παρακρινές δίκτυο στα πλαίσια του οποίου τα HSC's ενεργοποιούνται και εκκρίνουν λεπτίνη. Η λεπτίνη με τη σειρά της επιδρά σε γειτονικά κύτταρα (κύτταρα Kupffer, ενδοθηλιακά κύτταρα των κολποειδών-SEC's) τα οποία οδηγούνται σε έκκριση προϊνωτικών παραγόντων με κύριο εκπρόσωπο τον TGF- β_1 ¹¹¹. Ο TGF- β_1 δρα στα HSC's ενεργοποιώντας την έκφραση γονιδίων των πρωτεϊνών της εξωκυττάριας ουσίας, όπως το κολλαγόνο, με τελικό αποτέλεσμα την ανάπτυξη ίνωσης στο ήπαρ. Η θεωρία αυτή υποστηρίζεται από τα παρακάτω δεδομένα.

Μελέτες *in vitro* και *in vivo* αποδεικνύουν ότι κατά τη διαδικασία ενεργοποίησης τους τα HSC's αποκτούν ικανότητα παραγωγής και έκκρισης λεπτίνης^{109,112} ενώ τα κύτταρα Kupffer διαθέτουν υποδοχείς λεπτίνης στην κυτταροπλασματική μεμβράνη τους^{109,113} με αποτέλεσμα η επίδραση της λεπτίνης σε

αυτά να έχει ως επακόλουθο την υπερβολική έκφραση της προϋνωτικής κυτταροκίνης TGF-β₁. Σε *in vivo* μελέτες έχει αναφερθεί ότι σε πειραματόζωα στα οποία χορηγήθηκε ανασυνδυσμένη λεπτίνη παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων του TGF-β₁ και της α-SMA (α-smooth muscle actin), που αποτελεί δείκτη ενεργοποίησης των HSC's¹¹⁴. Σε συμφωνία με τα παραπάνω, έχει παρατηρηθεί μειωμένη έκφραση του γονιδίου του προκολλαγόνου τύπου I και των επιπέδων TGF-β mRNA σε ποντικούς Zucker (οι οποίοι είναι ανθεκτικοί στην δράση της λεπτίνης λόγω μετάλλαξης στο γονίδιο του υποδοχέα της) σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, όταν οι δύο ομάδες ζώων εκτέθηκαν σε θεοακεταμίδη (πειραματικό μοντέλο χρόνιας ηπατικής βλάβης)¹⁰⁹. Επιπλέον αναφέρεται ότι σε καλλιέργειες ανθρώπινων HSC's στις οποίες προστέθηκε λεπτίνη παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων mRNA του κολλαγόνου και της έκφρασης του υποδοχέα του TGF-β₁, με τελικό βιολογικό αποτέλεσμα την ενίσχυση της δράσης του TGF-β₁¹¹⁵. Τέλος, φαίνεται ότι η λεπτίνη συμπληρώνει την προϋνωτική της δράση μειώνοντας την έκφραση του γονιδίου της μεταλλοπρωτεϊνάσης 1 του στρώματος (MMP-1) και διεγείροντας την παραγωγή του αναστολέα της (TIMP-1). Με τον τρόπο αυτό ευοδώνεται η εναπόθεση κολλαγόνου στον μεσοκυττάριο χώρο^{116,117}.

Σύμφωνα με μια δεύτερη υπόθεση η λεπτίνη ασκεί άμεση και όχι έμμεση προϋνωτική δράση στον ηπατικό ιστό. *In vitro* έχει αποδειχθεί ότι HSC's εκφράζουν το γονίδιο του υποδοχέα της λεπτίνης¹¹⁸. Προσθήκη ανασυνδυσμένης λεπτίνης σε καλλιέργειες HSC's είχε σαν αποτέλεσμα αύξηση των επιπέδων mRNA κολλαγόνου τύπου I σε σχέση με καλλιέργειες στις οποίες δεν προστέθηκε λεπτίνη. Η ίδια ομάδα ερευνητών απέδειξε *in vitro* ότι η λεπτίνη αυξάνει την έκφραση του γονιδίου του κολλαγόνου με μηχανισμό ανεξάρτητο από τον TGF-β₁¹¹⁹, ενισχύοντας την υπόθεση

ότι η λεπτίνη δρα αυτοκρινώς στα HSC's μέσω του υποδοχέα της και επάγει την παραγωγή κολλαγόνου από τα κύτταρα αυτά.

Ανεξάρτητα από το μηχανισμό δράσης της, η προϊνωτική ικανότητα της λεπτίνης επιβεβαιώνεται από τη μειωμένη συχνότητα ίνωσης στο ήπαρ ποντικών *ob/ob* (που στερούνται της ικανότητας παραγωγής λειτουργικής πρωτεΐνης λόγω μετάλλαξης στο γονίδιο του Ob-R)¹¹⁸ σε σχέση με τα υγιή controls, όταν τα ζώα εκτεθούν στην ηπατοτοξική ουσία CCl₄ (carbon tetrachloride). Αντίθετα όταν σε *ob/ob* ποντικούς χορηγηθεί ανασυνδυσασμένη λεπτίνη, η έκθεση σε CCl₄ καταλήγει σε σημαντικό βαθμό ίνωση του ηπατικού παρεγχύματος. Σε συμφωνία με τα παραπάνω, ο Leclercg και συν¹²⁰, ανέδειξαν την πλήρη απουσία κίρρωτικών βλαβών στο ήπαρ *ob/ob* ποντικών που εκτέθηκαν σε πειραματικά μοντέλα χρόνιας ηπατικής βλάβης. Εξωγενής χορήγηση ανασυνδυσασμένης λεπτίνης είχε σαν επακόλουθο την εμφάνιση ινωτικών βλαβών στο ηπατικό παρέγχυμα των ζώων, εξαλείφοντας τις διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων.

Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί αύξηση των επιπέδων λεπτίνης σε προκίρρωτικά νοσήματα του ήπατος όπως η χρόνια ηπατίτιδα Β και C¹²¹. Στη συγκεκριμένη μελέτη ωστόσο δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ του βαθμού ίνωσης και των επιπέδων λεπτίνης στον ορό των ασθενών, όπως είχε δειχθεί σε άλλες μελέτες στη βιβλιογραφία^{122,123}. Το γεγονός αυτό αποδόθηκε από τους συγγραφείς στα διαφορετικά συστήματα βαθμονόμησης της ίνωσης μεταξύ των μελετών.

3.3.2. ΝΕΦΡΟΣ

Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ότι άτομα με μαζική παχυσαρκία (κατάσταση που συνδυάζεται με αυξημένα επίπεδα λεπτίνης στον ορό) έχουν την τάση να

αναπτύσσουν εστιακή σπειραματοσκλήρυνση¹²⁴. Επιπρόσθετα, παχύσαρκα άτομα που πάσχουν από σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 παρουσιάζουν αυξημένη πιθανότητα να έχουν ιστολογικά αναγνωρίσιμη ίνωση των σπειραμάτων κυρίως στο χώρο του μεσάγγειου¹²⁵. Αυτές οι παρατηρήσεις οδήγησαν στην υπόθεση ότι η υπερλεπτιναιμία συνεισφέρει στην παθογένεια της νεφρικής ίνωσης.

Ενοφθαλμισμός ανασυνδυασμένης λεπτίνης σε καλλιέργειες σπειραματικών ενδοθηλιακών κυττάρων ποντικών είχε ως επακόλουθο την επαγωγή της έκφρασης του γονιδίου του TGF-β₁ και αύξηση της έκκρισής του από τα κύτταρα αυτά¹²⁶. Επιπλέον, επώαση κυττάρων του μεσάγγειου με λεπτίνη οδηγεί σε αύξηση της έκφρασης του γονιδίου του υποδοχέα του TGF-β₁, ενώ συγχρόνως διεγείρει την έκφραση του γονιδίου του κολλαγόνου τύπου I¹²⁷. Με δεδομένη την ύπαρξη υποδοχέων λεπτίνης στο νεφρικό ιστό¹²⁸, έχει προταθεί η υπόθεση ότι σε καταστάσεις υπερλεπτιναιμίας σπειραματοκύτταρα εκκρίνουν TGF-β, ο οποίος μέσω του υποδοχέα του δρα στα κύτταρα του μεσάγγειου με τελικό αποτέλεσμα την παραγωγή κολλαγόνου.

Πράγματι έχει παρατηρηθεί ότι ποντικοί *ob/ob* σπάνια αναπτύσσουν νεφρική νόσο, ενώ *db/db* ποντικοί (οι οποίοι έχουν αυξημένα επίπεδα λεπτίνης στον ορό λόγω μετάλλαξης στο γονίδιο του υποδοχέα της) εμφανίζουν βλάβες παρόμοιες με εκείνες που παρατηρούνται σε καταστάσεις διαβητικής νεφροπάθειας¹²⁹. Τέλος, σε πειραματόζωα στα οποία πραγματοποιήθηκε έγχυση λεπτίνης για χρονικό διάστημα 3 εβδομάδων, παρατηρήθηκε αυξημένη έκφραση του γονιδίου του TGF-β₁ και του γονιδίου του κολλαγόνου τύπου IV¹²⁶, ευρήματα συμβατά με την παραπάνω υπόθεση.

3.3.3. ΙΔΙΟΠΑΘΗΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΙΝΩΣΗ

Στη βιβλιογραφία δεν υπάρχουν μελέτες σχετικά με το ρόλο της λεπτίνης στην ΠΠ. Ωστόσο σε μία πρόσφατη μελέτη¹³⁰ φάνηκε ότι η λεπτίνη ενισχύει την επαγόμενη από τον TGF-β μετάφραση προϊνωτικών γονιδίων από πνευμονικούς ινοβλάστες. Επίσης db/db ποντικοί (που δεν παράγουν λειτουργικό ObR_b υποδοχέα λεπτίνης) δεν αναπτύσσουν ινωτικές βλάβες μετά από ενδοτραχειακή ενστάλλαξη μπλεομυκίνης.

4. ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ

4.1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αδιπονεκτίνη είναι μια πρωτεΐνη 30 KDa που παράγεται κυρίως από τα κύτταρα του λιπώδους ιστού. Το γονίδιο της αδιπονεκτίνης εκφράζεται και στους σκελετικούς μύες, το μυοκάρδιο και τα ενδοθηλιακά κύτταρα¹³¹⁻¹³³ και από τον πλακούντα κατά την κύηση¹³⁴. Τα επίπεδα αδιπονεκτίνης στη συστηματική κυκλοφορία είναι υψηλότερα από εκείνα της λεπτίνης (5-30 mg/ml σε αντίθεση με λίγα ng/ml για τη λεπτίνη). Η αδιπονεκτίνη συναντάται στην κυκλοφορία σαν τριμερές, εξαμερές ή υψηλότερης τάξης πολυμερές μόριο (12-18 υπομονάδες)¹³⁵.

Έχουν αναγνωριστεί δύο μορφές του υποδοχέα της αδιπονεκτίνης (AdipoR1, AdipoR2). Ο AdipoR1 εκφράζεται κυρίως στους σκελετικούς μύες με κύριο προσδέτη (ligand) τη τριμερή μορφή της αδιπονεκτίνης ενώ ο AdipoR2 βρίσκεται κυρίως στο ήπαρ και προσδένεται τόσο στο τριμερές όσο και στο πολυμερές μόριο της αδιπονεκτίνης¹³⁶.

Τα επίπεδα της αδιπονεκτίνης επηρεάζονται από διάφορους παράγοντες. Η συγκέντρωση αδιπονεκτίνης είναι αντιστρόφως ανάλογη με το ποσοστό λίπους στους ενήλικες και είναι μειωμένη στην παχυσαρκία και στο σακχαρώδη διαβήτη τύπου II¹³⁷. Επίσης η αδιπονεκτίνη παρουσιάζει θετική συσχέτιση με την ευαισθησία στην ινσουλίνη και είναι μειωμένη σε καταστάσεις που σχετίζονται με αντίσταση σε αυτήν

όπως καρδιαγγειακά νοσήματα, αρτηριακή υπέρταση, αθηρωμάτωση και μεταβολικό σύνδρομο^{138,139}. Επίσης η απώλεια βάρους επάγει τη σύνθεση αδιπονεκτίνης¹⁴⁰. Το ίδιο αποτέλεσμα έχει η ενεργοποίηση των peroxisome-proliferator-activated receptor (PPAR)- γ από τις θειαζολιδινεδιόνες που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία του σακχαρώδους διαβήτη τύπου II¹⁴¹.

Η αδιπονεκτίνη εμπλέκεται σε διάφορες μεταβολικές διαδικασίες όπως η ρύθμιση της συγκέντρωσης σακχάρου και ο καταβολισμός των λιπών. Η αδιπονεκτίνη καταστέλλει την παραγωγή γλυκόζης και αυξάνει την ευαισθησία στην ινσουλίνη στους μύες και στο ήπαρ, ενώ αυξάνει την οξείδωση των λιπών και καταστέλλει την έκφραση μορίων προσκόλλησης στο αγγειακό ενδοθήλιο¹⁴². Έτσι συμμετέχει στην ομοιοστάση του ενδοθηλίου καθώς προστατεύει από τη βλάβη του και την επακόλουθη δημιουργία αθηρωματικών πλακών¹⁴³.

4.2. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ ΣΤΗ ΦΛΕΓΜΟΝΗ

Η αδιπονεκτίνη, αντίθετα από τη λεπτίνη, έχει αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Μελέτες έχουν δείξει ότι η αδιπονεκτίνη επάγει την παραγωγή αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών όπως η IL-10 από τα μονοκύτταρα, τα μακροφάγα και τα δενδριτικά κύτταρα, ενώ αντίθετα καταστέλλει την παραγωγή INF- γ από μακροφάγα που έχουν διεγερθεί με λιποπολυσακχαρίδη (LPS)¹⁴⁴. Επίσης η αδιπονεκτίνη καταστέλλει την ενεργοποίηση του NF κ B από τους Toll like receptors (TLR) και πιθανά με αυτό το μηχανισμό μειώνει την απάντηση των μακροφάγων στους προσδέτες (ligands) των TLRs¹⁴⁵. Φαίνεται πως η αδιπονεκτίνη καταστέλλει την επαγόμενη από την IL-2

δράση των NK κυττάρων¹⁴⁶. Συμπερασματικά, τα παραπάνω αποτελέσματα δείχνουν ότι η αδιπονεκτίνη έχει αντιφλεγμονώδη δράση που επηρεάζει την ενδογενή και την επίκτητη ανοσία.

4.3. Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ ΣΤΗΝ ΙΝΩΣΗ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ

Η αδιπονεκτίνη έχει αντι-ινωτική δράση στο ήπαρ. Ποντικοί χωρίς λειτουργική αδιπονεκτίνη εμφανίζουν εκτεταμένη ίνωση στο ηπατικό παρέγχυμα ενώ η εξωγενής χορήγηση αδιπονεκτίνης προστατεύει από την εμφάνιση κίρρωσης¹⁴⁷. Επιπλέον η υπερέκφραση αδιπονεκτίνης σε ενεργοποιημένα HSCs *in vitro* μειώνει τη συγκέντρωση αSMA σε αυτά τα κύτταρα και επάγει την απόπτωσή τους¹⁰⁷. Η αδιπονεκτίνη καταστέλλει τη δράση του TGFb στην επαγωγή του γονιδίου του CTGF, ενός παράγοντα που αυξάνει την ίνωση¹⁴⁷. Με βάση τα παραπάνω φαίνεται ότι η αδιπονεκτίνη έχει προστατευτική δράση έναντι της ανάπτυξης ίνωσης στο ηπατικό παρέγχυμα και αυτό το καταφέρνει παρεμβαίνοντας σε διάφορα μονοπάτια.

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΠΡΩΤΟ

Προσδιορισμός των επιπέδων κυκλοφορούντων Πρόδρομων

Ενδοθηλιακών Κυττάρων σε ασθενείς με Ιδιοπαθή

Πνευμονική Ύψωση

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση (Idiopathic pulmonary fibrosis, ΙΠΙ) αποτελεί μια χρόνια προοδευτικά επιδεινούμενη ινοποιό νόσο του πνεύμονα με κακή πρόγνωση εξαιτίας της απουσίας αποτελεσματικής θεραπείας^{1,98}. Η παθογένεια της νόσου παραμένει ως σήμερα άγνωστη. Πιθανά πολλοί μηχανισμοί εμπλέκονται στην αιτιολογία της μεταξύ των οποίων η παθολογική αγγειακή αναδιαμόρφωση (abnormal vascular remodeling). Μελέτες στη βιβλιογραφία υποστηρίζουν ότι διαταραχές στην επανενδοθηλιοποίηση των βλαβών που προκύπτουν μετά το αρχικό τραύμα που κινητοποιεί την ενοποιό διαδικασία ευθύνονται για την έναρξη της νόσου²³. Μάλιστα κάποιιοι υποστηρίζουν ότι η απώλεια της ακεραιότητας του κυψελιδοτριχοειδικού φραγμού είναι το σημείο χωρίς επιστροφή για την έναρξη της παθογένειας της νόσου.

Τα κυκλοφορούντα πρόδρομα ενδοθηλιακά κύτταρα (endothelial progenitor cells, EPCs) αποτελούν ένα μικρό κλάσμα των κυττάρων του μυελού των οστών που είναι απαραίτητα για την επιδιόρθωση των βλαβών του αγγειακού δικτύου^{32,64}. Στον άνθρωπο έχουν αναγνωριστεί δύο κατηγορίες των EPCs·τα πρόιμα και τα όσιμα EPCs. Τα όσιμα EPCs διαφοροποιούνται προς ώριμα ενδοθηλιακά κύτταρα ενώ τα πρόιμα EPCs δρουν με παρακρινή τρόπο, δηλαδή εκκρίνουν κυτταροκίνες όπως ο VEGF^{41,49}. Η σχέση των EPCs με την ΙΠΙ δεν έχει διευκρινιστεί ως σήμερα. Ωστόσο, φαίνεται ότι η μείωσή τους έχει σχετιστεί με επίμονες ινωτικές βλάβες μετά από πνευμονία⁶⁴.

Με βάση τα παραπάνω υποθέσαμε ότι τα EPCs μπορεί να εμπλέκονται στην παθογένεια της ΙΠΙ. Σκοπός του παρόντος πρωτοκόλλου ήταν να προσδιορίσει τα επίπεδα EPCs σε ασθενείς με ΙΠΙ και υγιείς εθελοντές. Επιπλέον, αποφασίσαμε να μετρήσουμε τα επίπεδα του VEGF στον ορό προκειμένου να αξιολογήσουμε

διαταραχές στο μηχανισμό κινητοποίησης των EPCs από το μυελό των οστών. Τέλος θελήσαμε να μελετήσουμε τη δράση των EPCs και έτσι εξετάσαμε την ενδογενή παραγωγή VEGF από τα EPCs σε ασθενείς και μάρτυρες.

2. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

2.1. ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Στην παρούσα μελέτη συμμετείχαν 23 ασθενείς με ΙΠΠ και 15 υγιείς εθελοντές με φυσιολογικό λειτουργικό έλεγχο του αναπνευστικού. Ασθενείς και εθελοντές είχαν αντίστοιχη ηλικία και φύλο. Οι ασθενείς προήλθαν από το Εξωτερικό Ιατρείο Διαμέσων Νοσημάτων την Πνευμονολογικής κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας κατά το διάστημα Ιανουάριος 2008-Σεπτέμβριος 2011. Η κλινική μελέτη έλαβε έγκριση από την Επιτροπή Δεοντολογίας του Νοσοκομείου και όλοι οι συμμετέχοντες υπέγραψαν έντυπο συγκατάθεσης προκειμένου να συμπεριληφθούν στη μελέτη. Η διάγνωση της ΙΠΠ έγινε σύμφωνα με τα κριτήρια που έχουν προταθεί από την American Thoracic Society και την European Respiratory Society¹⁴. Λόγω της αναθεώρησης των κριτηρίων για τη διάγνωση της ΙΠΠ κατά τη διάρκεια της μελέτης, επανεξετάσαμε τη διάγνωση των ασθενών μας σύμφωνα με τις νέες οδηγίες¹. Με βάση τα νέα κριτήρια βρέθηκε ότι όλοι οι συμμετέχοντες ασθενείς είχαν διάγνωση ΙΠΠ. Ασθενείς με άλλα γνωστά αίτια διάμεσης πνευμονικής νόσου, όπως τοξικότητα φαρμάκων, περιβαλλοντική έκθεση ή νοσήματα του συνδετικού ιστού αποκλείστηκαν από τη μελέτη. Καπνιστές, άτομα με ιστορικό λήψης στατινών, σακχαρώδους διαβήτη, καρκίνου, ισχαιμικής νόσου, ή πρόσφατης λοίμωξης (εντός 30 ημερών από την ημερομηνία απομόνωσης των κυττάρων) εξαιρέθηκαν από τη μελέτη καθώς αυτές οι καταστάσεις σχετίζονται με διαταραχές των επιπέδων των EPCs. Κανένας από τους ασθενείς δεν ελάμβανε κορτικοστεροειδή και/ή ανοσοκατασταλτική θεραπεία. Από όλους τους ασθενείς ελήφθη αναλυτικό ιστορικό ενώ σε όλους τους συμμετέχοντες (ασθενείς και εθελοντές) πραγματοποιήθηκε λειτουργικός έλεγχος του αναπνευστικού και μέτρηση αερίων αίματος με εμπορικά

διαθέσιμο αναλυτή αερίων (model 1630;Instrumentation Laboratories, Milan Italy) σε διάστημα μικρότερο των 7 ημερών από την απομόνωση των κυττάρων. Η πραγματοποίηση του λειτουργικού ελέγχου του αναπνευστικού περιλάμβανε τη μέτρηση του FEV₁, της FVC, του λόγου FEV₁/FVC, της ολικής πνευμονικής χωρητικότητας (TLC), του υπολειπόμενου όγκου αέρα (RV), της διαχυτικής ικανότητας για το μονοξείδιο του άνθρακα (DLCO) και της διαχυτικής ικανότητας της διορθωμένης για τον κυψελιδικό αερισμό (DLCO/V_A). Τα αποτελέσματα των δοκιμασιών του λειτουργικού ελέγχου εκφράζονται σαν ποσοστά επί των προβλεπομένων τιμών. Οι δοκιμασίες πραγματοποιήθηκαν από έναν τεχνικό ο οποίος δε γνώριζε το ιατρικό ιστορικό των συμμετεχόντων σύμφωνα με τις οδηγίες της Αμερικανικής Θωρακικής Εταιρείας¹⁴⁸. Για την εκτίμηση της οξυγόνωσης υπολογίσαμε την κυψελιδοτριχοειδική διαφορά (P_(A-a)O₂) σύμφωνα με τον ακόλουθο τύπο: $P_{(A-a)O_2} = (713 \times FiO_2 - 1,25 \times P_aCO_2) - P_aO_2$. Από όλους τους συμμετέχοντες ελήφθη φλεβικό αίμα το οποίο φυγοκεντρήθηκε (1500g για 10 λεπτά στους 4°C). Το πλάσμα καταψύχθηκε στους -80°C μέχρι τη μέτρηση των επιπέδων VEGF. Ο προσδιορισμός των συγκεντρώσεων VEGF πραγματοποιήθηκε με την ανοσοπροσοροφητική μέθοδο ELISA με εμπορικά διαθέσιμο kit (R&D Systems, Mineapolis, USA). Το κατώτερο όριο ανίχνευσης VEGF ήταν 9 pg/ml.

2.2. ΥΠΕΡΗΧΟΓΡΑΦΗΜΑ ΚΑΡΔΙΑΣ

Όλοι οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε διαθωρακικό υπερηχογράφημα καρδιάς από έναν έμπειρο καρδιολόγο ο οποίος δεν γνώριζε την κλινική εικόνα, τη βαρύτητα της νόσου ή το λειτουργικό έλεγχο του αναπνευστικού. Η εξέταση έγινε σε διάστημα μικρότερο των 7 ημερών από την απομόνωση των κυττάρων με τη χρήση εμπορικά διαθέσιμου εξοπλισμού (GE Medical Systems-Vivid 3, Milwaukee, WI, USA με

μετατροπέα 1,5-3,6MHz). Πραγματοποιήθηκε M-mode, δύο διαστάσεων (2-D) έγχρωμο Doppler υπερηχογράφημα (two-dimensional color Doppler) και ιστικό Doppler (Tissue Doppler imaging, TDI) σύμφωνα με διεθνή πρωτόκολλα.

Η ύπαρξη ανεπάρκειας διαφυγής της τριγλώχινος βαλβίδας υπολογίστηκε με έγχρωμο Doppler και η μέγιστη ταχύτητα ροής υπολογίστηκε με τη βοήθεια συνεχούς παλμικού Doppler. Η κλίση πίεσης διαμέσου της τριγλώχινος υπολογίστηκε με τη βοήθεια της εξίσωσης του Bernoulli¹⁴⁹. Χρησιμοποιήθηκε η υψηλότερη ταχύτητα η οποία παρατηρήθηκε από διάφορες οπτικές γωνίες. Αναδευμένος φυσιολογικός ορός χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να ενισχυθεί το σήμα του Doppler αν θεωρούνταν απαραίτητο¹⁵⁰. Η διάμετρος της κάτω κοίλης φλέβας και οι μεταβολές που παρουσίαζε με τις αναπνευστικές κινήσεις χρησιμοποιήθηκαν για να εκτιμηθεί η πίεση στο δεξιό κόλπο η οποία προστέθηκε στην κλίση πίεσης διαμέσου της τριγλώχινος προκειμένου να υπολογιστεί η συστολική πίεση στην πνευμονική αρτηρία. Όλα τα αποτελέσματα των μετρήσεων αποτελούσαν τις μέσες τιμές τουλάχιστον τριών διαφορετικών παλμών

Ήπια ή μέτρια ανεπάρκεια τριγλώχινος διαπιστώθηκε σε όλους τους ασθενείς. Παρόλο που η λειτουργικότητα της δεξιάς κοιλίας δεν αποτελούσε κριτήριο αποκλεισμού όλοι οι ασθενείς είχαν καλή συστολική λειτουργία χωρίς διάταση της δεξιάς κοιλίας ενώ το μεσοκοιλιακό διάφραγμα παρουσίαζε φυσιολογική κινητικότητα. Όλοι οι ασθενείς είχαν φλεβοκομβικό ρυθμό με καρδιακή συχνότητα μικρότερη από 100 σφύξεις/λεπτό κατά τη διάρκεια των μετρήσεων. Η συστολική πίεση στην πνευμονική αρτηρία πάνω από 35mmHg χρησιμοποιήθηκε σαν όριο για τον καθορισμό της ύπαρξης πνευμονικής υπέρτασης¹⁵¹.

2.3.ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΩΝ ΠΡΟΔΡΟΜΩΝ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Η απομόνωση των EPCs έγινε σύμφωνα με διεθνή πρωτόκολλα⁴⁶. Σε όλους τους συμμετέχοντες πραγματοποιήθηκε λήψη 20 ml φλεβικού αίματος. Αρχικά, απομονώθηκαν τα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος με φυγοκέντρηση Ficoll (Histopaque 1077, Sigma-Aldrich, Taufkirchen Germany) και τοποθετήθηκαν σε θρεπτικό υλικό με σύσταση Medium 199 (Gibco BRL Life Technologies), 20% ορό, πενικιλίνη (100μg/ml) και στρεπτομυκίνη (100μg/ml). Τα απομονωμένα μονοκύτταρα επιστρώθηκαν σε τριβλία με φιμπρονεκτίνη (6-well plates, Biocoat BD Biosciences) σε συγκέντρωση 5×10^6 κύτταρα ανά τριβλίο. Μετά από 48 ώρες, τα κύτταρα που αιωρούνταν στο θρεπτικό υλικό των τριβλίων (ανώριμα μονοκύτταρα) απομονώθηκαν και επιστρώθηκαν εκ νέου σε τριβλία με φιμπρονεκτίνη (24-well plates) σε συγκέντρωση 1×10^6 κύτταρα ανά τριβλίο για το τελικό βήμα απομόνωσης των EPCs. Η μέτρηση των αποικιών έγινε την 7^η ημέρα της καλλιέργειας σε τουλάχιστον τέσσερα τριβλία ανά συμμετέχοντα. Σαν αποικίες των EPCs θεωρήθηκαν εκείνες που είχαν την ακόλουθη μορφολογία: κεντρικό κλάσμα σφαιρικών κυττάρων που περιβάλλονται από πολλαπλά, ακτινοειδή, λεπτά και επίπεδα κύτταρα.

Η επιβεβαίωση της ενδοθηλιακής φύσης έγινε σύμφωνα με διεθνή πρωτόκολλα¹⁵². Συνοπτικά, πραγματοποιήθηκε έμμεσος ανοσοφθορισμός με τη χρήση ειδικών για τα ενδοθηλιακά κύτταρα αντισωμάτων έναντι του υποδοχέα 2 για τον VEGF (Flk-1, Santa Cruz Technology) και έναντι του CD31 (R&D Systems, Minneapolis, USA). Για τον έλεγχο της μεθόδου, τα αντισώματα αντικαταστάθηκαν από ίση ποσότητα του αντίστοιχου φυσιολογικού IgG αντισώματος. Στα πειράματα

ελέγχου δεν παρατηρήθηκε σημαντικός ανοσοφθορισμός των αποικιών, επιβεβαιώνοντας την εγκυρότητα της μεθόδου.

2.4. ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΤΟΥ RNA ΚΑΙ REAL TIME q-PCR

Η απομόνωση του VEGFmRNA έγινε την έβδομη ημέρα της καλλιέργειας. Το ολικό RNA απομονώθηκε με Trizol (Invitrogen) σύμφωνα με τη μεθοδολογία που συστήνει ο κατασκευαστής. Πραγματοποιήθηκε ανάστροφη μεταγραφή του ολικού RNA με τη χρήση του High Capacity cDNA Reverse transcription kit (Applied Biosystems International). Έγινε ποσοτική PCR πραγματικού χρόνου (Real Time PCR, RT-PCR) με τη βοήθεια του συστήματος Miniopticon RT PCR system (BIORAD) και χρησιμοποιήθηκαν εκκινητές για τον ανθρώπινο VEGF και το IQ SYBR Green Supermix (BIORAD). Χρησιμοποιήθηκε mRNA ανθρώπινης β-ακτίνης σαν μάρτυρας με τους ακόλουθους εκκινητές: forward 5'-CCAACCGCGAGAAGATGA-3', reverse 5'-CCAGAGCGTACAGGGATAG-3'. Χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθοι εκκινητές για τον ανθρώπινο VEGF: forward 5'-CCCACTGAGGAGTCCAACATC-3', reverse 5'-GGCCTT GGTGAGGTTTGATC-3'. Έγινε ενίσχυση (amplification) ως εξής: 50C για 2 λεπτά, 95C για 10 λεπτά και ακόλουθα 95C για 15 δευτερόλεπτα, 60 C για 60 δευτερόλεπτα για 40 κύκλους. Ακολούθησε καμπύλη τήξης (melting curve). Κάθε δείγμα αναλύθηκε 2 φορές. Ο μάρτυρας και η σχετική ποσοτική έκφραση του γονιδίου υπολογίστηκε με τη χρήση της μεθόδου DDCT και του λογισμικό σύστημα σχετικής έκφρασης (Relative expression software tool, REST). Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σαν σχετικές μονάδες.

2.5.ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Τα δεδομένα παρουσιάζονται σαν μέση τιμή±σταθερή απόκλιση (mean±SD) ή σαν διάμεση τιμή (25^η με 75^η εκατοστιαία μονάδα) (median, 25th to 75th percentile) ανάλογα με τη μορφή της κατανομής των δεδομένων (δοκιμασία Kolmogorov-Smirnov). Η σύγκριση μεταξύ των ομάδων έγινε με το Student's *t* test ή το Mann-Whitney U-test σύμφωνα με την κανονικότητα ή όχι της κατανομής. Η εξέταση των συσχετίσεων έγινε με Pearson's correlation coefficient για τα δεδομένα που είχαν κανονική κατανομή και με Spearman's correlation coefficient για δεδομένα με μη κανονική κατανομή. Τιμές $p < 0,05$ θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS 16 (SPSS Chicago, IL).

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης συνοψίζονται στον Πίνακα 1. Στην παρούσα μελέτη συμμετείχαν 23 ασθενείς με ΙΠΠ (19 άνδρες/4 γυναίκες) και 15 υγιείς εθελοντές (12 άνδρες/3 γυναίκες). Οι ασθενείς και οι υγιείς εθελοντές δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά ως προς την ηλικία και το φύλο. Η ηλικία των ασθενών ήταν $68,42 \pm 6,25$ έτη και των μαρτύρων ήταν $65,5 \pm 3,51$ έτη ($p > 0,05$). Δεκαεπτά ασθενείς ήταν πρώην καπνιστές και 6 μη καπνιστές ενώ 10 μάρτυρες ήταν πρώην καπνιστές και 5 μη καπνιστές. Ο αριθμός των μονοκυττάρων στο περιφερικό αίμα δε διέφερε στατιστικά σημαντικά στους ασθενείς έναντι των εθελοντών ($632,16 \pm 189,45$ έναντι $610 \pm 124,23$ κύτταρα/ μL , $p > 0,05$). Οι πληθυσμοί των λευκοκυττάρων και των ερυθρών αιμοσφαιρίων στη γενική αίματος ήταν παρόμοιοι και εντός φυσιολογικών ορίων και στις δύο ομάδες της μελέτης.

Όλοι οι ασθενείς παρουσίαζαν δύσπνοια και περιοριστικό πρότυπο στο λειτουργικό έλεγχο του αναπνευστικού (Πίνακας 2). Η διαχυτική ικανότητα για το μονοξείδιο του άνθρακα (DLCO) ήταν μειωμένη σε όλους τους ασθενείς ($42,50 \pm 18,36\%$). Η μέση διάρκεια νόσου ως την ημερομηνία απομόνωσης των EPCs ήταν $38,00 \pm 31,03$ μήνες και η μέση επιβίωση μετά την κυτταρική καλλιέργεια ήταν 31,09 (95% CIs: 22,46-39,73) μήνες. Η συστολική πίεση στην πνευμονική αρτηρία (sPAP) στην ομάδα των ασθενών ήταν $39,59 \pm 12,35$ mmHg. Όπως αναμενόταν, οι ασθενείς παρουσίαζαν στατιστικά σημαντικά μειωμένη τιμή $\text{FVC}\%_{\text{προβλεπόμενη}}$ ($66,23 \pm 18,05$ έναντι $87,93 \pm 4,61$, $p < 0,05$), $\text{DLCO}\%_{\text{προβλεπόμενη}}$ ($42,50 \pm 18,36$ έναντι $87,49 \pm 4,89$, $p < 0,05$), $\text{RV}\%_{\text{προβλεπόμενη}}$ ($58,63 \pm 09,28$ έναντι $84,00 \pm 2,70$, $p < 0,05$) και $\text{TLC}\%_{\text{προβλεπόμενη}}$ ($71,45 \pm 15,32$ έναντι $87,10 \pm 5,07$, $p < 0,05$) σε σχέση με τους μάρτυρες.

Πίνακας 1. Δημογραφικά Χαρακτηριστικά και κύτταρα του αίματος στον πληθυσμό της μελέτης. Τα δεδομένα εκφράζονται σαν μέση τιμή±σταθερή απόκλιση.

Μεταβλητές	Υγιείς εθελοντές (n=15)	Ασθενείς ΙΠΙ (n=23)
Ηλικία (έτη)	65,5±3,51	68,42±6,25
Φύλο (Άνδρες/Γυναίκες)	12/3	19/4
Καπνιστική συνήθεια (Νυν/Πρώην/Μη καπνιστής)	0/10/5	0/17/6
Ερυθρά αιμοσφαίρια ($10^6 \mu\text{L}^{-1}$)	5,19±0,21	5,00±0,49
Λευκά αιμοσφαίρια ($10^3 \mu\text{L}^{-1}$)	7,62±1,95	8,01±156,40
Μονοκύτταρα (μL^{-1})	610±124,23	632,16±189,45

Πίνακας 2. Κλινικά χαρακτηριστικά (λειτουργικός έλεγχος του αναπνευστικού και αέρια αίματος) και συστολική πίεση στην πνευμονική αρτηρία του πληθυσμού της μελέτης. Τα δεδομένα εκφράζονται σαν μέση τιμή±σταθερή απόκλιση. * $p < 0.05$ σε σύγκριση με τους μάρτυρες.

Μεταβλητές	Μάρτυρες	Ασθενείς ΙΙΙ
FVC (% προβλεπόμενης)	87,93±4,61	66,23±18,05*
DLCO (% προβλεπόμενης)	87,49±4,89	42,50±18,36 *
RV (% προβλεπόμενης)	84,00±2,70	58,63±09,28*
TLC (% προβλεπόμενης)	87,10±5,07	71,45±15,32*
P _a O ₂ (mmHg)	-	81,8±9,46
P _a CO ₂ (mmHg)	-	40,07±3,99
P _(A-a) O ₂ (mmHg)	-	20,35±8,84
sPAP (mmHg)	-	39,59±12,35

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

FVC: Forced expiratory Vital Capacity (δυναμικά εκπνεόμενη ζωτική χωρητικότητα , DLCO: Diffusing Capacity of the lungs for Carbon Monoxide (διαχυτική ικανότητα του πνεύμονα για το μονοξείδιο του άνθρακα), RV: Residual Volume (υπολειπόμενος όγκος), TLC: Total lung capacity (ολική πνευμονική χωρητικότητα), PaO₂: partial pressure of oxygen in arterial blood (μερική πίεση οξυγόνου στο αρτηριακό αίμα, PaCO₂: partial pressure of carbon dioxide in arterial blood (μερική πίεση του διοξειδίου του άνθρακα στο αρτηριακό αίμα), P_(A-a)O₂: alveolar-arterial oxygen partial pressure (κυψελιδοτριχοειδική διαφορά), sPAP: systolic pressure in the pulmonary artery (συστολική πίεση στην πνευμονική αρτηρία),

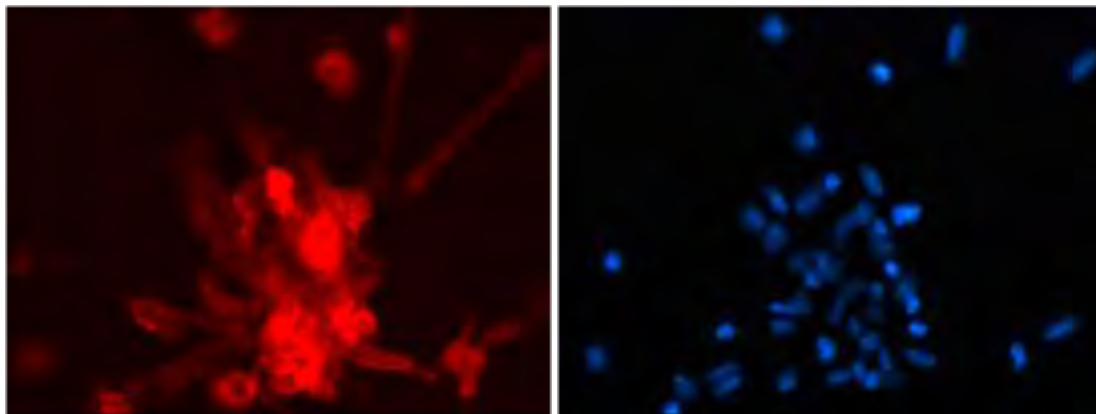
3.2.ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΙΚΙΩΝ ΤΩΝ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΩΝ ΠΡΟΔΡΟΜΩΝ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Στην Εικόνα 1 φαίνεται αντιπροσωπευτική φωτογραφία από οπτικό μικροσκόπιο μιας αποικίας των EPCs από έναν ασθενή με ΙΠΠ. Μορφολογικά οι αποικίες των EPCs χαρακτηρίζονταν από ένα κεντρικό κλάσμα σφαιρικών κυττάρων που περιβάλλονται από πολλαπλά, ακτινοειδή, λεπτά και επίπεδα κύτταρα. Αν και η συγκεκριμένη μορφολογία έχει κατοχυρωθεί βιβλιογραφικά ότι είναι χαρακτηριστική των EPCs³², επιβεβαιώσαμε την ενδοθηλιακή φύση των κυττάρων με έμμεσο ανοσοφθορισμό, με τη χρήση αντισωμάτων έναντι του υποδοχέα 2 του VEGF και έναντι του CD31. Αντιπροσωπευτικές εικόνες του έμμεσου ανοσοφθορισμού φαίνονται στις Εικόνες 2 και 3.

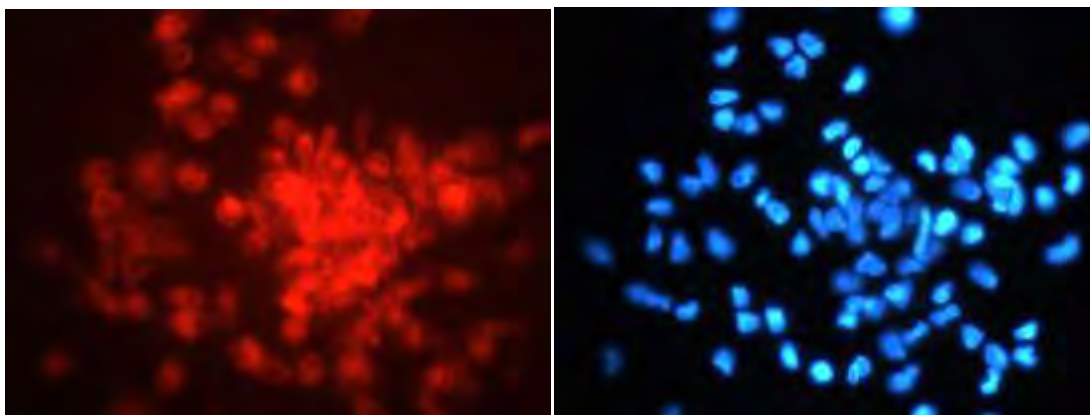
Εικόνα 1. *Αντιπροσωπευτική μικροφωτογραφία αποικίας των πρόδρομων ενδοθηλιακών κυττάρων σε ασθενή με Ιδιοπαθή Πνευμονική Ύψωση. 10x*



Εικόνα 2. Αντιπροσωπευτική μικροφωτογραφία ανοσοφθορισμού με τη χρήση αντισώματος έναντι του *CD31* (αριστερά). Η αντίστοιχη εικόνα με DAPI φαίνεται δεξιά. Για τον έλεγχο της μεθόδου, το αντίσωμα αντικαταστάθηκε από ίση ποσότητα του αντίστοιχου φυσιολογικού IgG αντισώματος. Στα πειράματα ελέγχου δεν παρατηρήθηκε σημαντικός ανοσοφθορισμός των αποικιών, επιβεβαιώνοντας την εγκυρότητα της μεθόδου. 20x



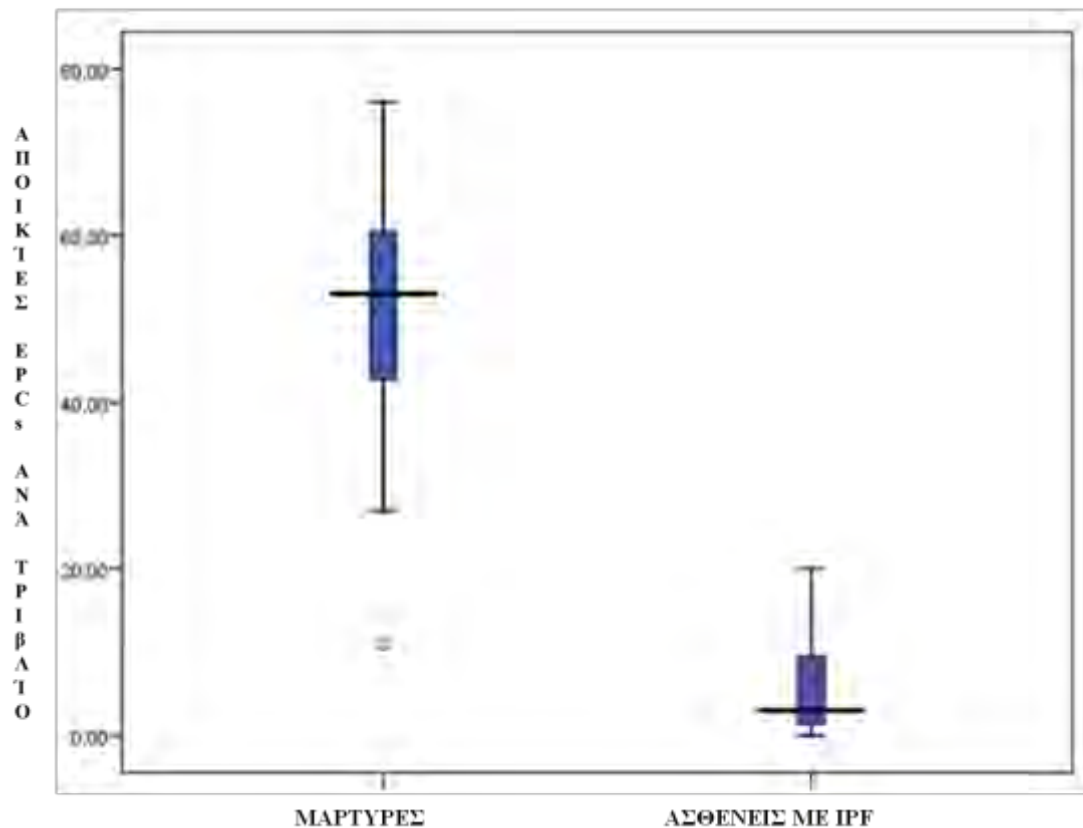
Εικόνα 3. Αντιπροσωπευτική μικροφωτογραφία ανοσοφθορισμού με τη χρήση αντισώματος έναντι του *VEGFR2* (αριστερά). Η αντίστοιχη εικόνα με DAPI φαίνεται δεξιά. Για τον έλεγχο της μεθόδου, το αντίσωμα αντικαταστάθηκε από ίση ποσότητα του αντίστοιχου φυσιολογικού IgG αντισώματος. Στα πειράματα ελέγχου δεν παρατηρήθηκε σημαντικός ανοσοφθορισμός των αποικιών, επιβεβαιώνοντας την εγκυρότητα της μεθόδου. 20x



3.3.ΕΠΙΠΕΔΑ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΩΝ ΠΡΟΔΡΟΜΩΝ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Ο αριθμός των κυττάρων που απομονώθηκαν στις 48 ώρες (ανώριμα μονοκύτταρα) δε διέφερε στατιστικά σημαντικά στους ασθενείς συγκριτικά με τους μάρτυρες ($8,4(7,06-9,84)\times 10^6$ έναντι $10,4(8,7-15,18)\times 10^6$ αντίστοιχα, $p=0,080$). Ωστόσο διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντικά μικρότερος αριθμός αποικιών ανά τριβλίο στους ασθενείς συγκριτικά με τους μάρτυρες ($6,00\pm 6,49$ έναντι $49,68\pm 16,73$, αντίστοιχα, $p<0,001$), (Εικόνα 4).

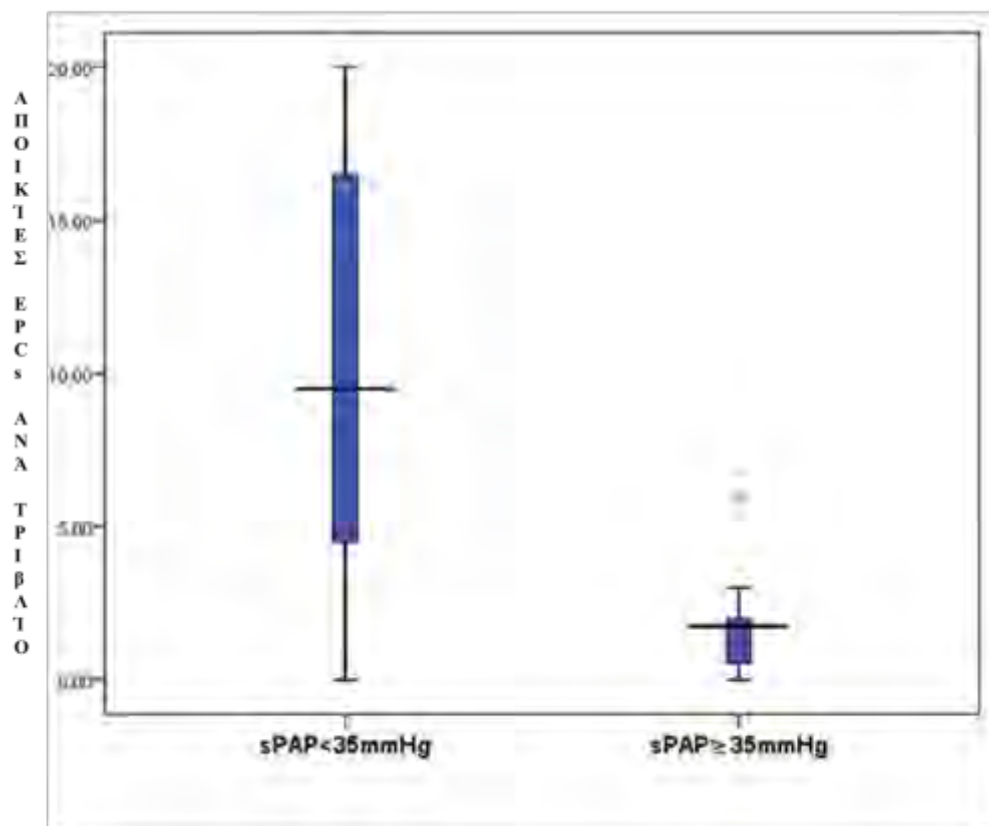
Εικόνα 4. Αριθμός αποικιών EPCs στο αίμα ασθενών με Ιδιοπαθή πνευμονική Τνωση και υγιών εθελοντών ($49,68\pm 16,73$ έναντι $6,00\pm 6,49$, αντίστοιχα, $p<0,001$)



3.4.ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΩΝ ΠΡΟΔΡΟΜΩΝ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΕ ΤΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΟΥ ΥΠΕΡΗΧΟΓΡΑΦΗΜΑΤΟΣ ΚΑΡΔΙΑΣ

Σε όλους τους ασθενείς οι καρδιακές κοιλότητες είχαν φυσιολογικό μέγεθος και καλή κινητικότητα τοιχωμάτων. Κανείς δεν παρουσίαζε ανεπάρκεια τριγλώχινας μεγαλύτερη των 2/4+. Σε ασθενείς με μικρή διαφυγή όπου το σήμα από την τριγλώχινα δεν ήταν πολύ καθαρό, ενισχύθηκε με έγχυση μικροφουσαλιδών από περιφερική φλέβα. Σε όλους τους ασθενείς και μάρτυρες έγινε καταγραφή συστολικού σήματος συνεχούς Doppler στην τριγλώχινα και μέτρηση της sPAP. Οι ασθενείς με ΠΠ χωρίστηκαν ανάλογα με την παρουσία ή απουσία πνευμονικής υπέρτασης. Παρατηρήθηκε ότι οι ασθενείς με πνευμονική υπέρταση (sPAP \geq 35mmHg) παρουσίαζαν στατιστικά σημαντικά μικρότερο αριθμό αποικιών έναντι εκείνων χωρίς πνευμονική υπέρταση (1,69 \pm 1,71 έναντι 9,95 \pm 6,77, p=0,001) (Εικόνα 5).

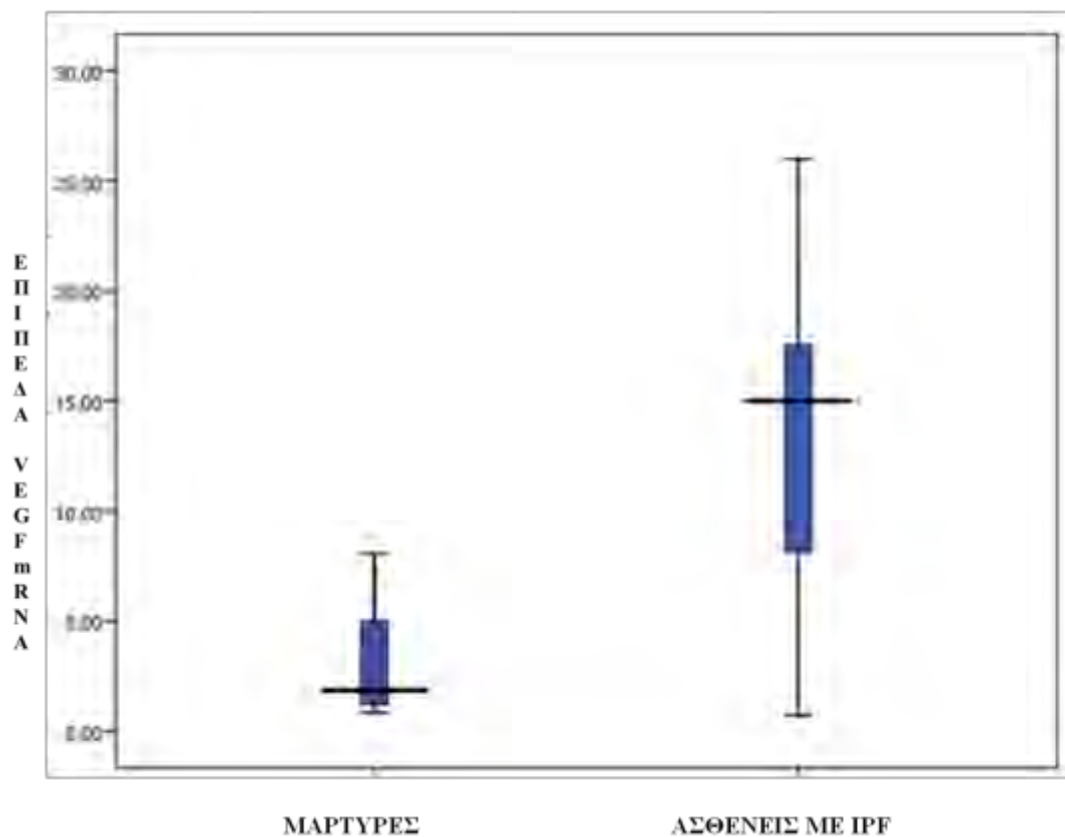
Εικόνα 5. Αριθμός αποικιών κυκλοφορούντων πρόδρομων ενδοθηλιακών κυττάρων στο αίμα ασθενών με Ιδιοπαθή Πνευμονική Ύψωση χωρίς πνευμονική υπέρταση ($sPAP < 35 \text{ mmHg}$) και ασθενών με Ιδιοπαθή Πνευμονική Ύψωση και πνευμονική υπέρταση ($sPAP \geq 35 \text{ mmHg}$) ($9,95 \pm 6,77$ έναντι $1,69 \pm 1,71$, αντίστοιχα, $p=0,001$)



3.5.ΕΝΔΟΓΕΝΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ VEGF ΑΠΟ ΤΑ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΑ ΠΡΟΔΡΟΜΑ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Μετρήσαμε τα επίπεδα VEGF mRNA των EPCs με PCR πραγματικού χρόνου (real-time PCR, RT PCR) και παρατηρήσαμε στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερα επίπεδα ενδογενούς έκφρασης του VEGF στην ομάδα των ασθενών σε σχέση με τους εθελοντές ($12,88 \pm 7,89$ έναντι $2,99 \pm 2,42$ αντίστοιχα, $p=0.002$) (Εικόνα 6). Δε διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση των συγκεντρώσεων VEGF mRNA με τον αριθμό των αποικιών στην ομάδα των υγιών εθελοντών ($p=0,383$) και στην ομάδα των ασθενών ($p=0,468$).

Εικόνα 6. Ενδογενής έκφραση του VEGF (VEGFmRNA) σε ασθενείς με ΙΠΙ και υγιείς εθελοντές ($2,99 \pm 2,42$ έναντι $12,88 \pm 7,89$ αντίστοιχα, $p=0,002$)



3.6.ΕΠΙΠΕΔΑ VEGF ΣΤΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΚΥΚΛΟΦΟΡΙΑ

Ασθενείς και εθελοντές δε διέφεραν στατιστικά σημαντικά ως προς τα επίπεδα VEGF στο πλάσμα (51,85(32,4-126,6) έναντι 42,18(25,34-56,59) αντίστοιχα, $p=0,283$). Δε διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση των συγκεντρώσεων VEGF με τον αριθμό των αποικιών στους ασθενείς με ΙΠΙ ($p=0,486$) και στους μάρτυρες ($p=0,565$).

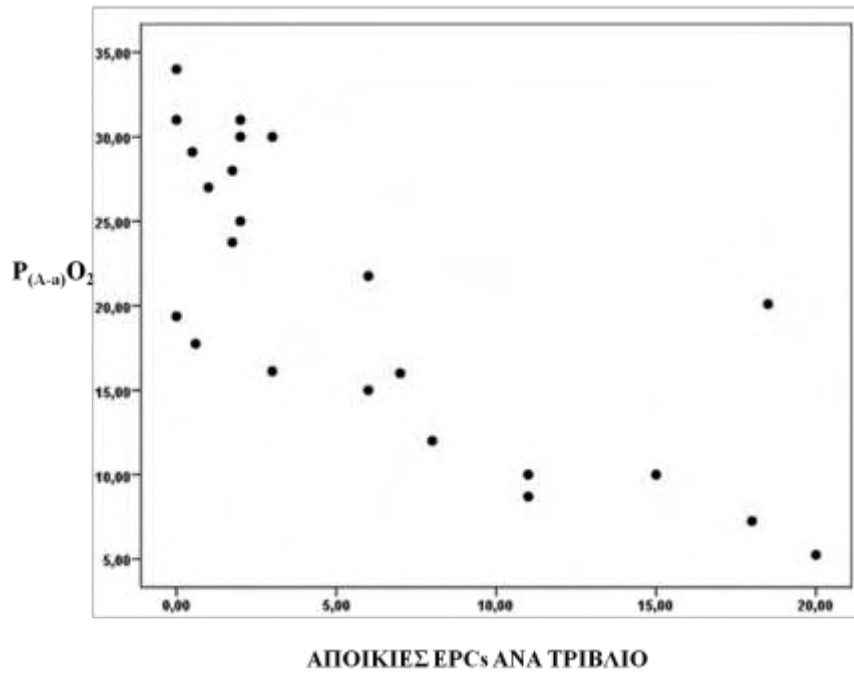
3.7.ΣΥΣΧΕΤΙΣΕΙΣ ΤΟΥ ΑΡΙΘΜΟΥ ΤΩΝ ΑΠΟΙΚΙΩΝ ΤΩΝ

ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΩΝ ΠΡΟΔΡΟΜΩΝ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΩΝ

ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση του αριθμού των αποικιών με τις ακόλουθες παραμέτρους: ηλικία, $FVC\%$ προβλεπόμενης, $DLCO\%$ προβλεπόμενης, $RV\%$ προβλεπόμενης, $TLC\%$ προβλεπόμενης, P_aO_2 , P_aCO_2 . Ωστόσο, ο αριθμός των αποικιών παρουσίαζε στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τη $P_{(A-a)}O_2$ ($p<0,001$, $r=-0,750$) (Εικόνα 7). Ο αριθμός των αποικιών δε διέφερε μεταξύ των ασθενών που απεβίωσαν και εκείνων που παρέμειναν στη ζωή ένα χρόνο μετά την απομόνωση των κυττάρων (5,85±7,40 έναντι 7,58±8,67, αντίστοιχα, $p=0,72$).

Εικόνα 7. Συσχέτιση του αριθμού αποικιών κυκλοφορούντων πρόδρομων ενδοθηλιακών κυττάρων ανά τριβλίο με τη κυψελιδοτριχοειδική διαφορά ($P_{(A-a)O_2}$, mmHg) σε ασθενείς με Ιδιοπαθή Πνευμονική Ίνωση ($p < 0,001$, $r = -0,750$)



ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

Προσδιορισμός των επιπέδων λεπτίνης και αδιπονεκτίνης σε ασθενείς με Ιδιοπαθή Πνευμονική Ύψωση

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση (Idiopathic Pulmonary Fibrosis, ΙΠΙ) είναι μια χρόνια μορφή ινοποιού πνευμονίας¹. Η αιτιολογία της νόσου παραμένει ακόμα άγνωστη με αποτέλεσμα την απουσία αποτελεσματικής θεραπείας και την κακή πρόγνωση. Η παθογένεια της ΙΠΙ είναι πολυπαραγοντική και πιθανά διάφοροι μηχανισμοί όπως η φλεγμονή, εμπλέκονται σε αυτή.

Η λεπτίνη είναι μια πρωτεΐνη που εκκρίνεται κυρίως από το λιπώδη ιστό. Ωστόσο, η λεπτίνη εκκρίνεται σε μικρότερα ποσά από άλλα όργανα όπως ο πνεύμονας¹⁵³. Μάλιστα, ο πνευμονικός ιστός εκφράζει και υποδοχείς λεπτίνης και έτσι φαίνεται ότι ο πνεύμονας έχει την ικανότητα να «απαντά» στο ερέθισμά της. Παλαιότερα πιστεύαμε ότι ο μοναδικός ρόλος της λεπτίνης είναι η ρύθμιση της πρόσληψης τροφής και του μεταβολισμού. Ωστόσο, πλέον γνωρίζουμε ότι η λεπτίνη συμμετέχει και σε άλλους μηχανισμούς όπως είναι η φλεγμονώδης απάντηση με προφλεγμονώδεις ιδιότητες. Μάλιστα έχει αποδειχθεί ότι τα αυξημένα επίπεδα λεπτίνης εμπλέκονται στη φλεγμονώδη απάντηση στο ήπαρ. Επίσης έχει διαπιστωθεί ότι η λεπτίνη είναι απαραίτητη για την επαγωγή του TGF (transforming growth factor) β με τελικό αποτέλεσμα την κίρρωση (ίνωση του ήπατος)¹²⁰. Η αδιπονεκτίνη είναι μια άλλη πρωτεΐνη του λιπώδη ιστού που έχει αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η αδιπονεκτίνη ανταγωνίζεται την προϊνωτική δράση της λεπτίνης στο ήπαρ και μάλιστα η αδιπονεκτίνη αναστέλλει την επαγόμενη από τον TGF-β έκκριση προϊνωτικών κυτταροκινών, όπως ο αυξητικός παράγοντας του συνδετικού ιστού (connective tissue growth factor, CTGF), στον ηπατικό ιστό^{111,154}. Ωστόσο, ο ρόλος και η πιθανή συμμετοχή της λεπτίνης και της αδιπονεκτίνης στην πνευμονική ίνωση δεν έχει μελετηθεί ως σήμερα.

Με βάση τα παραπάνω υποθέσαμε ότι η λεπτίνη και η αδιπονεκτίνη μπορεί να συμμετέχουν στην παθογένεια της ΙΠΠ. Σκοπός του πρωτοκόλλου αυτού ήταν να προσδιορίσει τα επίπεδα λεπτίνης και αδιπονεκτίνης σε ασθενείς με ΙΠΠ και να διερευνήσει κατά πόσο τα επίπεδα αυτά σχετίζονται με τη βαρύτητα της νόσου όπως αυτή εκφράζεται από τα αέρια αίματος, το λειτουργικό έλεγχο του αναπνευστικού κ.α.. Επίσης, στόχος ήταν να προσδιοριστούν τα επίπεδα λεπτίνης στο συμπύκνωμα εκπνεόμενου αέρα και στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα ασθενών με ΙΠΠ.

2. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

2.1. ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Στην παρούσα μελέτη συμμετείχαν 37 ασθενείς με ΙΠΠ και 22 υγιείς μη καπνιστές αντίστοιχης ηλικίας με την ομάδα των ασθενών. Η διάγνωση της ΙΠΠ τέθηκε με βάση τα διεθνή κριτήρια¹⁴. Λόγω της αναθεώρησης των κριτηρίων για τη διάγνωση της ΙΠΠ κατά τη διάρκεια της μελέτης, επανεξετάσαμε τη διάγνωση των ασθενών μας σύμφωνα με τις νέες θέσεις ομοφωνίας¹. Με βάση τα νέα κριτήρια βρέθηκε ότι όλοι συμμετέχοντες ασθενείς είχαν διάγνωση ΙΠΠ. Ασθενείς με άλλα γνωστά αίτια διάμεσης πνευμονικής νόσου, όπως τοξικότητα φαρμάκων, περιβαλλοντική έκθεση ή νοσήματα του συνδετικού ιστού αποκλείστηκαν από τη μελέτη. Οι ασθενείς προήλθαν από το Εξωτερικό Ιατρείο Διαμέσων Νοσημάτων της Πνευμονολογικής κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας κατά το διάστημα Ιούνιος 2008-Ιούνιος 2010. Η κλινική μελέτη έλαβε έγκριση από την Επιτροπή Δεοντολογίας του Νοσοκομείου μας και όλοι οι συμμετέχοντες υπέγραψαν

έντυπο συγκατάθεσης στη μελέτη. Οι ασθενείς οι οποίοι παρουσίαζαν παθήσεις που θα μπορούσαν να επηρεάσουν τα επίπεδα της λεπτίνης ή της αδιπονεκτίνης δεν συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη. Έτσι, αποκλείστηκαν οι ασθενείς εκείνοι οι οποίοι λάμβαναν κορτικοστεροειδή ή/και θειαζολιδινεδιόνες, έπασχαν από ηπατική ή νεφρική ανεπάρκεια, είχαν ιστορικό αυτοάνοσου νοσήματος ή ανέφεραν συμπτώματα συμβατά με λοίμωξη κατά χρονικό διάστημα 6 εβδομάδων πριν την εισαγωγή τους στη μελέτη. Κανένας από τους ασθενείς δεν ελάμβανε κορτικοστεροειδή και/ή ανοσοκατασταλτική θεραπεία. Στην ομάδα των μαρτύρων χρησιμοποιήθηκαν υγιείς εθελοντές αντίστοιχης ηλικίας με τους ασθενείς, με ελεύθερο ατομικό αναμνηστικό για νόσημα του αναπνευστικού, μη καπνιστές ή πρώην καπνιστές (αντίστοιχης καπνισματικής συνήθειας με την ομάδα των ασθενών. Οι μάρτυρες είχαν φυσιολογικό λειτουργικό έλεγχο του αναπνευστικού και δεν είχαν λάβει φαρμακευτική θεραπεία για διάστημα 1 μήνα πριν τη συμμετοχή τους στη μελέτη.

Από όλους τους ασθενείς ελήφθη αναλυτικό ιστορικό ενώ σε όλους τους συμμετέχοντες (ασθενείς και εθελοντές) πραγματοποιήθηκε λειτουργικός έλεγχος του αναπνευστικού και μέτρηση αερίων αίματος με εμπορικά διαθέσιμο αναλυτή αερίων (model 1630;Instrumentation Laboratories, Milan Italy) κατά την ίδια ημέρα λήψης του αίματος για τη μέτρηση των αδιποκινών. Η πραγματοποίηση του λειτουργικού ελέγχου του αναπνευστικού περιλάμβανε τη μέτρηση του FEV₁, της FVC, του λόγου FEV₁/FVC, της ολικής πνευμονικής χωρητικότητας (TLC), του υπολειπόμενου όγκου αέρα (RV), της διαχυτικής ικανότητας για το μονοξείδιο του άνθρακα (DLCO) και της διαχυτικής ικανότητας της διορθωμένης για τον κυψελιδικό αερισμό (DLCO/V_A). Τα αποτελέσματα των δοκιμασιών του λειτουργικού ελέγχου εκφράζονται σαν ποσοστά επί των προβλεπομένων τιμών. Οι δοκιμασίες πραγματοποιήθηκαν από έναν τεχνικό ο οποίος δεν γνώριζε το ιατρικό ιστορικό των συμμετεχόντων σύμφωνα με τις

οδηγίες της Αμερικανικής Θωρακικής Εταιρείας (American Thoracic Society, ATS)¹⁴⁸.

2.2. ΥΠΕΡΗΧΟΚΑΡΔΙΟΓΡΑΦΗΜΑ ΚΑΡΔΙΑΣ

Όλοι οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε διαθωρακικό υπερηχοκαρδιογράφημα από έναν ερευνητή ο οποίος δεν γνώριζε τα αποτελέσματα των βιοχημικών αναλύσεων και του λειτουργικού ελέγχου του αναπνευστικού. Η εξέταση έγινε κατά την ίδια επίσκεψη που πραγματοποιήθηκε η αιμοληψία για τη μέτρηση των αδιποκινών. Πραγματοποιήθηκε έγχρωμο Doppler M-mode, δύο διαστάσεων και Tissue Doppler imaging (TDI) με τη χρήση της συνήθους μεθόδου και με έναν υπερηχοκαρδιογράφο ο οποίος είναι διαθέσιμος στο εμπόριο (GE Medical Systems-Vivid 3, Milwaukee, WI, USA, με μετατροπέα 1.5-3.6 MHz).

Η ύπαρξη ανεπάρκειας διαφυγής της τριγλώχινος βαλβίδας υπολογίστηκε με έγχρωμο Doppler και η μέγιστη ταχύτητα ροής υπολογίστηκε με τη βοήθεια συνεχούς παλμικού Doppler. Η κλίση πίεσης διαμέσου της τριγλώχινος υπολογίστηκε με τη βοήθεια της εξίσωσης του Bernoulli¹⁴⁹. Χρησιμοποιήθηκε η υψηλότερη ταχύτητα η οποία παρατηρήθηκε από διάφορες οπτικές γωνίες. Αναδευμένος φυσιολογικός ορός χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να ενισχυθεί το σήμα του Doppler αν θεωρούνταν απαραίτητο¹⁵⁰. Η διάμετρος της κάτω κοίλης φλέβας και οι μεταβολές που παρουσίαζε με τις αναπνευστικές κινήσεις χρησιμοποιήθηκαν για να εκτιμηθεί η πίεση στο δεξιό κόλπο η οποία προστέθηκε στην κλίση πίεσης διαμέσου της τριγλώχινος προκειμένου να υπολογιστεί η συστολική πίεση στην πνευμονική αρτηρία. Όλα τα αποτελέσματα των μετρήσεων αποτελούσαν τις μέσες τιμές τουλάχιστον τριών διαφορετικών παλμών.

Ήπια ή μέτρια ανεπάρκεια τριγλώχινος διαπιστώθηκε σε όλους σχεδόν τους ασθενείς επιτρέποντας ένα καλό παράθυρο παρατήρησης Doppler. Παρόλο που η λειτουργικότητα της δεξιάς κοιλίας δεν αποτελούσε κριτήριο αποκλεισμού όλοι οι ασθενείς είχαν καλή συστολική λειτουργία χωρίς διάταση της δεξιάς κοιλίας ενώ το μεσοκοιλιακό διάφραγμα παρουσίαζε φυσιολογική κινητικότητα. Όλοι οι ασθενείς είχαν φλεβοκομβικό ρυθμό με καρδιακή συχνότητα μικρότερη από 100 σφύξεις/λεπτό κατά τη διάρκεια των μετρήσεων. Η συστολική πίεση στην πνευμονική αρτηρία πάνω από 35mmHg χρησιμοποιήθηκε σαν όριο για τον καθορισμό της ύπαρξης πνευμονικής υπέρτασης¹⁵¹.

2.3.ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΑΙΜΑΤΟΣ

Δείγματα αίματος συλλέχθηκαν από όλους τους ασθενείς και τα άτομα της ομάδας ελέγχου. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στα 1500g για 10 λεπτά στους 4°C και ο ορός συλλέχθηκε και αποθηκεύτηκε στους -80°C μέχρι τη μέτρηση της λεπτίνης και της αδιπονεκτίνης. Τα επίπεδα της λεπτίνης και της αδιπονεκτίνης στον ορό μετρήθηκαν με ραδιοανοσομέθοδο (radioimmunoassay, RIA) με τη βοήθεια εμπορικά διαθέσιμων kit (KIPMR44, DIASource Europe SA, Belgium και LINCO Research, USA, αντίστοιχα) και σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.

2.4.ΣΥΜΠΥΚΝΩΜΑ ΕΚΠΝΕΟΜΕΝΟΥ ΑΕΡΑ (EXHALED BREATH CONDENSATE, EBC)

Το συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα (exhaled breath condensate, EBC) συλλέχτηκε με τη βοήθεια ενός εμπορικά διαθέσιμου συστήματος (EcoScreen; Erich Jaeger Viasys; Hoechberg, Germany), σύμφωνα με τις διεθνείς οδηγίες της

Αμερικάνικης και της Ευρωπαϊκής Εταιρείας Νοσημάτων Θώρακα (ATS/ERS)¹⁵⁵. Οι ασθενείς βρίσκονταν σε καθιστή θέση και τους ζητούνταν να αναπνέουν ήρεμα (στο επίπεδο του αναπνεόμενου όγκου) και με φυσιολογική συχνότητα μέσω ενός επιστομίου και μιας βαλβίδας η οποία εμπόδιζε την επανεισπνοή και ήταν συνδεδεμένη με το σύστημα. Όλοι οι ασθενείς έφεραν ρινοπίεστρα καθ' όλη τη διάρκεια της διαδικασίας. Η διάρκεια της συλλογής των δειγμάτων ήταν 10 λεπτά και περίπου 2 mL δείγματος συλλεγόταν και χωριζόταν σε τρία μέρη. Το ένα μέρος χρησιμοποιούταν άμεσα για τη μέτρηση του pH ενώ τα άλλα δύο τοποθετούνταν στους -80°C για την πραγματοποίηση των υπολοίπων μετρήσεων.

Το pH στο EBC υπολογίστηκε αμέσως μετά από τη συλλογή του δείγματος όπως έχει περιγραφεί στο παρελθόν¹⁵⁶. Η σταθεροποίηση του pH επιτεύχθηκε σε όλες τις περιπτώσεις με πραγματοποίηση αφαίρεσης του αέρα από το δείγμα με τη χρήση ενός αδρανούς αερίου (argon, 350 ml/min για 10 λεπτά). Η τιμή του pH μετρήθηκε με τη χρήση ενός εμπορικά διαθέσιμου pHμέτρου (Model 3510, Jenway, Essex, UK). Η λεπτίνη στο EBC μετρήθηκε με τη βοήθεια ενός εμπορικά διαθέσιμου kit ELISA (Ray Biotech Inc). Το κατώτερο όριο ανίχνευσης της λεπτίνης ήταν 2 pg/ml.

2.5.ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΣΤΟ ΒΡΟΓΧΟΚΥΨΕΛΙΑΙΚΟ ΕΚΠΛΥΜΑ

(BRONCHOALVEOLAR LAVAGE, BAL)

Εικοσιτρείς (23) από τους ασθενείς υποβλήθηκαν και σε βρογχοσκόπηση με εύκαμπτο βρογχοσκόπιο και βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα (bronchoalveolar lavage, BAL). Η είσοδος του βρογχοσκοπίου έγινε από τη ρινική κοιλότητα και το βρογχοσκόπιο σφηνώθηκε σε τμηματικό βρόγχο του μέσου λοβού. Πραγματοποιήθηκε έγχυση 100ml φυσιολογικού ορού (37C) τμηματικά ανά 20 ml. Η έγχυση έγινε κατά τη διάρκεια της εισπνοής και το υγρό παρέμεινε για 10 sec προτού

αναρροφηθεί ήπια σε μία σύριγγα κατά τη διάρκεια της εκπνοής. Είκοσι (20) ml από το BAL διηθήθηκε από νάυλον γάζα ώστε να απομακρυνθεί η βλέννη και φυγοκεντρούνταν στα 400g για 10 λεπτά στους 4°C. Το υπερκείμενο συλλέχθηκε και αποθηκεύθηκε στους 80°C μέχρι τη μέτρησή της λεπτίνης. Δεκαπέντε (15) λεπτά πριν την έναρξη της βρογχοσκόπησης συλλέχθηκε φλεβικό αίμα το οποίο φυγοκεντρήθηκε στα 1500g για 10 λεπτά στους 4°C και ο ορός συλλέχθηκε και αποθηκεύτηκε στους -80°C μέχρι τη μέτρησή της λεπτίνης. Η λεπτίνη στο BAL μετρήθηκε με τη βοήθεια ενός εμπορικά διαθέσιμου kit ELISA (Ray Biotech Inc). Το κατώτερο όριο ανίχνευσης της λεπτίνης ήταν 2 pg/ml.

2.6.ΣΥΣΤΑΣΗ ΜΑΖΑΣ ΣΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΔΕΙΚΤΗΣ ΜΑΖΑΣ ΣΩΜΑΤΟΣ

(BODY MASS INDEX, BMI)

Για τη μέτρηση της σύστασης της μάζας του σώματος των ασθενών χρησιμοποιήθηκε ένας εμπορικά διαθέσιμος αναλυτής μάζας σώματος (BIA 101 System Analyser, Analyser, Akern, Florence, Italy) ο οποίος χρησιμοποιεί τη μέθοδο βιοηλεκτρικής αντίστασης. Η μέθοδος αυτή επιτρέπει τον καθορισμό της ελεύθερης λίπους μάζας σώματος (fat free mass, FFM) και την ποσότητα του ολικού νερού του σώματος σε ασθενείς οι οποίοι δεν έχουν σημαντικές διαταραχές υγρών και ηλεκτρολυτών¹⁵⁷. Οι ασθενείς παρέμεναν σε ύπτια θέση για τουλάχιστον μισή ώρα και τέσσερα ηλεκτρόδια του αναλυτή τοποθετούνταν στα άκρα. Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν μετά από νηστεία τουλάχιστον 8 ωρών και σύμφωνα με τις οδηγίες που έχουν δημοσιευθεί πρόσφατα¹⁵⁸.

Ο δείκτης μάζας σώματος (body mass index, BMI) υπολογίστηκε με την παρακάτω εξίσωση: $\text{βάρος(Kg)}/\text{ύψος(m)}^2$. Το ύψος των ασθενών υπολογίστηκε με αναλογικό μετρητή με μέγιστη απόκλιση 0,5 εκ. Το βάρος σώματος μετρήθηκε με

ψηφιακό μετρητή με μέγιστη απόκλιση 0,1 Kg ενώ οι ασθενείς φορούσαν ελάχιστη ένδυση και χωρίς υποδήματα.

2.7.ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΤΗΣ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΗΣ ΜΕ ΤΗΝ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΥΓΕΙΑΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΖΩΗΣ

Η σχετιζόμενη με την κατάσταση της υγείας ποιότητα ζωής κάθε ασθενούς εκτιμήθηκε με τη βοήθεια του ερωτηματολογίου του Saint George¹⁵⁹. Το ερωτηματολόγιο υπολογίζει 3 παραμέτρους (τα συμπτώματα, τη δραστηριότητα και την επίδραση της νόσου στην καθημερινή ζωή) ενώ παρέχει και μια συνολική βαθμολογία.

2.8.ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

Τα δεδομένα παρουσιάζονται σαν μέση τιμή±σταθερή απόκλιση ή σαν διάμεση τιμή (25-75 εκατοστημόριο). Η κατανομή του δείγματος προσδιορίστηκε με τη δοκιμασία Kolmogorov-Smirnov. Οι συγκρίσεις μεταξύ των ασθενών και της ομάδας ελέγχου έγιναν με τη μέθοδο student's *t* test ή Mann-Whitney U-test ανάλογα με την κατανομή του δείγματος. Τα αποτελέσματα αναλύθηκαν με Spearman's correlation coefficient για τις μεταβλητές οι οποίες δεν εμφάνιζαν κανονική κατανομή και Pearson's correlation coefficient για τις μεταβλητές οι οποίες εμφάνιζαν κανονική κατανομή. Η ανάλυση συνδιακύμανσης (analysis of covariance) χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να προσαρμοστούν οι τιμές των αδιποκινών με βάση τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά. Η τιμή $p < 0,05$ θεωρήθηκε σαν το όριο της στατιστικής σημαντικότητας. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS 16 (SPSS, Chicago, IL).

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ο πληθυσμός της μελέτης αποτελείται από 37 ασθενείς με ΙΠΙ (33 άνδρες/4 γυναίκες) και 22 υγιείς εθελοντές (11 άνδρες/11 γυναίκες). Τα κλινικά και δημογραφικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης συνοψίζονται στον Πίνακα 1. Οι ασθενείς και οι εθελοντές δε διέφεραν στατιστικά σημαντικά ως προς την ηλικία και τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά. Η ηλικία των ασθενών ήταν $68,8 \pm 8,25$ έτη και των μαρτύρων $67,9 \pm 7,35$ έτη ($p > 0,05$). Εικοσιτέσσερις (24) ασθενείς ήταν πρώην καπνιστές και 13 μη καπνιστές ενώ 15 μάρτυρες ήταν πρώην καπνιστές και 7 μη καπνιστές ($p > 0,05$). Στη μελέτη δε συμμετείχαν νυν καπνιστές. Ασθενείς και εθελοντές δε διέφεραν στατιστικά σημαντικά ως προς το BMI ($28,88 \pm 3,64$ έναντι $26,15 \pm 4,20$ Kg/m², $p > 0,05$). Η λιπώδης μάζα ήταν $36,53 \pm 11,21$ (% του σωματικού βάρους) στην ομάδα των ασθενών. Η PaO₂ ήταν $74,98 \pm 14,85$ mmHg και η PCO₂ ήταν $37,79 \pm 4,36$ mmHg.

Τα αποτελέσματα του λειτουργικού ελέγχου και του διαθωρακικού υπερηχογραφήματος καρδιάς παρουσιάζονται στον Πίνακα 2. Όλοι οι ασθενείς παρουσίαζαν περιοριστικό πρότυπο στη σπιρομέτρηση. Όπως αναμενόταν, η FVC%_{προβλεπόμενης} βρέθηκε στατιστικά σημαντικά μειωμένη στην ομάδα των ασθενών έναντι των μαρτύρων ($75,73 \pm 19,51$ έναντι $84,29 \pm 3,91$, αντίστοιχα). Όμοια η διαχυτική ικανότητα ήταν στατιστικά σημαντικά μικρότερη στους ασθενείς συγκριτικά με τους μάρτυρες ($47,60 \pm 15,47$ έναντι $92,24 \pm 3,20$ αντίστοιχα). Όπως φαίνεται στον Πίνακα 2, βρέθηκε ότι η RV%_{προβλεπόμενης} και η TLC%_{προβλεπόμενης} στους ασθενείς ήταν στατιστικά σημαντικά μειωμένη έναντι των μαρτύρων (Πίνακας 2). Η συστολική πίεση στην πνευμονική αρτηρία ήταν $38,23 \pm 14,24$ mmHg.

Πίνακας 1. Κλινικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης. Τα δεδομένα εκφράζονται σαν μέση τιμή±σταθερή απόκλιση, σαν απόλυτες τιμές ή ποσοστά ($p>0,05$ σε όλες τις περιπτώσεις).

Μεταβλητές	Μάρτυρες (n=22)	Ασθενείς ΠΠ (n=37)
Φύλο (Α/Γ)	11/11	33/4
Ηλικία (έτη)	67,9±7,35	68,8±8,25
Πρώην καπνιστές/Μη καπνιστές	15/7	24/13
BMI (Kg/m ²)	26.15±4.20	28.88±3.64
Λιπώδης μάζα (% σωματικού βάρους)	-	36,53±11,21
P _a O ₂ (mmHg)	-	74,98±14,85
P _a CO ₂ (mmHg)	-	37,79±4,36

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

BMI: Body Mass Index (Δείκτης μάζας σώματος), PaO₂: partial pressure of oxygen in arterial blood (μερική πίεση οξυγόνου στο αρτηριακό αίμα), PaCO₂: partial pressure of carbon dioxide in arterial blood (μερική πίεση του διοξειδίου του άνθρακα στο αρτηριακό αίμα)

Πίνακας 2. Αποτελέσματα του λειτουργικού ελέγχου του αναπνευστικού και του υπερηχογραφήματος καρδιάς. Τα δεδομένα εκφράζονται σαν μέση τιμή±σταθερή απόκλιση. * $p < 0,05$ έναντι των μαρτύρων

Μεταβλητές	Μάρτυρες (n=22)	Ασθενείς ΙΙΙ (n=37)
FVC (% προβλεπόμενης)	84,29±3,91	75,73±19,51*
DLCO (% προβλεπόμενης)	92,24±3,20	47,60±15,47*
RV (% προβλεπόμενης)	80,03±4,55	62,68±11,20*
TLC (% προβλεπόμενης)	91,07±2,99	74,60±19,69*
sPAP (mmHg)	-	38,23±14,24

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

FVC: Forced expiratory Vital Capacity (δυναμικά εκπνεόμενη ζωτική χωρητικότητα , DLCO: Diffusing Capacity of the lungs for Carbon Monoxide (διαχυτική ικανότητα του πνεύμονα για το μονοξείδιο του άνθρακα), RV: Residual Volume (υπολειπόμενος όγκος), TLC: Total lung capacity (ολική πνευμονική χωρητικότητα), sPAP: systolic pressure in the pulmonary artery (συστολική πίεση στην πνευμονική αρτηρία)

3.2.ΕΠΙΠΕΔΑ ΛΕΠΤΙΝΗΣ ΚΑΙ ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ ΣΤΟΝ ΟΡΟ

Τα επίπεδα λεπτίνης και αδιπονεκτίνης του πληθυσμού της μελέτης συνοψίζονται στον Πίνακα 3. Τα επίπεδα της λεπτίνης διαφέρουν σημαντικά μεταξύ των φύλων και για αυτό το λόγο χωρίσαμε ασθενείς και εθελοντές σε δύο ομάδες, γυναίκες και άνδρες και συγκρίναμε τους ασθενείς με τους εθελοντές του ίδιου φύλου μεταξύ τους. Τα επίπεδα της λεπτίνης δε διέφεραν στατιστικά σημαντικά στους άνδρες ασθενείς συγκριτικά με τους άνδρες μάρτυρες ($9,67 \pm 6,12$ έναντι $9,35 \pm 9,77$, αντίστοιχα, $p > 0,05$) και στις γυναίκες ασθενείς συγκριτικά με τις γυναίκες μάρτυρες ($31,45 \pm 19,17$ vs $12,08 \pm 3,05$, αντίστοιχα, $p > 0,05$). Τα επίπεδα λεπτίνης παρουσίαζαν στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση με το BMI σε ασθενείς και υγιείς εθελοντές ($p = 0,008$ και $p = 0,018$, αντίστοιχα).

Τα επίπεδα των δύο αδιποκινών συγκρίθηκαν μετά από προσαρμογή για τα επίπεδα BMI. Τα επίπεδα λεπτίνης δε διέφεραν στατιστικά σημαντικά στους άνδρες ασθενείς συγκριτικά με τους άνδρες μάρτυρες και στις γυναίκες ασθενείς συγκριτικά με τις γυναίκες εθελοντές. Όμοια, τα επίπεδα αδιπονεκτίνης δε διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ ασθενών και μαρτύρων μετά την προσαρμογή για τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά.

Πίνακας 3. Τα επίπεδα λεπτίνης και αδιπονεκτίνης στον ορό, στο EBC και στο BAL του πληθυσμού της μελέτης. Τα δεδομένα εκφράζονται σαν μέση τιμή±σταθερή απόκλιση. $p>0,05$ σε όλες τις περιπτώσεις

Μεταβλητές	Μάρτυρες	Ασθενείς ΙΠΠ
Λεπτίνη (άνδρες, ορός, ng/ml)	9,35±9,77	9,67±6,12
Λεπτίνη (γυναίκες, ορός, mg/ml)	12,08±3,05	31,45±19,17
Αδιπονεκτίνη (ορός, mg/ml)	10,12±6,35	10,41±5,04
Λόγος λεπτίνης/αδιπονεκτίνης (άνδρες, ορός)	1,61±1,14	1,29±1,18
Λόγος λεπτίνης/αδιπονεκτίνης (γυναίκες, ορός)	1,92±1,37	3,26±2,61
Λεπτίνη (EBC, ng/ml)	-	0,292±0,06
Λεπτίνη (BAL, ng/ml)	-	0,153±0,07

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

EBC: Exhaled breath condensate (συμπύκνωμα εκπνεόμενου αέρα), BAL: Bronchoalveolar lavage (βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα)

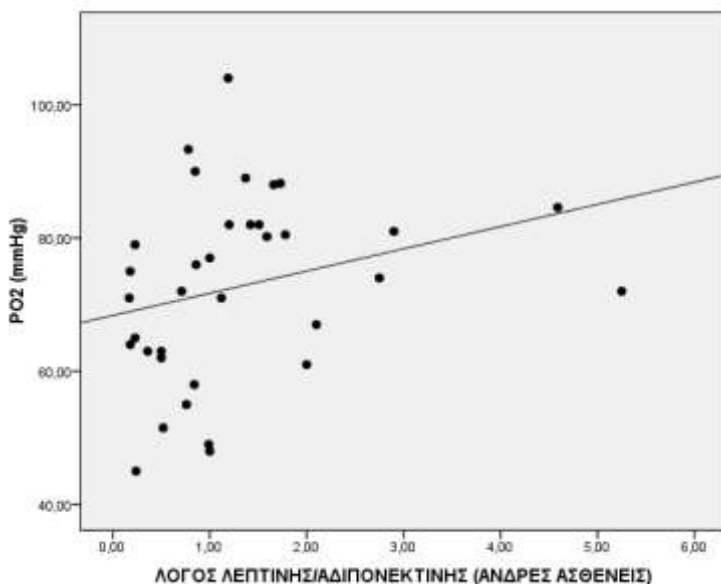
Ο λόγος λεπτίνης/αδιπονεκτίνης έχει χρησιμοποιηθεί σαν δείκτης της συστηματικής φλεγμονής¹⁶⁰. Έτσι, συγκρίναμε το λόγο λεπτίνης/αδιπονεκτίνης στους άνδρες ασθενείς και τους άνδρες εθελοντές και δε διαπιστώσαμε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων ($p=0,301$) (Πίνακας 3). Όμοια, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά του λόγου λεπτίνης/αδιπονεκτίνης στις γυναίκες ασθενείς έναντι των γυναικών εθελοντών ($p=0,489$)

3.3.ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΛΕΠΤΙΝΗΣ ΚΑΙ ΑΔΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ ΜΕ ΤΗ ΒΑΡΥΤΗΤΑ ΤΗΣ ΙΔΙΟΠΑΘΟΥΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗΣ ΊΝΩΣΗΣ

3.3.1. ΑΕΡΙΑ ΑΡΤΗΡΙΑΚΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

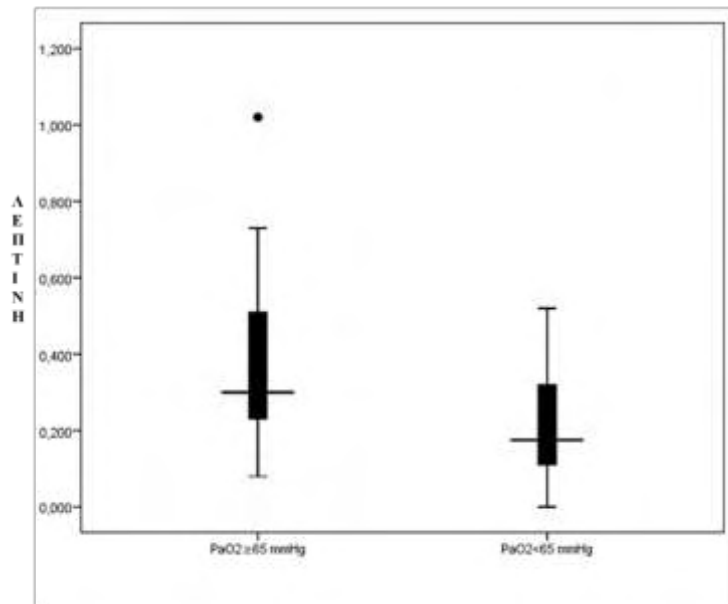
Δεν διαπιστώσαμε στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις των επιπέδων λεπτίνης και αδιπονεκτίνης με τη P_aO_2 και τη P_aCO_2 . Στη συνέχεια, ελέγξαμε για την ύπαρξη πιθανών συσχετίσεων μετά από κλασματοποίηση των ασθενών ως προς το φύλο. Δεν διαπιστώσαμε την παρουσία στατιστικά σημαντικών συσχετίσεων της λεπτίνης και της αδιπονεκτίνης στους άνδρες ασθενείς και της λεπτίνης και της αδιπονεκτίνης στις γυναίκες ασθενείς με τη P_aO_2 και τη P_aCO_2 . Ωστόσο παρατηρήσαμε ότι, ο λόγος λεπτίνης/αδιπονεκτίνης στους άνδρες ασθενείς σχετίζεται στατιστικά σημαντικά με τη P_aO_2 ($p=0,015$, $r=0,407$) (Εικόνα 1). Δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική σχέση του λόγου λεπτίνης/αδιπονεκτίνης στην ομάδα των γυναικών.

Εικόνα 1. Συσχέτιση του λόγου λεπτίνης/αδιπονεκτίνης με τη μερική πίεση οξυγόνου στο αρτηριακό αίμα (P_aO_2 , mmHg) στους άνδρες ασθενείς με Ιδιοπαθή Πνευμονική Ύψωση ($p=0,015$, $r=0,407$)

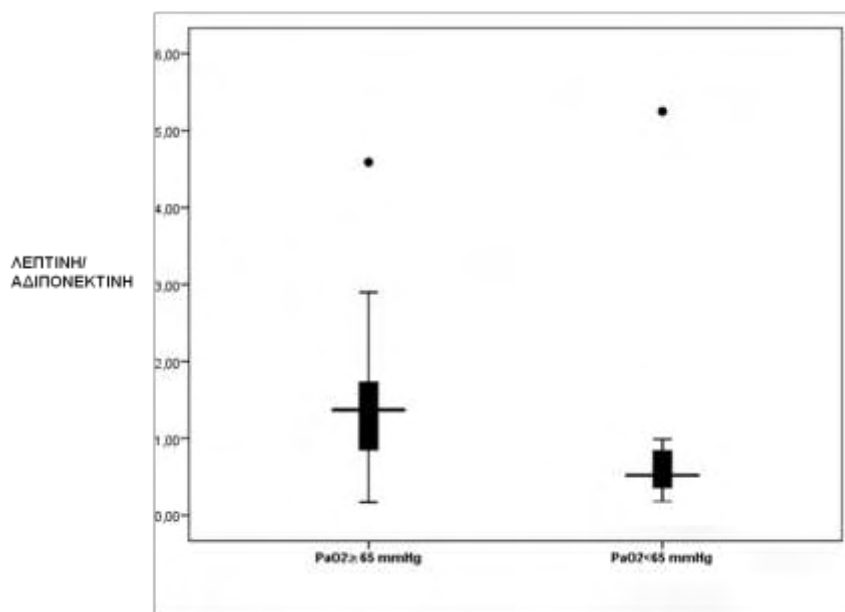


Έπειτα, εξετάσαμε την ύπαρξη συσχετίσεων μετά από προσαρμογή των επιπέδων λεπτίνης και αδιπονεκτίνης για το BMI. Μετά από προσαρμογή για το BMI, παρατηρήσαμε ότι τα επίπεδα λεπτίνης των ανδρών ασθενών με $P_aO_2 < 65$ ήταν στατιστικά σημαντικά μειωμένα συγκριτικά με τους άνδρες ασθενείς με $P_aO_2 \geq 65$ mmHg (0,21 vs 0,38, αντίστοιχα, $p=0,031$) (Εικόνα 2). Επιπλέον, ο λόγος λεπτίνης/αδιπονεκτίνης στους άνδρες ασθενείς με $P_aO_2 < 65$ mmHg ήταν στατιστικά σημαντικά μειωμένος συγκριτικά με τους άνδρες ασθενείς με $P_aO_2 \geq 65$ mmHg (1,07 vs 1,45, $p=0,045$, αντίστοιχα) (Εικόνα 3). Δεν παρατηρήθηκαν τα ίδια ευρήματα στο γυναικείο πληθυσμό της μελέτης.

Εικόνα 2. Επίπεδα λεπτίνης μετά από προσαρμογή για το BMI σε άνδρες ασθενείς με μερική πίεση οξυγόνου στο αρτηριακό αίμα ($PaO_2 \geq 65 \text{ mmHg}$) και $PaO_2 < 65 \text{ mmHg}$ ($p=0,031$)



Εικόνα 3. Λόγος λεπτίνης/αδιπονεκτίνης σε άνδρες ασθενείς με μερική πίεση οξυγόνου στο αρτηριακό αίμα (P_aO_2) ≥ 65 mmHg και $P_aO_2 < 65$ mmHg. Οι ασθενείς με $P_aO_2 < 65$ mmHg παρουσίαζαν σημαντικά μειωμένο λόγο λεπτίνης/αδιπονεκτίνης έναντι των ασθενών με $P_aO_2 \geq 65$ mmHg (1,07 vs 1,45, αντίστοιχα, $p=0,045$)



3.3.2. ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΟΥ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟΥ

Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της λεπτίνης, της αδιπονεκτίνης ή του λόγου λεπτίνης/αδιπονεκτίνης με τις τιμές του λειτουργικού ελέγχου του αναπνευστικού ($FVC\%$ προβλεπόμενης, $DLCO\%$ προβλεπόμενης, $RV\%$ προβλεπόμενης, $TLC\%$ προβλεπόμενης) στην ομάδα των ασθενών. Μετά από προσαρμογή των επιπέδων λεπτίνης για το BMI στους άνδρες ασθενείς παρατηρήθηκε αρνητική συσχέτιση με την IC που έτεινε να είναι στατιστικά σημαντική ($p=0,061$, $r=-0,381$). Δεν παρατηρήθηκε όμοια συσχέτιση στην ομάδα των γυναικών.

3.3.3. ΥΠΕΡΗΧΟΓΡΑΦΗΜΑ ΚΑΡΔΙΑΣ

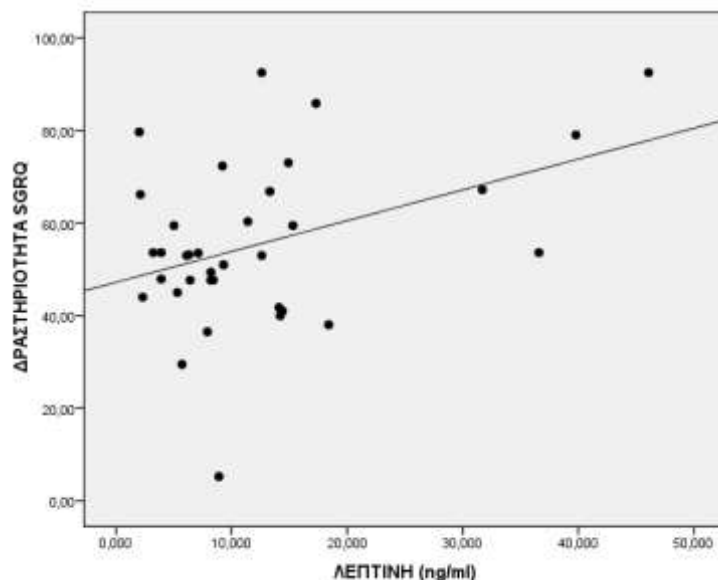
Παρατηρήσαμε θετική συσχέτιση των επιπέδων λεπτίνης (μετά από προσαρμογή για το BMI) και του λόγου λεπτίνης/αδιπονεκτίνης με τη sPAP στην ομάδα των ασθενών ($p=0,051$, $r=0,555$ και $p=0,062$, $r=0,531$, αντίστοιχα). Όταν έγινε κλασματοποίηση των ομάδων ως προς το φύλο δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση των επιπέδων λεπτίνης και αδιπονεκτίνης με τα αποτελέσματα του υπερηχογραφήματος καρδιάς.

3.3.4. ΠΟΙΟΤΗΤΑ ΖΩΗΣ

Παρατηρήσαμε ότι τα επίπεδα λεπτίνης παρουσιάζουν θετική συσχέτιση με τη συνολική βαθμολογία στο SGRQ ($p=0,061$, $r=0,320$) και στατιστικά σημαντικά θετική συσχέτιση με τη βαθμολογία που σχετίζεται με τη δραστηριότητα (activity score) ($p=0,018$, $r=0,396$) (Εικόνα 4). Επίσης παρατηρήθηκε αρνητική συσχέτιση των επιπέδων αδιπονεκτίνης με τη συνολική βαθμολογία στο SGRQ ($p=0,060$, $r=-0,321$) και με τη βαθμολογία που σχετίζεται με τη δραστηριότητα (activity score) ($p=0,052$, $r=-0,331$) που έτεινε να είναι στατιστικά σημαντική. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές συσχετίσεις της λεπτίνης και της αδιπονεκτίνης με τη βαθμολογία των συμπτωμάτων και της επίπτωσης της νόσου στην καθημερινή ζωή.

Ο λόγος λεπτίνης/αδιπονεκτίνης παρουσίαζε στατιστικά σημαντικά θετική συσχέτιση με τη συνολική βαθμολογία ($p=0,002$, $r=0,509$), με τη βαθμολογία που σχετίζεται με τη δραστηριότητα ($p=0,001$, $r=0,540$) και με τη βαθμολογία που σχετίζεται με την επίπτωση της νόσου στην καθημερινή ζωή ($p=0,039$, $r=0,392$). Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση του λόγου λεπτίνης/αδιπονεκτίνης με τη βαθμολογία των συμπτωμάτων.

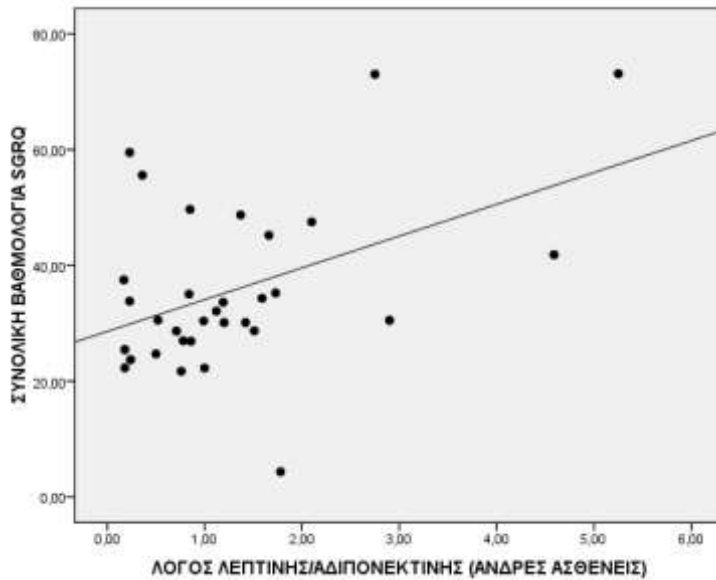
Εικόνα 4. Συσχέτιση των επιπέδων λεπτίνης στην ομάδα των ασθενών με τη συνολική βαθμολογία στο *saint George Respiratory Questionnaire* ($p=0,018$, $r=0,396$)



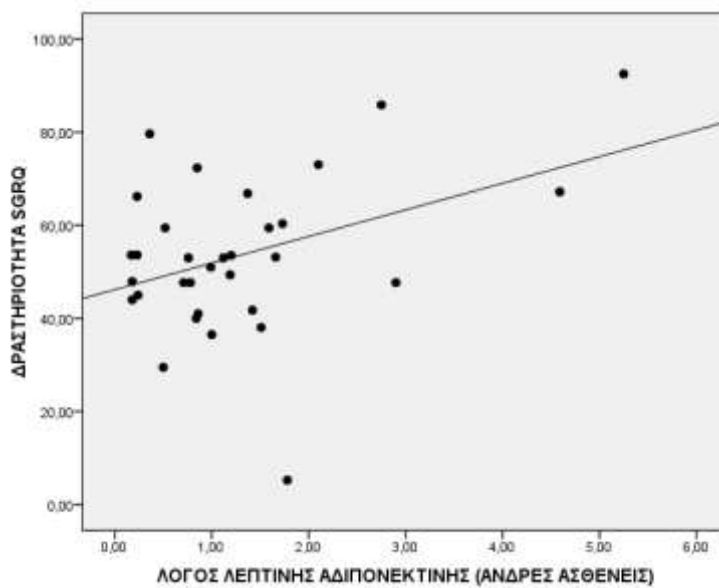
Στη συνέχεια έγινε κλασματοποίηση των ασθενών σε δύο ομάδες ανάλογα με το φύλο και αναλύθηκαν ξεχωριστά. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις των επιπέδων λεπτίνης με τη συνολική βαθμολογία, τη βαθμολογία των συμπτωμάτων, της δραστηριότητας και τη βαθμολογία που σχετίζεται με τη δραστηριότητα στην ομάδα των ανδρών και των γυναικών ασθενών.

Στην ομάδα των ανδρών ασθενών ο λόγος λεπτίνης/αδιπονεκτίνης παρουσίαζε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση με τη συνολική βαθμολογία του ερωτηματολογίου *saint George Respiratory Questionnaire* ($p=0,011$, $r=0,442$) (Εικόνα 5) που αντικατοπτρίζει χειρότερη σχετιζόμενη με την κατάσταση της υγείας ποιότητα ζωής. Επίσης, στους άνδρες ασθενείς παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση του λόγου λεπτίνης/αδιπονεκτίνης με τη βαθμολογία που σχετίζεται με τη δραστηριότητα (activity score, $p=0,023$, $r=0,400$) (Εικόνα 6).

Εικόνα 5. Συσχέτιση του λόγου λεπτίνης/αδιπονεκτίνης στους άνδρες ασθενείς με τη συνολική βαθμολογία στο *saint George Respiratory Questionnaire* ($p=0,011$, $r=0,442$)



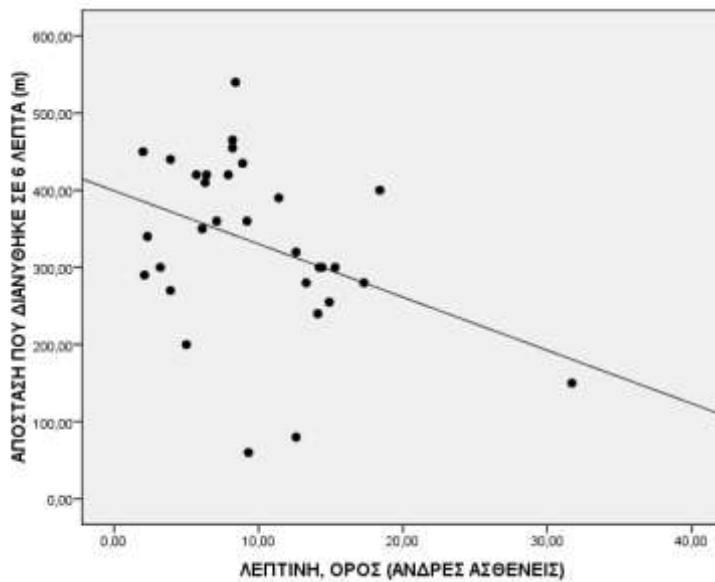
Εικόνα 6. Συσχέτιση του λόγου λεπτίνης/αδιπονεκτίνης στους άνδρες ασθενείς με τη βαθμολογία που σχετίζεται με τη δραστηριότητα στο *saint George Respiratory Questionnaire* ($p=0,023$, $r=0,400$)



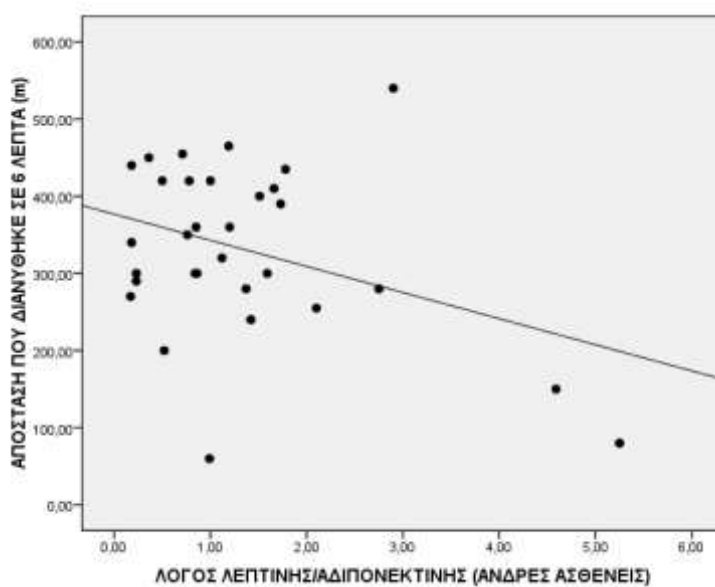
3.3.5. ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΒΑΔΙΣΗΣ 6 ΛΕΠΤΩΝ

Εξετάσαμε τις συσχετίσεις των δύο αδιποκινών και του λόγου τους, με τη συνολική απόσταση που διανύθηκε στη δοκιμασία βάρδισης 6 λεπτών και τον αποκορεσμό που παρατηρήθηκε κατά τη δοκιμασία. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις των επιπέδων λεπτίνης, αδιπονεκτίνης και του λόγου λεπτίνης αδιπονεκτίνης με την απόσταση που διανύθηκε ή με τη διαφορά του κορεσμού αιμοσφαιρίνης πριν και μετά από την δοκιμασία βάρδισης. Στη συνέχεια άνδρες και γυναίκες ασθενείς αναλύθηκαν ξεχωριστά. Παρατηρήσαμε ότι στην ομάδα των ανδρών τα επίπεδα λεπτίνης παρουσιάζουν αρνητική συσχέτιση με την απόσταση που διανύθηκε κατά τη δοκιμασία βάρδισης 6 λεπτών ($p=0,033$, $r=-0,383$) (Εικόνα 7). Δεν παρατηρήθηκε όμοια συσχέτιση με τα επίπεδα αδιπονεκτίνης. Επιπρόσθετα, ο λόγος λεπτίνης/αδιπονεκτίνης παρουσίαζε στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση με τη συνολική απόσταση στη δοκιμασία βάρδισης ($p=0,045$, $r=-0,362$) (Εικόνα 8).

Εικόνα 8. Συσχέτιση των επιπέδων λεπτίνης στον ορό στους άνδρες ασθενείς με την απόσταση που διανύθηκε κατά τη δοκιμασία βάρδισης 6 λεπτών ($p=0,033$, $r=-0,383$)



Εικόνα 8. Συσχέτιση του λόγου λεπτίνης/αδιπονεκτίνης στους άνδρες ασθενείς με την απόσταση που διανύθηκε κατά τη δοκιμασία βάρδισης 6 λεπτών ($p=0,045$, $r=-0,362$)



3.3.6. ΣΥΜΠΥΚΝΩΜΑ ΕΚΠΝΕΟΜΕΝΟΥ ΑΕΡΑ ΚΑΙ ΒΡΟΓΧΟΚΥΨΕΛΙΑΙΚΟ ΕΚΠΛΥΜΑ

Τα επίπεδα λεπτίνης στο EBC ήταν $0,29 \pm 0,06 \text{ ng/ml}$. Το pH του EBC ήταν $6,07 \pm 0,52$. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση των επιπέδων λεπτίνης στο EBC με τη συγκέντρωση λεπτίνης στον ορό που λήφθηκε σύγχρονα. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση των επιπέδων λεπτίνης στο EBC με τους δείκτες βαρύτητας της νόσου όπως ο λειτουργικός έλεγχος του αναπνευστικού, τα αέρια αίματος, η ποιότητα ζωής, κτλ.

Τα επίπεδα λεπτίνης στο BAL ήταν $0,153 \pm 0,07 \text{ ng/ml}$. Όπως αναφέρθηκε στη μέθοδο, σύγχρονα με τη διενέργεια βρογχοσκόπησης πραγματοποιήθηκε αιμοληψία προκειμένου να προσδιοριστούν τα επίπεδα λεπτίνης στον ορό. Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση των επιπέδων λεπτίνης στο BAL και στον ορό που λήφθηκε σύγχρονα.

3. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στη παρούσα διδακτορική διατριβή μελετήθηκαν δύο κύρια μονοπάτια που πιθανά συμμετέχουν στην παθογένεια της ΙΠΠ: το μονοπάτι της αγγειογένεσης και αυτό της φλεγμονής και συγκεκριμένα ο ρόλος της λεπτίνης που θεωρείται προφλεγμονώδης κυτταροκίνη. Σχετικά με την αγγειογένεση, πραγματοποιήθηκε καλλιέργεια κυκλοφορούντων πρόδρομων ενδοθηλιακών κυττάρων (EPCs) σε ασθενείς με ΙΠΠ και υγιείς εθελοντές αντίστοιχης ηλικίας και φύλου. Από τη μελέτη αυτή προέκυψε ότι οι ασθενείς με ΙΠΠ παρουσιάζουν μειωμένα επίπεδα κυκλοφορούντων πρόδρομων ενδοθηλιακών κυττάρων σε σχέση με τους μάρτυρες. Συγκεκριμένα, οι ασθενείς με ΙΠΠ είχαν κατά προσέγγιση 17 φορές λιγότερες αποικίες ανά τριβλίο σε σχέση με τους υγιείς εθελοντές. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι ο αριθμός των αποικιών παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση με τη $P_{(A-a)}O_2$ στους ασθενείς με ΙΠΠ. Οι συγκεντρώσεις του VEGF στο πλάσμα δεν διέφερε στις δύο ομάδες, ωστόσο τα επίπεδα ενδογενούς έκφρασης του VEGF από τα EPCs ήταν υψηλότερα στην ομάδα των ασθενών. Το τελευταίο εύρημα μπορεί να αναπαριστά μια προσπάθεια αντιρρόπησης των μειωμένων επιπέδων EPCs στην κυκλοφορία. Επιπλέον, παρατηρήσαμε ότι οι ασθενείς με $sPAP \geq 35 \text{ mmHg}$ εμφανίζουν μειωμένα επίπεδα EPCs σε σύγκριση με εκείνους που παρουσιάζουν $sPAP < 35 \text{ mmHg}$. Συνολικά τα παραπάνω ευρήματα υπογραμμίζουν την συμβολή των EPCs στην ΙΠΠ και παρέχουν σημαντικές πληροφορίες για την κατανόηση της παθογένειας της νόσου.

Τα EPCs αποτελούν πρόδρομες μορφές των ενδοθηλιακών κυττάρων που σε φυσιολογικούς ενήλικες εντοπίζονται στο μυελό των οστών³². Τα κύτταρα αυτά υπό την επίδραση διαφόρων παραγόντων, όπως ο VEGF, κινητοποιούνται, μεταναστεύουν στην περιφέρεια και διαφοροποιούνται σε ώριμα ενδοθηλιακά

κύτταρα^{32,161}. Ο όρος «πρώιμα EPCs» αναφέρεται στα EPCs που δημιουργούν αποικίες μετά από καλλιέργεια λίγων ημερών (5-7 ημέρες) σε τριβλία με φιμπρονεκτίνη. Τα πρώιμα EPCs ευοδώνουν την αγγειογένεση γιατί εκκρίνουν αυξητικούς παράγοντες, όπως ο VEGF, και είναι σημαντικά για τη διατήρηση της ομοιόστασης του ενδοθηλίου και την επιδιόρθωση βλαβών του³². Σε πειραματικά μοντέλα οξείας πνευμονικής βλάβης (acute lung injury, ALI) έχει δειχθεί ότι η αυτόλογη μεταμόσχευση πρώιμων EPCs διατηρεί την ακεραιότητα του ενδοθηλίου και της κυψελιδοτριχοειδικής μεμβράνης¹⁶². Τα παραπάνω δεδομένα υποδεικνύουν ότι παρά την περιορισμένη ικανότητα πολλαπλασιασμού³² τα κύτταρα αυτά επάγουν την ανάπτυξη του ενδοθηλίου και η μείωσή τους μπορεί να έχει αρνητικές συνέπειες στο μηχανισμό επιδιόρθωσης των βλαβών.

Ο ρόλος των EPCs στην ινωτική διαδικασία και την επιδιόρθωση των βλαβών του πνεύμονα δεν είναι πλήρως διευκρινισμένος. Τα EPCs συμμετέχουν στην επιδιόρθωση των βλαβών του πνευμονικού παρεγχύματος μέσω της ικανότητάς τους να αποκαθιστούν τη λειτουργία του ενδοθηλίου και να διατηρούν την ακεραιότητα της κυψελιδοτριχοειδικής μεμβράνης¹⁶². Από τη βιβλιογραφία προκύπτει ότι ασθενείς με πνευμονία και μειωμένα επίπεδα EPCs έχουν την τάση να παρουσιάζουν μόνιμα ινώδη στοιχεία στο πνευμονικό παρέγχυμα μετά την αποδρομή της νόσου⁶⁴. Ωστόσο, ο ρόλος των EPCs στην ινοποιό διαδικασία της ΙΠΠ είναι εν πολλοίς άγνωστος. Από όσο γνωρίζουμε, αυτή είναι η πρώτη πλήρης μελέτη που εξετάζει τα επίπεδα EPCs σε ασθενείς με ΙΠΠ. Οι Fadini και συν⁵⁷ μελέτησαν ένα «μικτό» πληθυσμό ασθενών με περιοριστικά και αποφρακτικά νοσήματα και παρατήρησαν μειωμένες συγκεντρώσεις EPCs στο περιφερικό αίμα ασθενών με περιοριστικά νοσήματα (σαρκοείδωση, ινοθώρακας, ΙΠΠ, κ.α.) σε σύγκριση με τους ασθενείς με αποφρακτικά νοσήματα και τους μάρτυρες. Επίσης γνωρίζουμε ότι τα EPCs είναι μειωμένα σε ασθενείς με

πνευμονική υπέρταση δευτεροπαθή σε ΙΠΠ συγκριτικά με ασθενείς με ΙΠΠ χωρίς πνευμονική υπέρταση⁵⁵. Ωστόσο η τελευταία μελέτη περιελάμβανε πολύ λίγους ασθενείς. Τα ευρήματα μας συμφωνούν με τα παραπάνω αποτελέσματα και σε συνδυασμό με αυτά υποδεικνύουν ότι τα μειωμένα EPCs μπορεί να καταστέλλουν την επιδιόρθωση του ενδοθηλίου του πνεύμονα και να συμμετέχουν στην παθογένεια της νόσου. Με βάση τα παραπάνω ισχυροποιείται η υπόθεση της συμμετοχής της αγγειογένεσης στην παθοφυσιολογία της νόσου.

Οι μηχανισμοί που ευθύνονται για τα μειωμένα επίπεδα EPCs στην ΙΠΠ δεν έχουν διευκρινιστεί. Μια πιθανή υπόθεση είναι η παθολογική παραγωγή τους από το μυελό των οστών. Ωστόσο, γνωρίζουμε ότι η ΙΠΠ είναι ένα νόσημα που περιορίζεται στον πνεύμονα. Επιπλέον, δε διαπιστώσαμε διαταραχές των επιπέδων των κυττάρων του περιφερικού αίματος και οι ασθενείς μας δε λάμβαναν κυτταροτοξικά φάρμακα. Τα παραπάνω δεδομένα δεν υποστηρίζουν αυτή την υπόθεση. Μια άλλη εξήγηση μπορεί να είναι η παρουσία διαταραχών στους παράγοντες που κινητοποιούν τα EPCs από το μυελό των οστών για να μεταναστεύσουν στην περιφέρεια. Εμείς εξετάσαμε τις συγκεντρώσεις VEGF και δε διαπιστώσαμε μειωμένα επίπεδά του. Ωστόσο, δε μπορεί να αποκλειστεί η ύπαρξη διαταραχών σε άλλους μηχανισμούς που επάγουν την απελευθέρωση των EPCs στη συστηματική κυκλοφορία.

Η ιστική ισχαιμία αποτελεί ένα ισχυρό ερέθισμα για την κινητοποίηση των EPCs από το μυελό των οστών³². Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση των επιπέδων EPCs με τη P_aO_2 σε ασθενείς με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια υποδεικνύοντας ότι η υποξία, όπως η ιστική ισχαιμία, μπορεί να διεγείρει την απελευθέρωση των EPCs στην κυκλοφορία⁵⁷. Επιπλέον, γνωρίζουμε ότι EPCs που καλλιεργούνται σε συνθήκες υποξίας παρουσιάζουν μεγαλύτερο ρυθμό πολλαπλασιασμού και ικανότητα διαφοροποίησης σε ώριμα

ενδοθηλιακά κύτταρα¹⁶³. Αντίθετα, *in vivo* μελέτες σε ασθενείς με περιοριστικά νοσήματα δεν ανέδειξαν στατιστικά σημαντική σχέση των EPCs με παραμέτρους της υποξίας όπως η P_aO_2 . Εμείς παρατηρήσαμε ότι η $P_{(A-a)}O_2$, που αντανακλά την υποξία, σχετίζεται αρνητικά με τα επίπεδα EPCs στους ασθενείς με ΠΠ. Μια πιθανή εξήγηση είναι ότι η χρόνια διέγερση του μυελού των οστών από την υποξία έχει σαν αποτέλεσμα την εξάντληση της δεξαμενής των κυττάρων αυτών με αποτέλεσμα τη μείωση των επιπέδων τους. Ωστόσο, η σχέση των EPCs με την υποξία δεν είναι απόλυτα διευκρινισμένη με βάση τα υπάρχοντα δεδομένα και απαιτούνται περισσότερες μελέτες προκειμένου να διευκρινιστεί.

Παρά την εκτεταμένη έρευνα σχετικά με την παθογένεια της ΠΠ, η αιτιολογία της νόσου παραμένει άγνωστη. Η παθολογική αγγειακή επαναδιαμόρφωση (vascular remodeling) είναι ένας από τους μηχανισμούς που θεωρείται ότι παίζουν ρόλο στην ανάπτυξη ίνωσης¹⁶⁴. Την τελευταία δεκαετία, μελέτες αποκάλυψαν ότι η ελαττωματική επιδιόρθωση του ενδοθηλίου του πνεύμονα, μετά από βλάβη που προκαλεί κάποιο άγνωστο ερέθισμα, έχει εξαιρετική σημασία για την έναρξη και την πρόοδο των προϋνωτικών γεγονότων²³. Σε πειραματικά μοντέλα ALI έχει φανεί ότι η χορήγηση EPCs μειώνει τη ανάπτυξη υαλοειδούς μεμβράνης και οιδήματος^{162,165} και αυξάνει την επιβίωση¹⁶⁵. Η μετανάστευση EPCs στο πνευμονικό παρέγχυμα βοηθά στη διατήρηση της φυσιολογικής λειτουργίας του ενδοθηλίου και της ακεραιότητας της κυψελιδοτριχοειδικής μεμβράνης και έτσι μειώνει τη βλάβη στον πνεύμονα⁴⁹. Τα EPCs είναι απαραίτητα για την επιδιόρθωση βλαβών μετά από τραύμα και φαίνεται ότι αποτελούν μια δεξαμενή κυττάρων που αποκαθιστούν την ομοιόσταση του ενδοθηλίου σε περιοχές ενδοθηλιακής βλάβης. Πιθανά, τα ελαττωμένα επίπεδα EPCs στην ΠΠ να έχουν σαν αποτέλεσμα μειωμένη αποκατάσταση του ενδοθηλίου και έτσι να συμμετέχουν στην έναρξη των προϋνωτικών μηχανισμών. Η αρνητική συσχέτιση

των επιπέδων EPCs με την $P_{(A-a)}O_2$, ένα σημαντικό παράγοντα βαρύτητας της νόσου, υποστηρίζει την παραπάνω υπόθεση.

Η πιο σύγχρονη θεωρία για την παθογένεια της πνευμονικής υπέρτασης υποστηρίζει ότι η ενδοθηλιακή βλάβη διεγείρει την ανάπτυξη αγγειακών διαταραχών που σχετίζεται με τη νόσο^{49, 161}. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου μπορεί να ευθύνεται για την ανάπτυξη ΠΥ στην ΙΠΙ¹⁶⁶. Σε συμφωνία με δημοσιευμένα δεδομένα⁵⁵ παρατηρήσαμε ότι κάποιοι ασθενείς με ΙΠΙ εμφανίζουν αυξημένες πιέσεις στην πνευμονική κυκλοφορία. Η μέση sPAP ήταν $39,59 \pm 12,35$ mmHg στην ομάδα των ασθενών και περίπου 50% των ασθενών είχαν $sPAP \geq 35$ mmHg, δηλαδή πνευμονική υπέρταση. Εμείς παρατηρήσαμε ότι ασθενείς με $sPAP \geq 35$ mmHg έχουν ελαττωμένα επίπεδα EPCs συγκριτικά με τους ασθενείς με $sPAP < 35$ mmHg. Τα ευρήματά μας είναι συμβατά με δημοσιευμένα δεδομένα που δείχνουν μειωμένα επίπεδα EPCs σε ασθενείς με πνευμονική υπέρταση άλλης αιτιολογίας^{53,54}. Πιθανά, η εξάντληση των συγκεντρώσεων των EPCs να προκαλεί διαταραχές στη λειτουργία του ενδοθηλίου και έτσι να διεγείρει την ανάπτυξη πνευμονικής υπέρτασης σε ασθενείς με ΙΠΙ. Αυτό υποστηρίζεται από πειραματικά μοντέλα πνευμονικής υπέρτασης που φαίνεται ότι η χορήγηση EPCs προλαμβάνει την αύξηση των πιέσεων στις δεξιές κοιλότητες και αυξάνει την επιβίωση⁵¹. Τα ευρήματά μας υποστηρίζουν τη συμμετοχή του ενδοθηλίου στην παθογένεια της πνευμονικής υπέρτασης αλλά χρειάζονται επιπλέον μελέτες προκειμένου αυτή η υπόθεση να αποδειχθεί.

Τα EPCs εκκρίνουν παράγοντες που διεγείρουν την αγγειογένεση, όπως ο VEGF, με αποτέλεσμα να επάγουν τον τοπικό πολλαπλασιασμό των ώριμων ενδοθηλιακών κύτταρων^{32,49,161}. Έτσι, τα EPCs έμμεσα ευνοούν την επιδιόρθωση βλαβών και την ακεραιότητα των ιστών. Εμείς διαπιστώσαμε αυξημένη ενδογενή

έκφραση του VEGF στα EPCs των ασθενών με ΙΠΠ. Η υποξία επάγει τη μεταγραφή του γονιδίου του VEGF¹⁶⁷ και η ΙΠΠ αποτελεί ένα χρόνιο νόσημα που καταλήγει σε υποξική αναπνευστική ανεπάρκεια. Με βάση τα παραπάνω, υποθέτουμε ότι η υποξία στους ασθενείς με ΙΠΠ μπορεί να διεγείρει την ενδογενή έκφραση VEGF από τα EPCs. Τα αποτελέσματά μας συμφωνούν με εκείνα των Anouac και συν¹⁶⁸ που διαπίστωσαν αυξημένες συγκεντρώσεις VEGF mRNA σε EPCs που είχαν εκτεθεί σε υποξία. Επομένως, η επαγωγή της έκφρασης του VEGF mRNA μπορεί να αποτελεί έναν αντιρροπιστικό μηχανισμό για τη μείωση των EPCs στους ασθενείς με ΙΠΠ.

Όσον αφορά το δεύτερο πρωτόκολλο, εξετάσαμε τα επίπεδα λεπτίνης και αδιπονεκτίνης στον ορό ασθενών με ΙΠΠ και υγιών εθελοντών ενώ προσδιορίσαμε τα επίπεδα λεπτίνης στο EBC και στο BAL ασθενών με ΙΠΠ. Παρατηρήσαμε ότι τα επίπεδα λεπτίνης και ο λόγος λεπτίνης/αδιπονεκτίνης ήταν μειωμένα στους ασθενείς με $P_aO_2 < 65 \text{ mmHg}$ ενώ ο λόγος λεπτίνης/αδιπονεκτίνης παρουσίαζε θετική συσχέτιση με τη P_aO_2 . Επιπλέον, παρατηρήσαμε σημαντική θετική συσχέτιση της λεπτίνης και του λόγου λεπτίνης/αδιπονεκτίνης με τη βαθμολογία του SGRQ. Ακόμα, από τα ευρήματά μας προέκυψε ότι τα επίπεδα λεπτίνης στο EBC και στο BAL δε σχετίζονταν με τα αντίστοιχα επίπεδα λεπτίνης στον ορό. Το τελευταίο εύρημα πιθανά υποδηλώνει ότι η λεπτίνη μπορεί να παράγεται τοπικά στον πνεύμονα. Τέλος παρατηρήσαμε ότι η λεπτίνη σχετίζεται αρνητικά με τη P_aO_2 και θετικά με τη $P_{(A-a)}O_2$ και την ολική βαθμολογία στο SGRQ.

Σύμφωνα με πρόσφατα δημοσιευμένα δεδομένα, η λεπτίνη και η αδιπονεκτίνη διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο στην παθογένεια της ίνωσης σε διάφορους ιστούς. Για παράδειγμα, η αύξηση των επιπέδων της λεπτίνης και η μείωση των επιπέδων αδιπονεκτίνης επάγει τη φλεγμονή και την εναπόθεση κολλαγόνου στο ηπατικό παρέγχυμα¹⁶⁹. Η λεπτίνη επάγει την έκφραση του γονιδίου που κωδικοποιεί για το

κολλαγόνο *in vitro* από τα ηπατοκύτταρα¹¹⁹. Αντίθετα, η αδιπονεκτίνη αυξάνει την απόπτωση και μειώνει το ρυθμό πολλαπλασιασμού των ενεργοποιημένων μακροφάγων του ήπατος (κύτταρα Kupffer) που είναι υπεύθυνα για την παραγωγή κολλαγόνου στην κίρρωση. Επιπρόσθετα, η λεπτίνη δρα συνεργικά με τον TGF-β και επάγει τη διαφοροποίηση των ανθρώπινων μεσοθηλιακών κυττάρων προς μυοϊνοβλάστες *in vitro* και έτσι ευοδώνει την περιτοναϊκή ίνωση¹⁷⁰. Όσον αφορά το νεφρό, η λεπτίνη διεγείρει την παραγωγή κολλαγόνου τύπου I από τα κύτταρα του μεσάγγειου¹²⁷ και προάγει την έκφραση του TGF-β από τα ενδοθηλιακά κύτταρα του νεφρικού σπειράματος¹²⁶. Τα παραπάνω ευρήματα οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η λεπτίνη έχει προϊνωτικές ιδιότητες ενώ αντίθετα η αδιπονεκτίνη έχει αντίθετη δράση σε διάφορα όργανα όπως το ήπαρ ή ο νεφρός, μια υπόθεση που τα τελευταία χρόνια είναι ευρέως αποδεκτή στη βιβλιογραφία. Ωστόσο, η σχέση των δύο αδιποκινών, λεπτίνης και αδιπονεκτίνης στην ιδιοπαθή πνευμονική ίνωση δεν έχει μελετηθεί ως σήμερα και η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη που εξετάζει τα επίπεδά τους σε ασθενείς με ΙΠΠ. Ωστόσο, πρόσφατα δημοσιευμένα δεδομένα αποκάλυψαν ότι η λεπτίνη είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη πνευμονικής ίνωσης σε πειραματικά μοντέλα¹³⁰. Μάλιστα φαίνεται ότι η λεπτίνη ενισχύει την επαγόμενη από τον TGF-β μετάφραση διάφορων προϊνωτικών γονιδίων. Σίγουρα είναι απαραίτητες περισσότερες μελέτες προκειμένου να διευκρινιστεί ο ρόλος των αδιποκινών στην παθογένεια της ΙΠΠ.

Παρά το ότι η λεπτίνη και η αδιπονεκτίνη έχουν σημαντικό ρόλο στον παθοφυσιολογικό μηχανισμό της ίνωσης σε διάφορα όργανα, στην παρούσα μελέτη δεν παρατηρήσαμε διαφορές στα επίπεδα των δύο αδιποκινών στους ασθενείς με ΙΠΠ συγκριτικά με τους μάρτυρες. Μια πιθανή εξήγηση για τα ευρήματά μας είναι ότι ο παθογενετικός μηχανισμός της ΙΠΠ διαφέρει από εκείνο των άλλων οργάνων. Για

παράδειγμα, στο ήπαρ έχει διαπιστωθεί ότι η χρόνια επίδραση επαναλαμβανόμενων βλαπτικών παραγόντων έχει σαν αποτέλεσμα τη διήθηση του ηπατικού παρεγχύματος από φλεγμονώδη κύτταρα, την απόπτωση των ηπατοκυττάρων, την ενεργοποίηση μακροφάγων του ήπατος (κύτταρα Kupffer) και την έκκριση προϊνωτικών μεσολαβητών¹¹⁰. Από την άλλη πλευρά, στην παθογένεια της ΙΠΠ το άγνωστο ερέθισμα που προκαλεί το τραύμα στο πνευμονικό παρέγχυμα πυροδοτεί μια πληθώρα μηχανισμών όπως η φλεγμονή, η αγγειογένεση, η απόπτωση, η πήξη, κ.α. Η λεπτίνη και η αδιπονεκτίνη έχουν σημαντικό ρόλο στη φλεγμονώδη απάντηση, η πρώτη με προφλεγμονώδη και η δεύτερη με αντιφλεγμονώδη δράση. Τα αποτελέσματά μας δεν αποδεικνύουν διαφορές στα επίπεδα λεπτίνης και αδιπονεκτίνης μεταξύ ασθενών και μαρτύρων και έτσι δεν μπορούν να υποστηρίξουν την υπόθεση της συμμετοχής της φλεγμονής στην παθογένεια της ΙΠΠ. Ωστόσο, εμείς μετρήσαμε τις δύο αδιποκίνες σε μία μόνο χρονική στιγμή στην πορεία της νόσου. Επιπλέον, η φλεγμονή στην ΙΠΠ συμμετέχει στα αρχικά στάδια της ινοποιού διαδικασίας και σύμφωνα με τα τρέχοντα δεδομένα ο ρόλος της στην προχωρημένη νόσο είναι περιορισμένος. Εμείς συμπεριλάβαμε ασθενείς διαφόρων σταδίων βαρύτητας της νόσου και επομένως, αν και δεν αναδείξαμε σημαντικές διαφορές στα επίπεδα των αδιποκινών, η συμμετοχή της φλεγμονής στην παθογένεια της ΙΠΠ δεν μπορεί να αποκλειστεί.

Η υποξία και η ιστική ισχαιμία επάγουν την έκφραση του γονιδίου που κωδικοποιεί τη λεπτίνη και αναστέλλουν την έκφραση του γονιδίου που κωδικοποιεί την αδιπονεκτίνη¹⁷¹. Ο επαγόμενος από την υποξία παράγοντας 1 (hypoxia-inducible factor-1, HIF-1) αποτελεί επαγωγέα (promoter) του γονιδίου που κωδικοποιεί τη λεπτίνη όπως έχει αποδειχθεί από μελέτες *in vitro*¹⁷². Ωστόσο, τα αποτελέσματα από τις κλινικές *in vivo* μελέτες είναι αντικρουόμενα. Για παράδειγμα, η έκθεση για μικρό

χρονικό διάστημα σε υψηλό υψόμετρο που χαρακτηρίζεται από χαμηλή μερική πίεση του οξυγόνου στον ατμοσφαιρικό αέρα δεν μεταβάλλει τα επίπεδα λεπτίνης και αδιπονεκτίνης στον άνθρωπο¹⁷³. Επιπρόσθετα, η έκθεση σε αντίστοιχες συνθήκες για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα (8 εβδομάδες) έχει αντίστοιχα αποτελέσματα¹⁷⁴. Από την άλλη πλευρά έχει παρατηρηθεί ότι η έκθεση ποντικών σε συνθήκες υποξίας προκαλεί αύξηση των επιπέδων της αδιπονεκτίνης αλλά δεν επηρεάζει τη συγκέντρωση της λεπτίνης¹⁷⁵. Εμείς παρατηρήσαμε ότι η συστηματική συγκέντρωση λεπτίνης είναι μειωμένη σε ασθενείς με $P_aO_2 < 65 \text{ mmHg}$ έναντι εκείνων με $P_aO_2 \geq 65 \text{ mmHg}$ ενώ τα επίπεδα αδιπονεκτίνης δεν επηρεάζονται από την υποξυγοναιμία. Μια πιθανή εξήγηση για την ασυμφωνία των ευρημάτων μας με αυτά των παραπάνω μελετών είναι ότι οι πειραματικές συνθήκες δεν μπορούν να αναπαραστήσουν πλήρως τις *in vivo* συνθήκες. Επιπλέον οι περισσότερες κλινικές μελέτες στη βιβλιογραφία έχουν εξετάσει τις επιπτώσεις της έκθεσης σε υποξία για μικρό χρονικό διάστημα στα επίπεδα των δυο αδιποκινών. Αντίθετα, η ΙΠΙ χαρακτηρίζεται από χρόνια διαλείπουσα υποξυγοναιμία που αναπαριστά συνθήκες υποξίας. Ωστόσο χρειάζονται περισσότερες μελέτες προτού εξαχθούν ασφαλή αποτελέσματα για τη σχέση λεπτίνης και αδιπονεκτίνης με την υποξία.

Η λεπτίνη συντίθεται και εκκρίνεται κατά κύριο λόγο από τα λιποκύτταρα σε ποσά ανάλογα με το ποσοστό λίπους στον οργανισμό και το BMI¹⁷⁶. Εμείς παρατηρήσαμε ότι η λεπτίνη σχετίζεται στατιστικά σημαντικά θετικά με το BMI και τη λιπώδη μάζα τόσο στους ασθενείς με ΙΠΙ όσο και στους μάρτυρες. Στη βάση αυτών των ευρημάτων φαίνεται ότι η συστηματική έκκριση λεπτίνης γίνεται σύμφωνα με το φυσιολογικό feedback μηχανισμό που εμπλέκεται στη ρύθμιση του σωματικού βάρους. Από την άλλη πλευρά η συγκέντρωση λεπτίνης στο συμπύκνωμα εκπνεόμενου αέρα και στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα δεν παρουσίαζε στατιστικά

σημαντική συσχέτιση με τα σύγχρονα επίπεδα της λεπτίνης στον ορό. Στη βάση αυτών των ευρημάτων υποθέτουμε ότι η λεπτίνη παράγεται τοπικά στον πνεύμονα και ότι τα επίπεδά της στους βρόγχους και στο πνευμονικό παρέγχυμα δεν οφείλονται αποκλειστικά στη συστηματική έκκριση λεπτίνης. Η παραπάνω υπόθεση υποστηρίζεται από μελέτες που δείχνουν ότι τα πνευμονοκύτταρα τύπου II που επαλείφουν τις κυψελίδες⁷¹ και από το βρογχικό επιθήλιο^{71,72}. Επιπρόσθετα, ο υποδοχέας της λεπτίνης εκφράζεται στα κύτταρα του βρογχικού επιθηλίου στους κεντρικούς και περιφερικούς αεραγωγούς¹⁵³. Από τα παραπάνω ευρήματα συμπεραίνουμε ότι ο πνεύμονας είναι ένα όργανο που μπορεί να παράγει λεπτίνη και να αντιδρά στο «ερέθισμά» της, ωστόσο η αντίκτυπος που έχει το παραπάνω συμπέρασμα στην παθοφυσιολογία της ΙΙΙ δεν είναι γνωστή .

Το saint George Respiratory Questionnaire είναι ένα ερωτηματολόγιο που συμπληρώνεται από τους ασθενείς και αξιολογεί τρεις παραμέτρους της ποιότητας ζωής: τα συμπτώματα, τη δραστηριότητα και την επίπτωση που έχει η νόσος στην καθημερινή ζωή. Το SGRQ είχε αρχικά σχεδιαστεί για ασθενείς με ΧΑΠ ωστόσο μελέτες έχουν δείξει ότι είναι αξιόπιστο και έγκυρο και για ασθενείς με ΙΙΙ¹⁷⁷. Στην παρούσα μελέτη παρατηρήσαμε ότι ο λόγος λεπτίνης/αδιπονεκτίνης παρουσίαζε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση με βαθμολογία που σχετίζεται με τη δραστηριότητα (activity score) και τη συνολική βαθμολογία του ερωτηματολογίου saint George Respiratory Questionnaire που αντικατοπτρίζει χειρότερη σχετιζόμενη με την κατάσταση της υγείας ποιότητα ζωής. Τα ευρήματά μας δείχνουν ότι ο αυξημένος λόγος λεπτίνης/αδιπονεκτίνης σχετίζεται με χειρότερη ποιότητα ζωής στους ασθενείς με ΙΙΙ. Από πειραματικά μοντέλα έχει προκύψει ότι διαταραχή στη λειτουργία της λεπτίνης στο ΚΝΣ σχετίζεται με καταθλιπτική συμπεριφορά¹⁷⁸. Ωστόσο, με βάση τα παραπάνω δεδομένα δεν μπορεί να προσδιοριστεί αν τα

αποτελέσματα μας αντικατοπτρίζουν απευθείας δράση των αδιποκινών στο ΚΝΣ ή αν οφείλονται στη συσχέτιση των αδιποκινών με τη βαρύτητα της νόσου και ως εκ τούτου με χειρότερη ποιότητα ζωής.

Υπάρχουν κάποιοι περιορισμοί στην παρούσα μελέτη. Οσον αφορά το πρώτο πρωτόκολλο, δεν πραγματοποιήθηκε καθετηριασμός των δεξιών καρδιακών κοιλοτήτων αλλά χρησιμοποιήσαμε υπερηχοκαρδιογράφημα προκειμένου να υπολογίσουμε τη συστολική πίεση στην πνευμονική αρτηρία και να αξιολογήσουμε τον επηρεασμό της πνευμονικής κυκλοφορίας στους ασθενείς με ΙΠΠ. Το υπερηχοκαρδιογράφημα δεν αποτελεί τη μέθοδο εκλογής για της διάγνωση της πνευμονικής υπέρτασης, ωστόσο είναι μια αξιόπιστη και μη επεμβατική μέθοδος για την εκτίμηση των πιέσεων στην πνευμονική κυκλοφορία^{149,179}. Επιπλέον, αποκλείσαμε ασθενείς με αριστερή συστολική δυσλειτουργία ή γνωστή καρδιακή νόσο που θα μπορούσε να οδηγήσει σε αύξηση της sPAP εξαιτίας αυξημένων πιέσεων πλήρωσης της αριστερής κοιλίας. Η διαστολική λειτουργία που υπολογίστηκε με διαμυτροειδικό Doppler ροής και TDI δε διέφερε σημαντικά μεταξύ των ασθενών με sPAP ≥ 35 mmHg και sPAP < 35 mmHg. Με βάση αυτό είναι απίθανο η αύξηση των πιέσεων στην πνευμονική κυκλοφορία να οφείλεται σε διαστολική δυσλειτουργία εξαιτίας μετατριχοειδικής υπέρτασης. Επιπλέον αναγνωρίζουμε ότι ο αριθμός των ασθενών που συμμετείχαν στη μελέτη είναι σχετικά μικρός. Ωστόσο, η ΙΠΠ δεν είναι ένα συχνό νόσημα. Επιπλέον εφαρμόστηκαν αυστηρά κριτήρια αποκλεισμού (σακχαρώδης διαβήτης, αρτηριακή υπέρταση, κ.α.) οπότε αποκλείσαμε αρκετούς ασθενείς. Ακόμα, δεν παρατηρήθηκε αλληλοεπικάλυψη των επιπέδων EPCs μεταξύ ασθενών και μαρτύρων. Έτσι πιστεύουμε ότι η συμμετοχή περισσότερων ασθενών δεν θα μετέβαλλε σημαντικά τα αποτελέσματά μας.

Και το δεύτερο πρωτόκολλο έχει κάποιους περιορισμούς. Όπως και στο πρώτο πρωτόκολλο χρησιμοποιήσαμε υπερηχογράφημα καρδιάς και όχι καθετηριασμό των δεξιών καρδιακών κοιλοτήτων προκειμένου να διαγνώσουμε την πνευμονική υπέρταση. Επιπλέον αναγνωρίζουμε ότι και στο δεύτερο πρωτόκολλο ο αριθμός των ασθενών είναι σχετικά μικρός.

Συμπερασματικά, διαπιστώσαμε ότι οι ασθενείς με Ιδιοπαθή Πνευμονική Ίνωση παρουσιάζουν μειωμένα επίπεδα κυκλοφορούντων πρόδρομων ενδοθηλιακών κυττάρων, τα οποία συσχετίζονται με τη βαρύτητα της νόσου και την ανάπτυξη πνευμονικής υπέρτασης. Τα κυκλοφορούντα πρόδρομα ενδοθηλιακά κύτταρα των ασθενών με ΙΠΠ παρουσιάζουν αυξημένη έκφραση VEGF.

Επιπλέον, διαπιστώσαμε ότι η λεπτίνη και ο λόγος λεπτίνης/αδιπονεκτίνης είναι μειωμένοι σε ασθενείς με IPF και χαμηλή P_aO_2 . Επίσης τα επίπεδα λεπτίνης στο EBC δε σχετίζονται στατιστικά σημαντικά με τα αντίστοιχα επίπεδα στον ορό γεγονός που υποδεικνύει ότι η λεπτίνη παράγεται στον πνεύμονα ανεξάρτητα από τη συστηματική έκκρισή της. Τέλος διαπιστώσαμε ότι ο λόγος λεπτίνης/αδιπονεκτίνης σχετίζεται με περιορισμένη ικανότητα για άσκηση (όπως αντανακλάται από τη δοκιμασία βάδισης) και χειρότερη ποιότητα ζωής. Τα ευρήματά μας χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης προκειμένου να επιβεβαιωθεί ο ρόλος της αγγειογένεσης και της λεπτίνης στην παθογένεια της Ιδιοπαθούς Πνευμονικής Ίνωσης.

4. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η Ιδιοπαθής Πνευμονική Ύψωση (ΙΠΠ, Idiopathic Pulmonary Fibrosis) είναι μια χρόνια νόσος η οποία οδηγεί σε καταστροφή της αρχιτεκτονικής του πνευμονικού παρεγχύματος. Σύμφωνα με τις διεθνείς θέσεις ομοφωνίας, η ΙΠΠ ορίζεται σαν μια ειδική μορφή χρόνιας και προοδευτικά επιδεινούμενης ινοποιού διάμεσης πνευμονίας με άγνωστη αιτιολογία. Σε μια προσπάθεια εύρεσης αποτελεσματικής θεραπείας, πολλές έρευνες τα τελευταία χρόνια έχουν επικεντρωθεί στη μελέτη της παθογένειας της ΙΠΠ, ωστόσο ως σήμερα η παθογένεια της νόσου παραμένει άγνωστη. Μια από τις πιο πρόσφατες υποθέσεις υποστηρίζει ότι κάποιο άγνωστο ως σήμερα ερέθισμα κινητοποιεί διάφορους μηχανισμούς που δρουν παράλληλα με τελικό αποτέλεσμα την εναπόθεση κολλαγόνου στο πνευμονικό παρέγχυμα και την καταστροφή της αρχιτεκτονικής του. Δύο από αυτούς τους μηχανισμούς είναι η αγγειογένεση και η φλεγμονή.

Τα κυκλοφορούντα πρόδρομα ενδοθηλιακά κύτταρα (circulating endothelial progenitor cells, EPCs) αποτελούν μια ομάδα κυττάρων του μυελού των οστών που είναι απαραίτητα για την επιδιόρθωση των βλαβών του αγγειακού δικτύου κατά την ενήλικη ζωή. Τα κύτταρα αυτά έχουν την ικανότητα να διαφοροποιούνται προς ώριμα ενδοθηλιακά κύτταρα και να εκκρίνουν παράγοντες που επάγουν την αγγειογένεση.

Η λεπτίνη είναι μια πρωτεΐνη που παράγεται κυρίως από τα λιποκύτταρα σε ποσά ανάλογα του συνολικού ποσοστού λίπους του οργανισμού. Η λεπτίνη παράγεται, σε μικρότερη όμως έκταση, και από άλλα όργανα και ιστούς όπως ο πνεύμονας. Η λεπτίνη είναι σημαντικός μεσολαβητής της ανοσολογικής απάντησης και έχει προφλεγμονώδη δράση. Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι η λεπτίνη έχει

σημαντική προϊνωτική δράση στο ήπαρ καθώς είναι απαραίτητη για την επαγωγή του transforming growth factor- β . Η αδιπονεκτίνη που παράγεται και εκείνη από το λιπώδη ιστό έχει αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες και ανταγωνίζεται την προϊνωτική δράση της λεπτίνης.

Με βάση τα παραπάνω δεδομένα αποφασίσαμε να μελετήσουμε το ρόλο της αγγειογένεσης και της φλεγμονής στην παθογένεια της ΙΠΠ. Για την ανάλυση της συμμετοχής της αγγειογένεσης στην ΙΠΠ μετρήσαμε τα επίπεδα EPCs σε ασθενείς με ΙΠΠ και υγιείς εθελοντές. Επιπλέον, μετρήσαμε τα επίπεδα του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (vascular endothelial growth factor, VEGF) στον ορό προκειμένου να αξιολογήσουμε διαταραχές στο μηχανισμό κινητοποίησης των EPCs από το μυελό των οστών. Τέλος θελήσαμε να μελετήσουμε τη δράση των EPCs και έτσι εξετάσαμε την ενδογενή παραγωγή VEGF από τα EPCs σε ασθενείς και μάρτυρες. Στη μελέτη συμμετείχαν 23 ασθενείς με ΙΠΠ και 15 υγιείς εθελοντές. Διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντικά μικρότερος αριθμός αποικιών EPCs ανά τριβλίο στην ομάδα των ασθενών συγκριτικά με τους μάρτυρες. Ο αριθμός των αποικιών στην ομάδα των ασθενών παρουσίαζε στατιστικά αρνητική σημαντική συσχέτιση με τη $P_{(A-a)O_2}$. Επίσης, παρατηρήθηκε ότι οι ασθενείς με πνευμονική υπέρταση ($sPAP \geq 35 \text{ mmHg}$) παρουσίαζαν στατιστικά σημαντικά μικρότερο αριθμό αποικιών έναντι εκείνων χωρίς πνευμονική υπέρταση. Επιπλέον, παρατηρήσαμε στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερα επίπεδα ενδογενούς έκφρασης του VEGF από τα EPCs στην ομάδα των ασθενών σε σχέση με τους εθελοντές.

Για την ανάλυση της συμμετοχής της φλεγμονής στην παθογένεια της ΙΠΠ μετρήσαμε τα επίπεδα λεπτίνης και αδιπονεκτίνης σε ασθενείς με ΙΠΠ και διερευνήσαμε κατά πόσο τα επίπεδα αυτά σχετίζονται με τη βαρύτητα της νόσου όπως αυτή εκφράζεται από τα αέρια αίματος, το λειτουργικό έλεγχο του

αναπνευστικού κ.α.. Επίσης, προσδιορίσαμε τα επίπεδα λεπτίνης στο συμπύκνωμα εκπνεόμενου αέρα (exhaled breath condensate, EBC) και στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα (bronchoalveolar lavage, BAL) ασθενών με ΙΠΠ. Στην παρούσα μελέτη συμμετείχαν 37 ασθενείς με ΙΠΠ και 22 υγιείς εθελοντές. Τα επίπεδα της λεπτίνης δε διέφεραν στατιστικά σημαντικά στους άνδρες και στις γυναίκες ασθενείς συγκριτικά με τους μάρτυρες αντίστοιχου φύλου. Ωστόσο, ο λόγος λεπτίνης/αδιπονεκτίνης στους άνδρες ασθενείς σχετίζεται θετικά στατιστικά σημαντικά με τη P_aO_2 . Μετά από προσαρμογή για τα σωματομετρικά χαρακτηριστικά, παρατηρήσαμε ότι τα επίπεδα λεπτίνης των ανδρών ασθενών με $P_aO_2 < 65$ ήταν στατιστικά σημαντικά μειωμένα συγκριτικά με τους άνδρες ασθενείς με $P_aO_2 \geq 65$ mmHg. Επιπλέον, ο λόγος λεπτίνης/αδιπονεκτίνης στους άνδρες ασθενείς με $P_aO_2 < 65$ mmHg ήταν στατιστικά σημαντικά μειωμένος συγκριτικά με τους άνδρες ασθενείς με $P_aO_2 \geq 65$ mmHg. Επίσης παρατηρήσαμε ότι στην ομάδα των ανδρών ασθενών τα επίπεδα λεπτίνης παρουσιάζουν αρνητική συσχέτιση με την απόσταση που διανύθηκε κατά τη δοκιμασία βάρδιας 6 λεπτών. Επιπλέον, ο λόγος λεπτίνης/αδιπονεκτίνης παρουσίαζε στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση με τη συνολική βαθμολογία του ερωτηματολογίου saint George Respiratory Questionnaire που αντικατοπτρίζει χειρότερη σχετιζόμενη με την κατάσταση της υγείας ποιότητα ζωής. Τέλος, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση των επιπέδων λεπτίνης στο EBC και στο BAL με τη συγκέντρωση λεπτίνης στον ορό που λήφθηκε σύγχρονα.

Συμπερασματικά, διαπιστώσαμε ότι οι ασθενείς με Ιδιοπαθή Πνευμονική Ίνωση παρουσιάζουν μειωμένα επίπεδα κυκλοφορούντων πρόδρομων ενδοθηλιακών κυττάρων, τα οποία συσχετίζονται με τη βαρύτητα της νόσου και την ανάπτυξη πνευμονικής υπέρτασης. Τα κυκλοφορούντα πρόδρομα ενδοθηλιακά κύτταρα των ασθενών με ΙΠΠ παρουσιάζουν αυξημένη έκφραση VEGF. Επιπλέον, διαπιστώσαμε

ότι η λεπτίνη και ο λόγος λεπτίνης/αδιπονεκτίνης είναι μειωμένοι σε ασθενείς με ΙΠΠ και χαμηλή P_aO_2 . Επίσης τα επίπεδα λεπτίνης στο EBC δε σχετίζονται στατιστικά σημαντικά με τα αντίστοιχα επίπεδα στον ορό γεγονός που υποδεικνύει ότι η λεπτίνη παράγεται στον πνεύμονα ανεξάρτητα από τη συστηματική έκκρισή της. Τέλος διαπιστώσαμε ότι ο λόγος λεπτίνης/αδιπονεκτίνης σχετίζεται με περιορισμένη ικανότητα για άσκηση (όπως αντανακλάται από τη δοκιμασία βάρδισης) και χειρότερη ποιότητα ζωής. Τα ευρήματά μας χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης προκειμένου να επιβεβαιωθεί ο ρόλος της αγγειογένεσης και της λεπτίνης στην παθογένεια της Ιδιοπαθούς Πνευμονικής Ύψωσης.

ΑΓΓΛΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) is a chronic, progressive fibrotic lung disease which is associated with lack of effective treatment and thus, poor survival. Despite extensive research, IPF pathogenesis remains unknown. Multiple mechanisms have been proposed to play a role in IPF pathogenesis, including abnormal vascular repair and remodeling, and inflammation. Indeed, there is a body of evidence suggesting that in IPF, the impairment of repair reendothelization mechanisms following alveolar injury may lead to destruction in lung architecture and fibrosis. Notably, failure of reendothelization may induce loss of the alveolar-capillary barrier integrity which might be considered as the point after which fibrosis may be inevitable. On the other hand, studies have suggested that inflammation may play a role in the development of IPF. Histology demonstrates the presence of inflammatory cells close to areas of dense fibrosis. Recent findings suggest that chronic inflammation resulting from repetitive microinjury may participate in the initiation of the fibrotic process.

Endothelial progenitor cells (EPCs) represent a subset of bone marrow-derived stem cells which may be essential in parenchymal repair and reconstitution of the damaged vascular bed. Two subtypes of EPCs exist. Late EPCs may differentiate into mature endothelial cells and repair injured blood vessels while “early EPCs” (i.e. EPCs that grow into colony forming units (CFU) on fibronectin following 5-7 days culture) secrete angiogenic cytokines such as VEGF and enhance the angiogenic process. The important role of EPCs in lung repair has been suggested from previous studies in animal models and humans. Notably, reduced EPCs numbers have been associated with persistent fibrotic changes, not due to IPF, in humans following lung

injury. In this respect, one might argue that EPCs might also play a pivotal role in IPF. However, data in IPF patients are sparse to few reports.

Leptin is a protein that is mainly produced by adipose tissue, however it is secreted in lower amounts by various other tissues. Recent investigations have identified the lung as a leptin responsive and producing organ, while extensive research has been published concerning leptin's role in the respiratory system. Beyond its role in the regulation of food intake and body composition, leptin exerts pro-inflammatory properties. According to experimental data, increased leptin levels enhance liver inflammation and fibrogenesis. In fact, leptin is essential for the induction of transforming growth factor- β (TGF- β) in the context of chronic liver injury that ultimately leads to liver fibrosis. In this respect, one could argue that leptin may enhance lung fibrogenesis. However literature lacks data concerning leptin's role in pulmonary fibrosis.

Adiponectin, that is the most abundant gene product of adipose tissue, demonstrates anti-inflammatory properties. Several studies have shown that adiponectin antagonizes leptin's profibrotic properties. Adiponectin inhibits the TGF- β induced expression of profibrogenic cytokines (e.g. CTGF) while adiponectin knock-out mice exhibit induced renal interstitial fibrosis that is ameliorated by adiponectin replacement. The latter observations mirror the hypothesis that adiponectin may have a protective effect in lung fibrosis, however there are no reports in the literature examining this effect.

In this respect, we aimed to investigate the role of angiogenesis and inflammation in the development of IPF. For the analysis of the role of angiogenesis we assessed the levels of EPCs in IPF patients and controls. Furthermore, we sought to investigate soluble VEGF serum levels and mRNA VEGF expression of EPCs in

order to provide further insight in the proangiogenic activity and mobilization of EPCs from the bone marrow. We included 23 IPF patients and 15 healthy volunteers in the study. All patients underwent clinical examination, pulmonary function tests, and arterial blood gas (ABGs) analysis and echocardiography. IPF patients exhibited statistically significantly decreased number of early EPCs CFU per well when compared to controls. The number of colonies per well correlated negatively statistically significantly with $P_{(A-a)}O_2$ in IPF patients. When we evaluated EPCs levels according to the degree of systolic pulmonary arterial pressure (sPAP) we found that IPF patients with $sPAP \geq 35$ mmHg had statistically significant reduced number of early EPCs colonies when compared with patients with $sPAP < 35$ mmHg. Quantification of mRNA levels by real-time PCR showed that IPF patients present statistically significant increased relative VEGF expression when compared with controls.

In order to examine the role of inflammation in IPF we assessed the concentrations of leptin and adiponectin in serum, and the levels of leptin in exhaled breath condensate (EBC) and bronchoalveolar lavage fluid (BAL) of IPF patients and controls and we sought to investigate their association with clinical indices of disease severity. The study population consisted of 37 IPF patients and 22 healthy volunteers. Serum leptin presented no significant differences in male and female patients when compared to healthy volunteers of the same gender. Serum adiponectin levels did not differ significantly between patients and controls. Leptin/adiponectin ratio in male patients was positively associated with P_aO_2 . Leptin levels when adjusted for BMI in male patients with $P_aO_2 < 65$ were significantly reduced as compared to male patients with $P_aO_2 \geq 65$ mmHg. Additionally, leptin/adiponectin ratio in male IPF patients with $P_aO_2 < 65$ mmHg was significantly

reduced vs male patients with $P_aO_2 \geq 65$ mmHg. Furthermore, leptin/adiponectin ratio in male subjects was negatively correlated with 6-minute walking distance. Finally, EBC and BAL leptin levels were not significantly correlated with the corresponding serum leptin levels.

We conclude that early EPCs levels are reduced in IPF patients compared to controls and that EPCs derived from IPF patients, exhibit increased endogenous VEGF production. Notably, early EPCs levels were significantly lower in patients with increased pressure in the pulmonary circulation. In this respect, the findings of the present study underline potentially significant implications of early EPCs in IPF and might provide further insight in the understanding of the pathogenesis of the disease. Additionally, the present study provides evidence suggesting a possible role of leptin in the severity and/or pathogenesis of IPF. Notably, leptin and leptin/adiponectin ratio were significantly reduced in male IPF patients with hypoxia. Additionally, we did not observe any significant correlation of leptin EBC and BAL levels with serum leptin concentrations suggesting that leptin may be locally produced within the lung. However, the mechanisms and physiological relevance of the aforementioned findings deserve further investigation.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1 Raghu G, Collard HR, Egan JJ, et al. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: idiopathic pulmonary fibrosis: evidence-based guidelines for diagnosis and management. *Am J Respir Crit Care Med*; 183:788-824
- 2 Johnston ID, Prescott RJ, Chalmers JC, et al. British Thoracic Society study of cryptogenic fibrosing alveolitis: current presentation and initial management. Fibrosing Alveolitis Subcommittee of the Research Committee of the British Thoracic Society. *Thorax* 1997; 52:38-44
- 3 Panos RJ, Mortenson RL, Niccoli SA, et al. Clinical deterioration in patients with idiopathic pulmonary fibrosis: causes and assessment. *Am J Med* 1990; 88:396-404
- 4 Coultas DB, Zumwalt RE, Black WC, et al. The epidemiology of interstitial lung diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150:967-972
- 5 Gribbin J, Hubbard RB, Le Jeune I, et al. Incidence and mortality of idiopathic pulmonary fibrosis and sarcoidosis in the UK. *Thorax* 2006; 61:980-985
- 6 Raghu G, Weycker D, Edelsberg J, et al. Incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174:810-816
- 7 Iwai K, Mori T, Yamada N, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis. Epidemiologic approaches to occupational exposure. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150:670-675
- 8 Hubbard R, Lewis S, Richards K, et al. Occupational exposure to metal or wood dust and aetiology of cryptogenic fibrosing alveolitis. *Lancet* 1996; 347:284-289
- 9 Baumgartner KB, Samet JM, Stidley CA, et al. Cigarette smoking: a risk factor for idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155:242-248
- 10 Flaherty KR, Toews GB, Travis WD, et al. Clinical significance of histological classification of idiopathic interstitial pneumonia. *Eur Respir J* 2002; 19:275-283
- 11 Raghu G, Brown KK, Bradford WZ, et al. A placebo-controlled trial of interferon gamma-1b in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2004; 350:125-133
- 12 Selman M, Carrillo G, Estrada A, et al. Accelerated variant of idiopathic pulmonary fibrosis: clinical behavior and gene expression pattern. *PLoS One* 2007; 2:e482
- 13 Collard HR, Moore BB, Flaherty KR, et al. Acute exacerbations of idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176:636-643
- 14 American Thoracic Society. Idiopathic pulmonary fibrosis: diagnosis and treatment. International consensus statement. American Thoracic Society (ATS), and the European Respiratory Society (ERS). *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:646-664
- 15 Taniguchi H, Kondoh Y, Ebina M, et al. The clinical significance of 5% change in vital capacity in patients with idiopathic pulmonary fibrosis: extended analysis of the pirfenidone trial. *Respir Res*; 12:93
- 16 Strieter RM. Pathogenesis and natural history of usual interstitial pneumonia: the whole story or the last chapter of a long novel. *Chest* 2005; 128:526S-532S
- 17 Renzoni EA, Walsh DA, Salmon M, et al. Interstitial vascularity in fibrosing alveolitis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167:438-443

- 18 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; 170:242-251
- 19 Sumi M, Satoh H, Kagohashi K, et al. Increased serum levels of endostatin in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *J Clin Lab Anal* 2005; 19:146-149
- 20 Keane MP, Belperio JA, Burdick MD, et al. IL-12 attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 281:L92-97
- 21 Burdick MD, Murray LA, Keane MP, et al. CXCL11 attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis via inhibition of vascular remodeling. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171:261-268
- 22 Keane MP, Belperio JA, Arenberg DA, et al. IFN-gamma-inducible protein-10 attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis via inhibition of angiogenesis. *J Immunol* 1999; 163:5686-5692
- 23 Strieter RM, Mehrad B. New mechanisms of pulmonary fibrosis. *Chest* 2009; 136:1364-1370
- 24 Ward PA, Hunninghake GW. Lung inflammation and fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:S123-129
- 25 Reynolds HY, Fulmer JD, Kazmierowski JA, et al. Analysis of cellular and protein content of broncho-alveolar lavage fluid from patients with idiopathic pulmonary fibrosis and chronic hypersensitivity pneumonitis. *J Clin Invest* 1977; 59:165-175
- 26 Carre PC, Mortenson RL, King TE, Jr., et al. Increased expression of the interleukin-8 gene by alveolar macrophages in idiopathic pulmonary fibrosis. A potential mechanism for the recruitment and activation of neutrophils in lung fibrosis. *J Clin Invest* 1991; 88:1802-1810
- 27 Chandler DB. Possible mechanisms of bleomycin-induced fibrosis. *Clin Chest Med* 1990; 11:21-30
- 28 Christensen PJ, Goodman RE, Pastoriza L, et al. Induction of lung fibrosis in the mouse by intratracheal instillation of fluorescein isothiocyanate is not T-cell-dependent. *Am J Pathol* 1999; 155:1773-1779
- 29 Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 1997; 275:964-967
- 30 Kolb M, Margetts PJ, Anthony DC, et al. Transient expression of IL-1beta induces acute lung injury and chronic repair leading to pulmonary fibrosis. *J Clin Invest* 2001; 107:1529-1536
- 31 Sime PJ, Marr RA, Gauldie D, et al. Transfer of tumor necrosis factor-alpha to rat lung induces severe pulmonary inflammation and patchy interstitial fibrogenesis with induction of transforming growth factor-beta1 and myofibroblasts. *Am J Pathol* 1998; 153:825-832
- 32 Zammaretti P, Zisch AH. Adult 'endothelial progenitor cells'. Renewing vasculature. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; 37:493-503
- 33 Lyden D, Hattori K, Dias S, et al. Impaired recruitment of bone-marrow-derived endothelial and hematopoietic precursor cells blocks tumor angiogenesis and growth. *Nat Med* 2001; 7:1194-1201
- 34 Murohara T, Ikeda H, Duan J, et al. Transplanted cord blood-derived endothelial precursor cells augment postnatal neovascularization. *J Clin Invest* 2000; 105:1527-1536

- 35 Heissig B, Hattori K, Dias S, et al. Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of kit-ligand. *Cell* 2002; 109:625-637
- 36 Gill M, Dias S, Hattori K, et al. Vascular trauma induces rapid but transient mobilization of VEGFR2(+)AC133(+) endothelial precursor cells. *Circ Res* 2001; 88:167-174
- 37 Takahashi T, Kalka C, Masuda H, et al. Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat Med* 1999; 5:434-438
- 38 Aicher A, Brenner W, Zuhayra M, et al. Assessment of the tissue distribution of transplanted human endothelial progenitor cells by radioactive labeling. *Circulation* 2003; 107:2134-2139
- 39 Assmus B, Schachinger V, Teupe C, et al. Transplantation of Progenitor Cells and Regeneration Enhancement in Acute Myocardial Infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002; 106:3009-3017
- 40 Zentilin L, Tafuro S, Zacchigna S, et al. Bone marrow mononuclear cells are recruited to the sites of VEGF-induced neovascularization but are not incorporated into the newly formed vessels. *Blood* 2006; 107:3546-3554
- 41 Urbich C, Aicher A, Heeschen C, et al. Soluble factors released by endothelial progenitor cells promote migration of endothelial cells and cardiac resident progenitor cells. *J Mol Cell Cardiol* 2005; 39:733-742
- 42 Heeschen C, Aicher A, Lehmann R, et al. Erythropoietin is a potent physiologic stimulus for endothelial progenitor cell mobilization. *Blood* 2003; 102:1340-1346
- 43 Strehlow K, Werner N, Berweiler J, et al. Estrogen increases bone marrow-derived endothelial progenitor cell production and diminishes neointima formation. *Circulation* 2003; 107:3059-3065
- 44 Yee BJ, Cheung J, Phipps P, et al. Treatment of obesity hypoventilation syndrome and serum leptin. *Respiration* 2006; 73:209-212
- 45 Asahara T, Masuda H, Takahashi T, et al. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization. *Circ Res* 1999; 85:221-228
- 46 Hill JM, Zalos G, Halcox JP, et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med* 2003; 348:593-600
- 47 Tepper OM, Galiano RD, Capla JM, et al. Human endothelial progenitor cells from type II diabetics exhibit impaired proliferation, adhesion, and incorporation into vascular structures. *Circulation* 2002; 106:2781-2786
- 48 Mellick AS, Plummer PN, Nolan DJ, et al. Using the transcription factor inhibitor of DNA binding 1 to selectively target endothelial progenitor cells offers novel strategies to inhibit tumor angiogenesis and growth. *Cancer Res*; 70:7273-7282
- 49 Fadini GP, Schiavon M, Avogaro A, et al. The emerging role of endothelial progenitor cells in pulmonary hypertension and diffuse lung diseases. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2007; 24:85-93
- 50 Raoul W, Wagner-Ballon O, Saber G, et al. Effects of bone marrow-derived cells on monocrotaline- and hypoxia-induced pulmonary hypertension in mice. *Respir Res* 2007; 8:8
- 51 Zhao YD, Courtman DW, Deng Y, et al. Rescue of monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension using bone marrow-derived endothelial-like

- progenitor cells: efficacy of combined cell and eNOS gene therapy in established disease. *Circ Res* 2005; 96:442-450
- 52 Marsboom G, Pokreisz P, Gheysens O, et al. Sustained endothelial progenitor cell dysfunction after chronic hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Stem Cells* 2008; 26:1017-1026
- 53 Junhui Z, Xingxiang W, Guosheng F, et al. Reduced number and activity of circulating endothelial progenitor cells in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Respir Med* 2008; 102:1073-1079
- 54 Diller GP, van Eijl S, Okonko DO, et al. Circulating endothelial progenitor cells in patients with Eisenmenger syndrome and idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2008; 117:3020-3030
- 55 Fadini GP, Schiavon M, Rea F, et al. Depletion of endothelial progenitor cells may link pulmonary fibrosis and pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176:724-725; author reply 725
- 56 Palange P, Testa U, Huertas A, et al. Circulating haemopoietic and endothelial progenitor cells are decreased in COPD. *Eur Respir J* 2006; 27:529-541
- 57 Fadini GP, Schiavon M, Cantini M, et al. Circulating progenitor cells are reduced in patients with severe lung disease. *Stem Cells* 2006; 24:1806-1813
- 58 Takahashi T, Suzuki S, Kubo H, et al. Impaired endothelial progenitor cell mobilization and colony-forming capacity in chronic obstructive pulmonary disease. *Respirology*; 16:680-687
- 59 Liu X, Xie C. Human endothelial progenitor cells isolated from COPD patients are dysfunctional. *Mol Cell Biochem*; 363:53-63
- 60 Sala E, Villena C, Balaguer C, et al. Abnormal levels of circulating endothelial progenitor cells during exacerbations of COPD. *Lung*; 188:331-338
- 61 Asosingh K, Hanson JD, Cheng G, et al. Allergen-induced, eotaxin-rich, proangiogenic bone marrow progenitors: a blood-borne cellular envoy for lung eosinophilia. *J Allergy Clin Immunol*; 125:918-925
- 62 Jones CP, Pitchford SC, Lloyd CM, et al. CXCR2 mediates the recruitment of endothelial progenitor cells during allergic airways remodeling. *Stem Cells* 2009; 27:3074-3081
- 63 Asosingh K, Swaidani S, Aronica M, et al. Th1- and Th2-dependent endothelial progenitor cell recruitment and angiogenic switch in asthma. *J Immunol* 2007; 178:6482-6494
- 64 Yamada M, Kubo H, Ishizawa K, et al. Increased circulating endothelial progenitor cells in patients with bacterial pneumonia: evidence that bone marrow derived cells contribute to lung repair. *Thorax* 2005; 60:410-413
- 65 Zhang Y, Proenca R, Maffei M, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372:425-432
- 66 Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996; 334:292-295
- 67 Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N, et al. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nat Med* 1997; 3:1029-1033
- 68 Chilliard Y, Bonnet M, Delavaud C, et al. Leptin in ruminants. Gene expression in adipose tissue and mammary gland, and regulation of plasma concentration. *Domest Anim Endocrinol* 2001; 21:271-295
- 69 Bado A, Levasseur S, Attoub S, et al. The stomach is a source of leptin. *Nature* 1998; 394:790-793

- 70 Larsson H, Ahren B. Short-term dexamethasone treatment increases plasma leptin independently of changes in insulin sensitivity in healthy women. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:4428-4432
- 71 Vernooy JH, Drummen NE, van Suylen RJ, et al. Enhanced pulmonary leptin expression in patients with severe COPD and asymptomatic smokers. *Thorax* 2009; 64:26-32
- 72 Bruno A, Pace E, Chanez P, et al. Leptin and leptin receptor expression in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 124:230-237, 237 e231-234
- 73 Henson MC, Swan KF, Edwards DE, et al. Leptin receptor expression in fetal lung increases in late gestation in the baboon: a model for human pregnancy. *Reproduction* 2004; 127:87-94
- 74 Torday JS, Sun H, Wang L, et al. Leptin mediates the parathyroid hormone-related protein paracrine stimulation of fetal lung maturation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 282:L405-410
- 75 Saladin R, De Vos P, Guerre-Millo M, et al. Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration. *Nature* 1995; 377:527-529
- 76 Kolaczynski JW, Nyce MR, Considine RV, et al. Acute and chronic effects of insulin on leptin production in humans: Studies in vivo and in vitro. *Diabetes* 1996; 45:699-701
- 77 De Vos P, Saladin R, Auwerx J, et al. Induction of ob gene expression by corticosteroids is accompanied by body weight loss and reduced food intake. *J Biol Chem* 1995; 270:15958-15961
- 78 Sarraf P, Frederich RC, Turner EM, et al. Multiple cytokines and acute inflammation raise mouse leptin levels: potential role in inflammatory anorexia. *J Exp Med* 1997; 185:171-175
- 79 Gualillo O, Eiras S, Lago F, et al. Elevated serum leptin concentrations induced by experimental acute inflammation. *Life Sci* 2000; 67:2433-2441
- 80 Zhang HH, Kumar S, Barnett AH, et al. Tumour necrosis factor-alpha exerts dual effects on human adipose leptin synthesis and release. *Mol Cell Endocrinol* 2000; 159:79-88
- 81 Faggioni R, Fantuzzi G, Fuller J, et al. IL-1 beta mediates leptin induction during inflammation. *Am J Physiol* 1998; 274:R204-208
- 82 Popa C, Netea MG, Radstake TR, et al. Markers of inflammation are negatively correlated with serum leptin in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005; 64:1195-1198
- 83 Otero M, Lago R, Gomez R, et al. Towards a pro-inflammatory and immunomodulatory emerging role of leptin. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45:944-950
- 84 Baratta M. Leptin--from a signal of adiposity to a hormonal mediator in peripheral tissues. *Med Sci Monit* 2002; 8:RA282-292
- 85 Fruhbeck G. Peripheral actions of leptin and its involvement in disease. *Nutr Rev* 2002; 60:S47-55; discussion S68-84, 85-47
- 86 Luoh SM, Di Marco F, Levin N, et al. Cloning and characterization of a human leptin receptor using a biologically active leptin immunoadhesin. *J Mol Endocrinol* 1997; 18:77-85
- 87 Mercer JG, Hoggard N, Williams LM, et al. Localization of leptin receptor mRNA and the long form splice variant (Ob-Rb) in mouse hypothalamus and adjacent brain regions by in situ hybridization. *FEBS Lett* 1996; 387:113-116

- 88 Hoggard N, Mercer JG, Rayner DV, et al. Localization of leptin receptor mRNA splice variants in murine peripheral tissues by RT-PCR and in situ hybridization. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 232:383-387
- 89 Hoggard N, Hunter L, Duncan JS, et al. Leptin and leptin receptor mRNA and protein expression in the murine fetus and placenta. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94:11073-11078
- 90 Bergen HT, Cherlet TC, Manuel P, et al. Identification of leptin receptors in lung and isolated fetal type II cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002; 27:71-77
- 91 Tsuchiya T, Shimizu H, Horie T, et al. Expression of leptin receptor in lung: leptin as a growth factor. *Eur J Pharmacol* 1999; 365:273-279
- 92 Nair P, Radford K, Fanat A, et al. The effects of leptin on airway smooth muscle responses. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2008; 39:475-481
- 93 Bruno A, Chanez P, Chiappara G, et al. Does leptin play a cytokine-like role within the airways of COPD patients? *Eur Respir J* 2005; 26:398-405
- 94 Pellemounter MA, Cullen MJ, Baker MB, et al. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* 1995; 269:540-543
- 95 Rajala MW, Scherer PE. Minireview: The adipocyte--at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. *Endocrinology* 2003; 144:3765-3773
- 96 Ahima RS. Central actions of adipocyte hormones. *Trends Endocrinol Metab* 2005; 16:307-313
- 97 Van Heek M, Compton DS, France CF, et al. Diet-induced obese mice develop peripheral, but not central, resistance to leptin. *J Clin Invest* 1997; 99:385-390
- 98 Bjorbaek C, Elmquist JK, Frantz JD, et al. Identification of SOCS-3 as a potential mediator of central leptin resistance. *Mol Cell* 1998; 1:619-625
- 99 Lord GM, Matarese G, Howard JK, et al. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature* 1998; 394:897-901
- 100 Dunbar JC, Hu Y, Lu H. Intracerebroventricular leptin increases lumbar and renal sympathetic nerve activity and blood pressure in normal rats. *Diabetes* 1997; 46:2040-2043
- 101 Cao GY, Considine RV, Lynn RB. Leptin receptors in the adrenal medulla of the rat. *Am J Physiol* 1997; 273:E448-452
- 102 Sierra-Honigmann MR, Nath AK, Murakami C, et al. Biological action of leptin as an angiogenic factor. *Science* 1998; 281:1683-1686
- 103 Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, et al. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature* 1996; 382:250-252
- 104 Frank S, Stallmeyer B, Kampfer H, et al. Leptin enhances wound re-epithelialization and constitutes a direct function of leptin in skin repair. *J Clin Invest* 2000; 106:501-509
- 105 O'Donnell CP, Tankersley CG, Polotsky VP, et al. Leptin, obesity, and respiratory function. *Respir Physiol* 2000; 119:163-170
- 106 Sood A, Ford ES, Camargo CA, Jr. Association between leptin and asthma in adults. *Thorax* 2006; 61:300-305
- 107 Ding X, Saxena NK, Lin S, et al. The roles of leptin and adiponectin: a novel paradigm in adipocytokine regulation of liver fibrosis and stellate cell biology. *Am J Pathol* 2005; 166:1655-1669
- 108 Giaid A, Michel RP, Stewart DJ, et al. Expression of endothelin-1 in lungs of patients with cryptogenic fibrosing alveolitis. *Lancet* 1993; 341:1550-1554

- 109 Ikejima K, Takei Y, Honda H, et al. Leptin receptor-mediated signaling regulates hepatic fibrogenesis and remodeling of extracellular matrix in the rat. *Gastroenterology* 2002; 122:1399-1410
- 110 Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest* 2005; 115:209-218
- 111 Marra F. Leptin and liver fibrosis: a matter of fat. *Gastroenterology* 2002; 122:1529-1532
- 112 Potter JJ, Womack L, Mezey E, et al. Transdifferentiation of rat hepatic stellate cells results in leptin expression. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 244:178-182
- 113 Ikejima K, Lang T, Zhang YJ, et al. Expression of leptin receptors in hepatic sinusoidal cells. *Comp Hepatol* 2004; 3 Suppl 1:S12
- 114 Ikejima K, Honda H, Yoshikawa M, et al. Leptin augments inflammatory and profibrogenic responses in the murine liver induced by hepatotoxic chemicals. *Hepatology* 2001; 34:288-297
- 115 Tang M, Potter JJ, Mezey E. Leptin enhances the effect of transforming growth factor beta in increasing type I collagen formation. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 297:906-911
- 116 Cao Q, Mak KM, Lieber CS. Leptin represses matrix metalloproteinase-1 gene expression in LX2 human hepatic stellate cells. *J Hepatol* 2007; 46:124-133
- 117 Cao Q, Mak KM, Ren C, et al. Leptin stimulates tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in human hepatic stellate cells: respective roles of the JAK/STAT and JAK-mediated H₂O₂-dependant MAPK pathways. *J Biol Chem* 2004; 279:4292-4304
- 118 Saxena NK, Ikeda K, Rockey DC, et al. Leptin in hepatic fibrosis: evidence for increased collagen production in stellate cells and lean littermates of ob/ob mice. *Hepatology* 2002; 35:762-771
- 119 Saxena NK, Saliba G, Floyd JJ, et al. Leptin induces increased alpha2(I) collagen gene expression in cultured rat hepatic stellate cells. *J Cell Biochem* 2003; 89:311-320
- 120 Leclercq IA, Farrell GC, Schriemer R, et al. Leptin is essential for the hepatic fibrogenic response to chronic liver injury. *J Hepatol* 2002; 37:206-213
- 121 Zografos TA, Rigopoulou EI, Liaskos C, et al. Alterations of leptin during IFN-alpha therapy in patients with chronic viral hepatitis. *J Hepatol* 2006; 44:848-855
- 122 Crespo J, Rivero M, Fabrega E, et al. Plasma leptin and TNF-alpha levels in chronic hepatitis C patients and their relationship to hepatic fibrosis. *Dig Dis Sci* 2002; 47:1604-1610
- 123 Piche T, Vandenbos F, Abakar-Mahamat A, et al. The severity of liver fibrosis is associated with high leptin levels in chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 2004; 11:91-96
- 124 Kasiske BL, Crosson JT. Renal disease in patients with massive obesity. *Arch Intern Med* 1986; 146:1105-1109
- 125 Widjaja A, Stratton IM, Horn R, et al. UKPDS 20: plasma leptin, obesity, and plasma insulin in type 2 diabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:654-657
- 126 Wolf G, Hamann A, Han DC, et al. Leptin stimulates proliferation and TGF-beta expression in renal glomerular endothelial cells: potential role in glomerulosclerosis [seecomments]. *Kidney Int* 1999; 56:860-872

- 127 Han DC, Isono M, Chen S, et al. Leptin stimulates type I collagen production in db/db mesangial cells: glucose uptake and TGF-beta type II receptor expression. *Kidney Int* 2001; 59:1315-1323
- 128 Serradeil-Le Gal C, Raufaste D, Brossard G, et al. Characterization and localization of leptin receptors in the rat kidney. *FEBS Lett* 1997; 404:185-191
- 129 Cohen MP, Sharma K, Jin Y, et al. Prevention of diabetic nephropathy in db/db mice with glycated albumin antagonists. A novel treatment strategy. *J Clin Invest* 1995; 95:2338-2345
- 130 Jain M, Budinger GR, Lo A, et al. Leptin promotes fibroproliferative acute respiratory distress syndrome by inhibiting peroxisome proliferator-activated receptor-gamma. *Am J Respir Crit Care Med*; 183:1490-1498
- 131 Pineiro R, Iglesias MJ, Gallego R, et al. Adiponectin is synthesized and secreted by human and murine cardiomyocytes. *FEBS Lett* 2005; 579:5163-5169
- 132 Delaigle AM, Jonas JC, Bauche IB, et al. Induction of adiponectin in skeletal muscle by inflammatory cytokines: in vivo and in vitro studies. *Endocrinology* 2004; 145:5589-5597
- 133 Wolf AM, Wolf D, Avila MA, et al. Up-regulation of the anti-inflammatory adipokine adiponectin in acute liver failure in mice. *J Hepatol* 2006; 44:537-543
- 134 Chen J, Tan B, Karteris E, et al. Secretion of adiponectin by human placenta: differential modulation of adiponectin and its receptors by cytokines. *Diabetologia* 2006; 49:1292-1302
- 135 Rosen ED, Spiegelman BM. Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature* 2006; 444:847-853
- 136 Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, et al. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2006; 116:1784-1792
- 137 Ukkola O, Santaniemi M. Adiponectin: a link between excess adiposity and associated comorbidities? *J Mol Med (Berl)* 2002; 80:696-702
- 138 Hotta K, Funahashi T, Arita Y, et al. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:1595-1599
- 139 Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, et al. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:1930-1935
- 140 Bruun JM, Lihn AS, Verdich C, et al. Regulation of adiponectin by adipose tissue-derived cytokines: in vivo and in vitro investigations in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 285:E527-533
- 141 Maeda N, Takahashi M, Funahashi T, et al. PPARgamma ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein. *Diabetes* 2001; 50:2094-2099
- 142 Diez JJ, Iglesias P. The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease. *Eur J Endocrinol* 2003; 148:293-300
- 143 Kadowaki T, Hara K, Yamauchi T, et al. Molecular mechanism of insulin resistance and obesity. *Exp Biol Med (Maywood)* 2003; 228:1111-1117
- 144 Wolf AM, Wolf D, Rumpold H, et al. Adiponectin induces the anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-1RA in human leukocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 323:630-635

- 145 Yamaguchi N, Argueta JG, Masuhiro Y, et al. Adiponectin inhibits Toll-like receptor family-induced signaling. *FEBS Lett* 2005; 579:6821-6826
- 146 Kim KY, Kim JK, Han SH, et al. Adiponectin is a negative regulator of NK cell cytotoxicity. *J Immunol* 2006; 176:5958-5964
- 147 Kamada Y, Tamura S, Kiso S, et al. Enhanced carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in mice lacking adiponectin. *Gastroenterology* 2003; 125:1796-1807
- 148 Standardization of Spirometry, 1994 Update. American Thoracic Society. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152:1107-1136
- 149 Yock PG, Popp RL. Noninvasive estimation of right ventricular systolic pressure by Doppler ultrasound in patients with tricuspid regurgitation. *Circulation* 1984; 70:657-662
- 150 Himelman RB, Stulbarg M, Kircher B, et al. Noninvasive evaluation of pulmonary artery pressure during exercise by saline-enhanced Doppler echocardiography in chronic pulmonary disease. *Circulation* 1989; 79:863-871
- 151 Barst RJ, McGoon M, Torbicki A, et al. Diagnosis and differential assessment of pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43:40S-47S
- 152 Ito H, Rovira, II, Bloom ML, et al. Endothelial progenitor cells as putative targets for angiostatin. *Cancer Res* 1999; 59:5875-5877
- 153 Malli F, Papaioannou AI, Gourgoulisanis KI, et al. The role of leptin in the respiratory system: an overview. *Respir Res*; 11:152
- 154 Buechler C, Wanninger J, Neumeier M. Adiponectin, a key adipokine in obesity related liver diseases. *World J Gastroenterol*; 17:2801-2811
- 155 Horvath I, Hunt J, Barnes PJ, et al. Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions. *Eur Respir J* 2005; 26:523-548
- 156 Kostikas K, Papatheodorou G, Ganas K, et al. pH in expired breath condensate of patients with inflammatory airway diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165:1364-1370
- 157 Kyle UG, Bosaeus I, De Lorenzo AD, et al. Bioelectrical impedance analysis--part I: review of principles and methods. *Clin Nutr* 2004; 23:1226-1243
- 158 Kyle UG, Bosaeus I, De Lorenzo AD, et al. Bioelectrical impedance analysis--part II: utilization in clinical practice. *Clin Nutr* 2004; 23:1430-1453
- 159 Jones PW, Quirk FH, Baveystock CM, et al. A self-complete measure of health status for chronic airflow limitation. The St. George's Respiratory Questionnaire. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145:1321-1327
- 160 Krommidas G, Kostikas K, Papatheodorou G, et al. Plasma leptin and adiponectin in COPD exacerbations: associations with inflammatory biomarkers. *Respir Med*; 104:40-46
- 161 Fadini GP, Avogaro A, Ferraccioli G, et al. Endothelial progenitors in pulmonary hypertension: new pathophysiology and therapeutic implications. *Eur Respir J*; 35:418-425
- 162 Lam CF, Liu YC, Hsu JK, et al. Autologous transplantation of endothelial progenitor cells attenuates acute lung injury in rabbits. *Anesthesiology* 2008; 108:392-401
- 163 Akita T, Murohara T, Ikeda H, et al. Hypoxic preconditioning augments efficacy of human endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization. *Lab Invest* 2003; 83:65-73
- 164 Maher TM, Wells AU, Laurent GJ. Idiopathic pulmonary fibrosis: multiple causes and multiple mechanisms? *Eur Respir J* 2007; 30:835-839

- 165 Mao M, Wang SN, Lv XJ, et al. Intravenous delivery of bone marrow-derived endothelial progenitor cells improves survival and attenuates lipopolysaccharide-induced lung injury in rats. *Shock*; 34:196-204
- 166 Nathan SD, Noble PW, Tuder RM. Idiopathic pulmonary fibrosis and pulmonary hypertension: connecting the dots. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175:875-880
- 167 Ferrara N, Houck K, Jakeman L, et al. Molecular and biological properties of the vascular endothelial growth factor family of proteins. *Endocr Rev* 1992; 13:18-32
- 168 Avouac J, Wipff J, Goldman O, et al. Angiogenesis in systemic sclerosis: impaired expression of vascular endothelial growth factor receptor 1 in endothelial progenitor-derived cells under hypoxic conditions. *Arthritis Rheum* 2008; 58:3550-3561
- 169 Tsochatzis E, Papatheodoridis GV, Archimandritis AJ. The evolving role of leptin and adiponectin in chronic liver diseases. *Am J Gastroenterol* 2006; 101:2629-2640
- 170 Yang AH, Huang SW, Chen JY, et al. Leptin augments myofibroblastic conversion and fibrogenic activity of human peritoneal mesothelial cells: a functional implication for peritoneal fibrosis. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22:756-762
- 171 Levy P, Pepin JL, Arnaud C, et al. Intermittent hypoxia and sleep-disordered breathing: current concepts and perspectives. *Eur Respir J* 2008; 32:1082-1095
- 172 Grosfeld A, Andre J, Hauguel-De Mouzon S, et al. Hypoxia-inducible factor 1 transactivates the human leptin gene promoter. *J Biol Chem* 2002; 277:42953-42957
- 173 Barnholt KE, Hoffman AR, Rock PB, et al. Endocrine responses to acute and chronic high-altitude exposure (4,300 meters): modulating effects of caloric restriction. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 290:E1078-1088
- 174 Chaiban JT, Bitar FF, Azar ST. Effect of chronic hypoxia on leptin, insulin, adiponectin, and ghrelin. *Metabolism* 2008; 57:1019-1022
- 175 Bruder ED, Hoof JV, Young JB, et al. Epidermal growth factor and parathyroid hormone-related peptide mRNA in the mammary gland and their concentrations in milk: effects of postpartum hypoxia in lactating rats. *Horm Metab Res* 2008; 40:446-453
- 176 Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 1998; 395:763-770
- 177 Chang JA, Curtis JR, Patrick DL, et al. Assessment of health-related quality of life in patients with interstitial lung disease. *Chest* 1999; 116:1175-1182
- 178 Yamada N, Katsuura G, Ochi Y, et al. Impaired CNS leptin action is implicated in depression associated with obesity. *Endocrinology*; 152:2634-2643
- 179 Currie PJ, Seward JB, Chan KL, et al. Continuous wave Doppler determination of right ventricular pressure: a simultaneous Doppler-catheterization study in 127 patients. *J Am Coll Cardiol* 1985; 6:750-756

