

---

# **ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΗΣ ΚΟΙΛΟΤΗΤΑΣ**

**ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΑΜΙΛΟΡΙΔΗΣ, ΟΥΑΜΠΑΪΝΗΣ, ΝΙΤΡΟΠΡΩΣΣΙΚΟΥ  
ΝΑΤΡΙΟΥ, 17β ΟΙΣΤΡΑΔΙΟΛΗΣ ΚΑΙ ΠΡΟΓΕΣΤΕΡΟΝΗΣ ΣΤΗ  
ΔΙΑΚΙΝΗΣΗ ΤΟΥ ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΟΥ ΥΓΡΟΥ**

---

**ΧΡΥΣΗ Α. ΧΑΤΖΟΓΛΟΥ  
ΓΕΝΙΚΗ ΙΑΤΡΟΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

---

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ  
ΤΟΜΕΑΣ ΒΑΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΛΑΡΙΣΑ 2001**

---

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μελέτη εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Φυσιολογίας του Ιατρικού Τμήματος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, στο διάστημα Νοέμβριος 1997–Σεπτέμβριος 2001, υπό την καθοδήγηση του Αναπληρωτή Καθηγητή Κωνσταντίνου Γουργουλιάνη. Η μελέτη αυτή δεν θα είχε ολοκληρωθεί χωρίς τη συμβολή δασκάλων, συνεργατών και φίλων. Τους αναφέρω εκφράζοντας τις ευχαριστίες και την ευγνωμοσύνη μου.

Ευχαριστώ,

› τον Πρόεδρο του Ιατρικού Τμήματος Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Καθηγητή Πασχάλη-Αδάμ Μολυβδά, για την επιστημονική βοήθεια, τις συμβουλές και τις πολύτιμες παρατηρήσεις του.

› τον Αναπληρωτή Καθηγητή Κωνσταντίνο Γουργουλιάνη, επιστημονικό υπεύθυνο της διατριβής αυτής, για την πολύτιμη βοήθεια και την αμέριστη συμπαράστασή του. Η ανεκτίμητη διδασκαλία του έδωσε νέα μορφή στην επιστημονική μου σκέψη.

› την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Σοφία Μπονάνου-Τζεδάκη για τη συμβολή της στην διόρθωση και παρουσίαση της διατριβής.

› την κ. Αναστασία Χατζόγλου, Λέκτορα του Ιατρικού Τμήματος Πανεπιστημίου Κρήτης, για τις κριτικές παρατηρήσεις και τη βοήθεια στη μελέτη των υποδοχέων στεροειδών ορμονών.

› τον κ. Ιωάννη Μακαντάση, τεχνικό του εργαστηρίου φυσιολογίας για την εξαιρετική τεχνική υποστήριξή του.

› τους συνεργάτες και φίλους Κάτια Ντόμαλη, Ευριπίδη Πραντζούδη, Ελένη Σουλούκου και Ελένη Καρέτση για την πολύπλευρη συμπαράσταση και υποστήριξή τους.

› τους φίλους Βασίλη Ράο, Τούλα Καμνηιώτου και Στέλλα Καντή για την ηθική τους συμπαράσταση.

## **ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**ΠΑΣΧΑΛΗΣ ΑΔΑΜ ΜΟΛΥΒΔΑΣ**

Πρόεδρος Ιατρικού Τμήματος Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Καθηγητής Φυσιολογίας

**ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΓΟΥΡΓΟΥΛΙΑΝΗΣ**

Αναπληρωτής Καθηγητής Φυσιολογίας

**ΣΟΦΙΑ ΜΠΟΝΑΝΟΥ ΤΖΕΔΑΚΗ**

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βιοχημείας

## **ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**ΠΑΣΧΑΛΗΣ ΑΔΑΜ ΜΟΛΥΒΔΑΣ**

Πρόεδρος Ιατρικού Τμήματος Πανεπιστημίου Θεσσαλίας  
Καθηγητής Φυσιολογίας

**ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΟΥΚΟΥΛΗΣ**

Καθηγητής Παθολογικής Ανατομικής

**ΙΩΑΝΝΗΣ ΜΕΣΣΗΝΗΣ**

Καθηγητής Μαιευτικής-Γυνακολογίας

**ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΣΤΑΘΑΚΗΣ**

Καθηγητής Παθολογίας

**ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΓΟΥΡΓΟΥΛΙΑΝΗΣ**

Αναπληρωτής Καθηγητής Φυσιολογίας

**ΣΟΦΙΑ ΜΠΟΝΑΝΟΥ ΤΖΕΔΑΚΗ**

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βιοχημείας

**ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΟΥΚΟΥΛΗΣ**

Επίκουρος Καθηγητής Ενδοκρινολογίας

## **ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ**

## ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Όνομα	Χρυσή
Επίθετο	Χατζόγλου
Ημ/νία Γεννήσεως	4 Απριλίου 1967
Διεύθυνση Κατοικίας	25 Μαρτίου 3 41221 Λάρισα Τηλ: 041-286082

## ΣΠΟΥΔΕΣ

1986-1990	Πτυχίο Νοσηλευτικής Σχολή Επιστημών Υγείας Πρόνοιας Τ.Ε.Ι. Ηρακλείου
1991-1996	Πτυχίο Ιατρικής Σχολή Επιστημών Υγείας Τμήμα Ιατρικής, Παν/μιο Κρήτης.
1997-Σήμερα	Εκπόνηση Διδακτορικής Διατριβής Ιατρικό Τμήμα Παν/μίου Θεσσαλίας Τμήμα Φυσιολογίας

## ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΣΕ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΜΕ ΚΡΙΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1. Hatzoglou A, Bakogeorgou E, **HATZOGLOU CH**, Martin PM, Castanas E. Antiproliferative and receptor binding properties of alpha - and beta - casomorphins in the T47D human breast cancer cell line. Eur. J. Pharmacol. 310 (2-3): 217-223, 1996.
2. **HATZOGLOU CH**, Gourgoulisanis KI, Molyvdas PA. Effects of SNP, ouabain, and amiloride on electrical potential profile of isolated sheep pleura. J. Appl. Physiol. 90 (4): 1565-1569, 2001.
3. **HATZOGLOU CH**, Gourgoulisanis KI, Hatzoglou A, Castanas E, Molyvdas PA. Rapid effects of 17 $\beta$  estradiol and progesterone on sheep

visceral and parietal pleura via a nitric oxide pathway. J. Appl. Physiol. (In press)

### **ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ (ΜΕ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ, ΟΜΙΛΙΕΣ Ή POSTER)**

1. Hatzoglou A, Bakogeorgou E, **HATZOGLU CH**, Martin P.M, Castanas E. Antiproliferative and receptor binding properties of  $\alpha$ - and  $\beta$ -casomorphin peptides, in the T47D human breast cancer cell line. 21<sup>st</sup> Meeting of the International Association for Breast Cancer Research, Paris, France 1996, P3-2.
2. Σαμαρά Ι, Καντζά Χ, Προβατά Α, **ΧΑΤΖΟΓΛΟΥ Χ**, Ρίζος Δ., Λουκίδης Σ, Κοντοζόγλου Γ, Τσιάμπα Μ, Ρίζος Σ, Πουλάκης Ν, Πολυζωγόπουλος Δ, Τσουράπης Σ. Π.Υ. Νέο διαφοροδιαγνωστικό κριτήριο διϋδρώματος–εξιδρώματος. 9<sup>ο</sup> Παμπελοποννησιακό Καρδιολογικό Συνέδριο Τρίπολη 1997, 3.
3. **ΧΑΤΖΟΓΛΟΥ Χ**, Κρομμύδας Γ, Ηλιοδρομίτη Ζ, Παπακώστα Σ, Σπυρακόπουλος Ι, Γουργουλιάνης Κ. Χαρακτηριστικά παιδικού βρογχικού άσθματος. 9<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος Θεσ/νίκη 1997, 189.
4. Τουρκοχωρίτη Γ, Πανουτσόπουλος Γ, Σαμαρά Ι, **ΧΑΤΖΟΓΛΟΥ Χ**, Σταυρακάκη-Καλλέργη Κ, Τσουράπης Σ, Μπόφος Δ. Ο προσδιορισμός επτά καρκινικών δεικτών και η συμβολή τους στη διάγνωση του καρκίνου του πνεύμονα. 9<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ογκολογίας 1997, 51.
5. Τουρκοχωρίτη Γ, Πανουτσόπουλος Γ, Σαμαρά Ι, Χατζόγλου Α, **ΧΑΤΖΟΓΛΟΥ Χ**, Τσουράπης Σ, Μπόφος Δ. Μελέτη καρκινικών δεικτών και η συμβολή τους στη διάγνωση καρκίνου του πνεύμονα. 4<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ακτινοθεραπευτικής Ογκολογίας Αθήνα 1997,80.
6. Χατζόγλου Α, Μπακογεώργου Ε, **ΧΑΤΖΟΓΛΟΥ Χ**, Σαμαρά Ι, Καστανάς Η. Οι  $\alpha$ - και  $\beta$ - καζομορφίνες καταστέλλουν τον πολλαπλασιασμό κυτταρικών σειρών του καρκίνου του μαστού. 24<sup>ο</sup> Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο Αθήνα 1998, 310.
7. Χατζόγλου Α, Martin P.M, Βλαχονικολής Ι, **ΧΑΤΖΟΓΛΟΥ Χ**, Σαμαρά Ι, Καστανάς Η. Προγνωστικοί βιολογικοί παράγοντες σε πρωτοπαθείς όγκους του μαστού και τις μεταστάσεις τους. 24<sup>ο</sup> Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο Αθήνα 1998, 311.
8. Σαμαρά Ι, Προβατά Α, Τουρκοχωρίτη Γ, Καντζά Χ, **ΧΑΤΖΟΓΛΟΥ Χ**, Τσουράπης Σ. Διαφοροδιάγνωση των υπεζωκοτικών συλλογών. 24<sup>ο</sup> Ετήσιο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο Αθήνα 1998, 149.
9. Σαμαρά Ι, Χατζόγλου Α, **ΧΑΤΖΟΓΛΟΥ Χ**, Προβατά Α, Σταυρακάκη-Καλλέργη Κ, Δημάδη Μ., Τσουράπης Σ. Η συμβολή των επιπέδων των

- ιόντων Π.Υ. στον διαχωρισμό των πλευριτικών συλλογών σε διϋδρώματα και εξιδρώματα. 2<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Χημείας Αθήνα 1998, P 26.
10. Σαμαρά Ι, Προβατά Α, Τουρκοχωρίτης Γ, Καντζά Χ, Σταυρακάκη-Καλλέργη Κ, Χατζόγλου Α, **ΧΑΤΖΟΓΛΟΥ Χ**, Τσουράπης Σ. Υπεζωκοτικές συλλογές – Η συμβολή δύο ενζύμων στη διαφορική τους διάγνωση. 2<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Χημείας Αθήνα 1998, Α 19.
  11. Ασέφα Ι, Σταυρακάκη-Καλλέργη Κ, Σαμαρά Ι, Καντζά Χ, Γιαλαμά Χ, Χατζόγλου Α, **ΧΑΤΖΟΓΛΟΥ Χ**, Καραγιαννίδης Ν, Λιτός Γ, Τσουράπης Σ. Η ουρία στο βρογχικό έκπλυμα. 2<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Χημείας Αθήνα 1998, P 13.
  12. Χατζόγλου Α, Μπακογεώργου Ε, **ΧΑΤΖΟΓΛΟΥ Χ**, Σαμαρά Ι, Καστανάς Η. Καταστολή του πολλαπλασιασμού κυτταρικών σειρών του καρκίνου του μαστού. Η δράση των α- και β- καζομορφινών. 3<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Γυναικολογικής Ογκολογίας Αθήνα 1998, P 52.
  13. Χατζόγλου Α, Martin PM, Βλαχονικολής Ι, **ΧΑΤΖΟΓΛΟΥ Χ**, Σαμαρά Ι, Καστανάς Η. Πρωτοπαθείς όγκοι του μαστού και μεταστάσεις τους. Προγνωστικοί βιολογικοί παράγοντες. 3<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Γυναικολογικής Ογκολογίας Αθήνα 1998, P 74.
  14. Samara I, Stavrakaki-Kallergi K, Provata A, Hatzoglou A, **HATZOCLOU CH**, Kanellopoulou K, Voureka E, Kantza Ch, Tsourapis S. The clinical significance of adenosine deaminase in the differentiation of pleural effusions. Balkan Journal of Clinical Laboratory 1998, P 124.
  15. Samara I, Provata A, Stavrakaki-Kallergi K, Ramantani A, Sifodidou H, Hatzoglou A, **HATZOCLOU CH**, Tsourapis S. The diagnostic value of three enzymes in the differentiation of pleural effusions. Balkan Journal of Clinical Laboratory 1998, P 126.
  16. **ΧΑΤΖΟΓΛΟΥ Χ**, Παστάκα Χ. Εισνεόμενο μονοξειδίο του αζώτου και μερική τάση του οξυγόνου στο αρτηριακό αίμα σε ασθενείς με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια και σοβαρή πνευμονική υπέρταση. 14<sup>ο</sup> Μεταπτυχιακό Σεμινάριο Ελληνικής Βρογχολογικής Εταιρίας Αθήνα 1998, 6C.1.
  17. **ΧΑΤΖΟΓΛΟΥ Χ**, Παστάκα Χ. Συνδυασμένη χορήγηση εισπνεόμενου μονοξειδίου του αζώτου και οξυγόνου στη χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια. 14<sup>ο</sup> Μεταπτυχιακό Σεμινάριο Ελληνικής Βρογχολογικής Εταιρίας Αθήνα 1998, 1C.3.
  18. Καμπά Μ, Χατζόγλου Α, Μπακογεώργου Ε, Δαμιανάκη Α, **ΧΑΤΖΟΓΛΟΥ Χ**, Γεμετζή Κ, Καστανάς Η. Οι οπιοειδείς αγωνιστές ελαττώνουν τον πολλαπλασιασμό κυττάρων καρκινικών σειρών του προστάτου. 10<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ογκολογίας Θεσσαλονίκη 1999, P 4.
  19. Χατζόγλου Α, Μπακογεώργου Ε, Δαμιανάκη Α, Καμπά Μ, **ΧΑΤΖΟΓΛΟΥ Χ**, Γεμετζή Κ, Καστανάς Η. Πεπτίδια και αλκαλοειδή με



- οπιοειδή δράση μειώνουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και προκαλούν απόπτωση στα κύτταρα της καρκινικής σειράς κύστεως EJ. 10<sup>0</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ογκολογίας Θεσσαλονίκη 1999, Ρ 5.
20. Καμπά Μ, Χατζόγλου Α, Μπακογεώργου Ε, Δαμιανάκη Α, **ΧΑΤΖΟΓΛΟΥ Χ**, Γεμετζή Κ, Λουκάς Σ, Καστανάς Η. Ανακάλυψη μιας νέας καζομορφίνης (As1-καζομορφίνη και το αμίδιο της) η οποία προέρχεται από την As1 καζεΐνη. 10<sup>0</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ογκολογίας Θεσσαλονίκη 1999, Ρ 6.
21. **ΧΑΤΖΟΓΛΟΥ Χ**, Γουργουλιάνης ΚΙ, Μολυβδάς ΠΑ. Διαπερατότητα υπεζωκότα. Πειραματικό μοντέλο σε αρνιά. 10<sup>0</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος Αθήνα 1999, 11.
22. **ΧΑΤΖΟΓΛΟΥ Χ**, Γουργουλιάνης ΚΙ, Κοσμάς Ε, Κιουμής Ι. Θεραπεία χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας: Ο ρόλος του Γενικού Γιατρού. 13<sup>0</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Γενικής Ιατρικής Ρόδος 2001.

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η υπεζωκοτική συλλογή είναι μια από τις σημαντικότερες εκδηλώσεις νόσων του αναπνευστικού συστήματος. Οι παθοφυσιολογικές διεργασίες που οδηγούν στη συλλογή υγρού στην υπεζωκοτική κοιλότητα, οφείλονται στη διαταραχή της ισορροπίας του ρυθμού παραγωγής και απορρόφησης υγρού.

Ο ρυθμός διακίνησης του υπεζωκοτικού υγρού είναι μεγάλος, συγκριτικά με τη μικρή ποσότητα που φυσιολογικά βρίσκεται στην υπεζωκοτική κοιλότητα. Η παραγωγή και η απορρόφηση του υπεζωκοτικού υγρού έχει εξηγηθεί κατά το μεγαλύτερο μέρος με βάση παθητικούς μηχανισμούς. Η σύσταση του υπεζωκοτικού υγρού γενικά είναι παρόμοια αλλά, όχι ίδια με τη σύσταση του διάμεσου υγρού. Επιπλέον η σύνθεση πολλών υπεζωκοτικών συλλογών είναι σημαντικά διαφορετική από το φυσιολογικό υπεζωκοτικό ή διάμεσο υγρό. Απλή παθητική παραγωγή και απορρόφηση δεν μπορεί από μόνη της να εξηγήσει τις διαφορές στη σύσταση μεταξύ του υπεζωκοτικού και του διάμεσου υγρού. Η μεταβολική δραστηριότητα του υπεζωκοτικού και του υποκείμενου πνευμονικού ιστού ή των κυττάρων του υπεζωκοτικού υγρού έχει προταθεί ως ικανή, να προκαλεί μεταβολές στη σύσταση του υπεζωκοτικού υγρού, παρόμοιες με αυτές που συχνά παρατηρούνται στις υπεζωκοτικές συλλογές. Εναλλακτική υπόθεση για αυτές τις διαφορές στη σύσταση περιλαμβάνει εκλεκτικές αλλαγές στους ρυθμούς παθητικής απορρόφησης κατά πλάτος του υπεζωκότα ή, και διαδικασίες ενεργητικής μεταφοράς.

Η γνώση της φυσιολογίας της υπεζωκοτικής κοιλότητας είναι απαραίτητη για τη μελέτη των παθοφυσιολογικών διαταραχών, την κατανόηση των αιτιών υπεζωκοτικής συλλογής, την έγκαιρη διάγνωση και την αντιμετώπιση των νόσων που χαρακτηρίζονται από την ανάπτυξη υπεζωκοτικής συλλογής.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελ.
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
<b>ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....</b>	<b>5</b>
ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ.....	6
Ιστολογία.....	7
Αιμάτωση.....	11
Λεμφαγγεία.....	12
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ.....	13
Ιστορική αναδρομή.....	14
Ο ρόλος των πιέσεων στη φυσιολογία της υπεζωκοτικής κοιλότητας.....	19
Αντιφατικά πειραματικά δεδομένα για τη φυσιολογία της υπεζωκοτικής κοιλότητας.....	27
Ο ρόλος των λεμφαγγείων στη φυσιολογία της υπεζωκοτικής κοιλότητας.....	29
ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ.....	31
Υπεζωκοτικό υγρό.....	32
Υπεζωκοτικές συλλογές.....	33
Μηχανισμοί υπεζωκοτικής συλλογής.....	33
Κατάταξη υπεζωκοτικών συλλογών.....	35
Υπεζωκοτική συλλογή εγκυμοσύνης.....	38
Υπεζωκοτική συλλογή συνδρόμου Meigs.....	40
Υπεζωκοτική συλλογή συνδρόμου υπερδιέγερσης ωοθηκών.....	41
ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ.....	43
Διάχυση.....	43
Ενεργητική μεταφορά.....	44
Μεταφορά διαμέσου επιθηλίων.....	44

Μελέτη διαπερατότητας των βιολογικών μεμβρανών.....	46
Χρήση ουσιών για τη μελέτη διαπερατότητας των βιολογικών μεμβρανών.....	47
Αμιλορίδη.....	48
Ουαμπαΐνη.....	49
Οξείδιο του αζώτου.....	49
Ορμονική ρύθμιση.....	51
Οιστρογόνα – Προγεστερόνη.....	52
Γονιδιακές και μη γονιδιακές επιδράσεις στεροειδών ορμονών	
Ένα σύνθετο μοντέλο δράσης.....	56
<b>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....</b>	<b>58</b>
<b>ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....</b>	<b>59</b>
Μέρος Α.....	59
Μέρος Β.....	64
<b>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>69</b>
Μέρος Α.....	69
Μέρος Β.....	76
<b>ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....</b>	<b>92</b>
<b>ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>104</b>
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....</b>	<b>107</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>111</b>
<b>BIBLIOΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>114</b>

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα τελευταία χρόνια φαίνεται ότι έχει αλλάξει η καθιερωμένη αντίληψη που θεωρούσε ότι το υπεζωκοτικό υγρό φυσιολογικά μετακινείται δια της υπεζωκοτικής κοιλότητας, από τον τοιχωματικό υπεζωκότα λόγω των υψηλών πιέσεων, στον πνευμονικό υπεζωκότα που χαρακτηρίζεται από χαμηλές πιέσεις. Η νέα θεωρία που φαίνεται να επικρατεί υποστηρίζει ότι το υγρό φυσιολογικά έρχεται στην υπεζωκοτική κοιλότητα, κυρίως από τα αγγεία της συστηματικής κυκλοφορίας του τοιχωματικού υπεζωκότα αλλά και από τις βρογχικές αρτηρίες. Η απομάκρυνση του υγρού σε φυσιολογικές καταστάσεις γίνεται από τα λεμφαγγεία του τοιχωματικού υπεζωκότα (116).

Πρόσφατες μελέτες, παρουσιάζουν έμμεσες αποδείξεις για την ενεργητική μεταφορά ηλεκτρολυτών από τον υπεζωκότα (2,177,178). Οι ερευνητές υποστηρίζουν την ύπαρξη συμμεταφοράς ιόντων  $\text{Na}^+\text{-Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+\text{-H}^+$ , και  $\text{Cl}^- \text{-HCO}_3^-$  όπως και την ύπαρξη αντλίας  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  τόσο στην πλευρά προς την υπεζωκοτική κοιλότητα όσο και στην πλευρά προς το διάμεσο ιστό. Ηλεκτροφυσιολογικές μελέτες έδειξαν τη δημιουργία διαφοράς δυναμικού μεταξύ τραχείας και πνευμονικού αγγείου καθώς και μεταξύ υπεζωκότα και πνευμονικού αγγείου. Η γέννηση αυτού του δυναμικού αποδόθηκε στην ενεργητική μεταφορά  $\text{Na}^+$  και  $\text{Cl}^-$  διαμέσου των παραπάνω μεμβρανών (44). Μικρή ενεργητική μεταφορά ιόντων  $\text{Na}^+$  σε υπεζωκότα σκύλου βρέθηκε από τον D'Angelo (33), αλλά όχι από άλλους

ερευνητές που υποστηρίζουν, πως τόσο ο τοιχωματικός όσο και ο πνευμονικός υπεζωκότας προβάτου είναι εξαιρετικά διαπερατές μεμβράνες και επιτρέπουν την ελεύθερη μετακίνηση υγρού και πρωτεϊνών (88,131).

Αποτελέσματα διαφορετικών μελετών (88,89,91,127131), θεωρούν πως τα τριχοειδή του υπεζωκότα καθορίζουν το ρυθμό μετακίνησης του υγρού και των ουσιών διαμέσου του υπεζωκότα και πως καμία μετακίνηση υγρού ή ουσιών δεν συμβαίνει αν δεν υπάρχουν διαφορές υδροστατικών ή οσμωτικών πιέσεων. Επιπλέον απόδειξη για την παραπάνω θεωρία είναι η καλοήθης υπεζωκοτική συλλογή του τοκετού που αποδίδεται στην αύξηση της υδροστατικής πίεσης και στη μείωση της κολλοειδωσμοωτικής πίεσης (63,75).

Εκτός από την καλοήθη υπεζωκοτική συλλογή του τοκετού υπεζωκοτικές συλλογές παρατηρούνται σε μερικές γυναίκες στο σύνδρομο υπερδιέγερσης ωοθηκών και στο σύνδρομο Meigs. Το σύνδρομο υπερδιέγερσης ωοθηκών παραμένει μια σημαντική ιατρογενής επιπλοκή της πρόκλησης ωοθυλακιορηξίας σε περιπτώσεις πρωτοπαθούς και δευτεροπαθούς στειρότητας. Η υπεζωκοτική συλλογή είναι γνωστή επιπλοκή της σοβαρής μορφής του συνδρόμου υπερδιέγερσης ωοθηκών (107). Η παθογένεια του συνδρόμου υπερδιέγερσης ωοθηκών και της υπεζωκοτικής συλλογής δεν είναι ξεκάθαρη. Πολλοί παράγοντες όπως ισταμίνη, προσταγλαδίνες, ιντερλευκίνη 6, ρενίνη-αγγειοτενσίνη, αλβουμίνη

και διάφορες κυτοκίνες έχουν συσχετιστεί με αυτή την επιπλοκή (76). Τα υψηλά επίπεδα στεροειδών ορμονών (οιστρογόνων, προγεστερόνης και αλδοστερόνης) εμπλέκονται επίσης, τροποποιώντας πιθανόν τη διαπερατότητα των αγγείων (76). Το σύνδρομο Meigs περιλαμβάνει έναν όγκο ωοθηκών, συνήθως ίνωμα μαζί με ασκίτη και υπεζωκοτική συλλογή. Η παθογένεια της δημιουργίας της περιτοναϊκής και της υπεζωκοτικής συλλογής δεν είναι καλά τεκμηριωμένη. Η μεταφορά του ασκίτικου υγρού στην υπεζωκοτική κοιλότητα, διαμέσου των διαφραγματικών λεμφαγγείων, είναι η επικρατούσα θεωρία (55,83).

Σκοπός αυτής της μελέτης ήταν να εξετάσει την επίδραση των διαδικασιών ενεργητικής μεταφοράς και παθητικής διάχυσης ιόντων στη διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν ουσίες που επηρεάζουν τη μετακίνηση ιόντων και μεταβάλλουν την ηλεκτρική αντίσταση ( $R_{TE}$ ) και κατ'επέκταση τη διαπερατότητα του υπεζωκότα προβάτου. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκε νιτροπρωσσικό νάτριο, ένας δότης οξειδίου του αζώτου, το οποίο αναστέλλει τους διαύλους  $Na^+$ , την αντλία  $Na^+-K^+$  και ελαττώνει τη διευκολυνόμενη διάχυση  $Na^+$ . Ουαμπαΐνη, η οποία αναστέλλει τη λειτουργία της αντλίας  $Na^+-K^+$  και αμιλορίδη, που αναστέλλει τους διαύλους  $Na^+$  την ανταλλαγή  $Na^+-H^+$  και  $Na^+-Ca^{2+}$ . Επιπρόσθετα εξετάστηκαν οι επιδράσεις της 17β οιστραδιόλης και της προγεστερόνης, όπως και η πιθανή εμπλοκή του οξειδίου του

αζώτου σ' αυτές, στην  $R_{TE}$  του τοιχωματικού και του πνευμονικού υπεζωκότα. Εξαιτίας των ανατομικών διαφορών μεταξύ των δύο πετάλων του υπεζωκότα οι μετρήσεις του πνευμονικού υπεζωκότα συγκρίθηκαν με αυτές του τοιχωματικού υπεζωκότα.



# ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ

Ο υπεζωκότας είναι ένας ημιδιαφανής υμένας που καλύπτει τους πνεύμονες, το μεσαύλιο, το διάφραγμα και το εσωτερικό τοίχωμα του θωρακικού κλωβού. Αποτελείται από δύο πέταλα, το πνευμονικό, που καλύπτει όλο τον πνεύμονα και τις μεσολόβιες σχισμές και το τοιχωματικό, που καλύπτει την έσω επιφάνεια του θωρακικού κλωβού, το μεσαύλιο και το διάφραγμα.

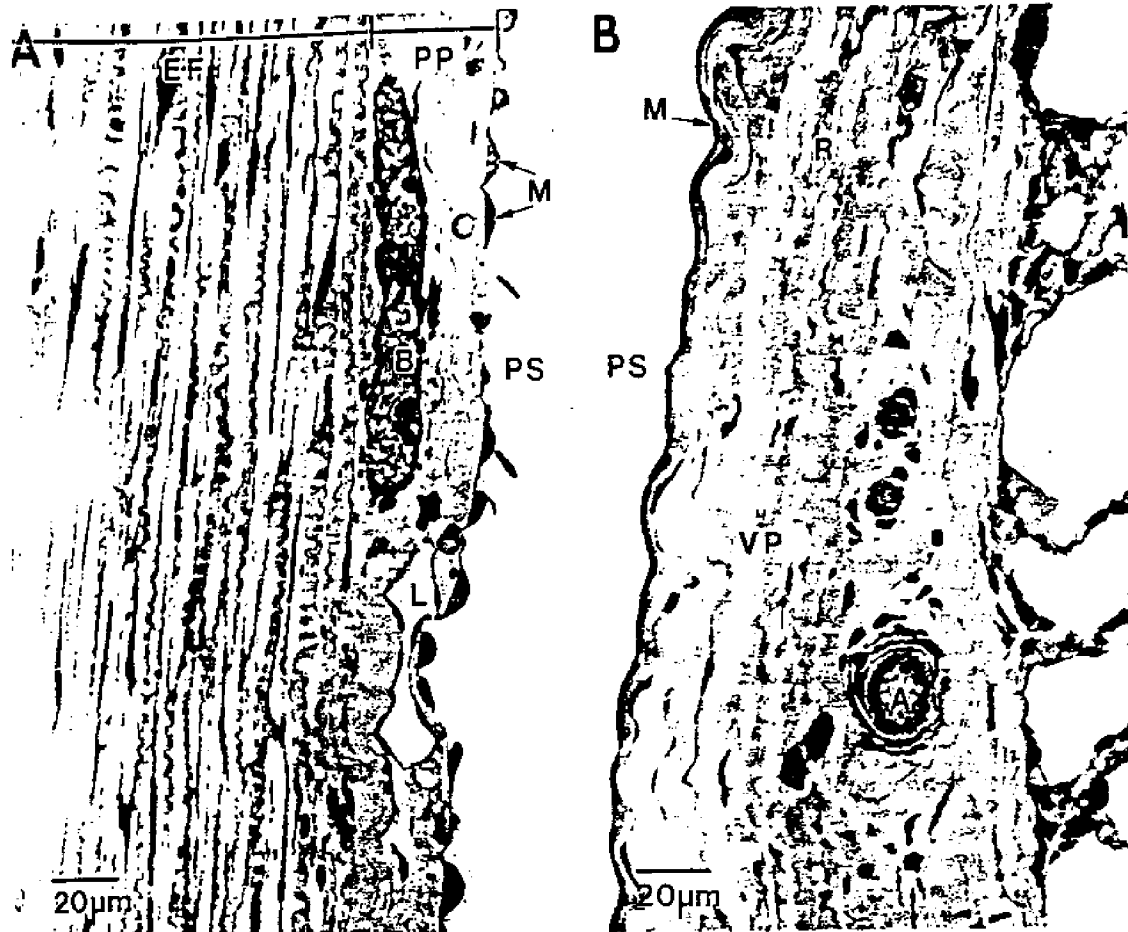
Τα δύο πέταλα του υπεζωκότα συναντώνται στην περιοχή της πύλης του πνεύμονα. Στο πρόβατο, ένα ζώο στο οποίο η ανατομία του υπεζωκότα είναι παρόμοια με του ανθρώπου, η επιφάνεια του πνευμονικού υπεζωκότα του ενός πνεύμονα, συμπεριλαμβανομένων και των μεσολόβιων σχισμών, είναι ίδια με του τοιχωματικού υπεζωκότα του ενός ημιθωρακίου, περίπου  $1000 \text{ cm}^2$ . Τα δύο πέταλα του υπεζωκότα αφορίζουν μία κοιλότητα, που κάτω από φυσιολογικές συνθήκες έχει πάχος περίπου 18 με 20  $\mu\text{m}$ . Ο πνευμονικός και ο τοιχωματικός υπεζωκότας δεν εφάπτονται ο ένας στον άλλο και η υπεζωκοτική κοιλότητα είναι ένας πραγματικός χώρος. Περιέχει μόνο μία λεπτή στιβάδα υγρού, που επιτρέπει την ομαλή ολίσθηση της μίας επιφάνειας πάνω στην άλλη κατά την διάρκεια των αναπνευστικών κινήσεων. Η ποσότητα του υπεζωκοτικού υγρού στο πρόβατο είναι περίπου 3,5 mL και από τα δύο ημιθωράκια (32,165).

Ο ρόλος του πνευμονικού και του τοιχωματικού υπεζωκότα στη διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού εξαρτάται από τη δομή, την αιμάτωση και την λεμφική απαγωγή.

### **Ι σ τ ο λ ο γ ί α**

Ο υπεζωκότας του προβάτου αποτελείται από δύο στιβάδες, τη μεσοθηλιακή και τη στιβάδα του συνδετικού ιστού. Η στιβάδα του συνδετικού ιστού είναι πλούσια σε αιμοφόρα αγγεία, νεύρα και λεμφαγγεία. Τα μεσοθηλιακά κύτταρα φέρουν στην επιφάνειά τους μικρολάχνες, μεταξύ των οποίων υπάρχει γλυκοπρωτεΐνη πλούσια σε υαλουρονικό οξύ. Κάτω από τα μεσοθηλιακά κύτταρα υπάρχουν εναλλασσόμενες στιβάδες κολλαγόνων και ελαστικών ινών (78). Ο τοιχωματικός υπεζωκότας βρίσκεται μεταξύ της υπεζωκοτικής κοιλότητας και της ενδοθωρακικής περιτονίας, ενώ τα όρια του πνευμονικού είναι η υπεζωκοτική κοιλότητα και οι πνευμονικές κυψελίδες (εικόνα 1).

Το σχήμα και το μέγεθος των μεσοθηλιακών κυττάρων διαφέρει από περιοχή σε περιοχή. Δύο είδη κυττάρων ξεχωρίζουν, τα επίπεδα ή αποπεπλατυσμένα και τα κυβοειδή ή κυλινδρικά. Τα επίπεδα είναι περισσότερα σε αριθμό και βρίσκονται κυρίως πάνω από σταθερές δομές, όπως οι πλευρές, ενώ τα κυβοειδή είναι λιγότερα και βρίσκονται πάνω από περιοχές πιο χαλαρά δομημένες, όπως οι πνεύμονες και το μεσοπνευμόνιο. Όλα τα μεσοθηλιακά κύτταρα καλύπτονται από μικρολάχνες. Ο αριθμός, η



Εικόνα 1. Τα δύο πέταλα του υπεζωκότα καλύπτονται από μία μονήρη στιβάδα μεσοθηλιακών κυττάρων (M). [A] Ο τοιχωματικός υπεζωκότας βρίσκεται μεταξύ της υπεζωκοτικής κοιλότητας (PS) και της ενδοθωρακικής περιτονίας (EF) Εντός του συνδετικού ιστού βρίσκονται αιμοφόρα αγγεία (B) και λεμφόκολλοι.[B] Ο πνευμονικός υπεζωκότας βρίσκεται μεταξύ της υπεζωκοτικής κοιλότητας (PS) και των κυψελίδων (Curtney BV et all, 32).

πυκνότητα και το μήκος των μικρολαχνών διαφέρουν μεταξύ των ίδιων αλλά και μεταξύ παρακείμενων κυττάρων. Γενικά είναι περισσότερες και

πιο πυκνές στον πνευμονικό από ότι στον τοιχωματικό υπεζωκότα και στην περιοχή των κάτω λοβών σε σχέση με τους άνω. Εξαιρετικά μακριές μικρολάχνες υπάρχουν στις διαφραγματικές και στις ραχιαίες επιφάνειες των κάτω λοβών του πνευμονικού υπεζωκότα και στην περιοχή του διαφράγματος, του μεσοπνευμόνιου και των πλευρών του τοιχωματικού υπεζωκότα. Οι μικρολάχνες αυξάνουν κατά πολύ την επιφάνεια του υπεζωκότα και συμβάλουν στην ελάττωση των τριβών μεταξύ των δύο πετάλων του υπεζωκότα με τον γλυκοκάλυκα που φέρουν στην επιφάνειά τους (110).

Τα μεσοθηλιακά κύτταρα συνδέονται μεταξύ τους με στενές συνδέσεις (tight junctions) και δεσμοσώματα (desmosomes). Έχουν μεταβολικές λειτουργίες και μπορούν να συνθέτουν ποικιλία πρωτεϊνών, όπως αυξητικούς παράγοντες και πρωτεΐνες της εξωκυττάριας ουσίας (32).

Στην περιοχή κυρίως του μεσοπνευμόνιου υπεζωκότα υπάρχουν εστίες από λεμφικά και μακροφάγα κύτταρα κατά σωρούς, (Kampfeier foci) που καλύπτονται από μεσοθηλιακά κύτταρα. Πιστεύεται ότι οι εστίες αυτές έχουν κάποια ανοσολογική λειτουργία (165).

Τα μεσοθηλιακά κύτταρα βρίσκονται πάνω στη βασική μεμβράνη, η οποία επικαλύπτει τη στιβάδα του συνδετικού ιστού. Το πάχος του συνδετικού ιστού του τοιχωματικού υπεζωκότα είναι μικρότερο και πιο ομοιογενές στις διάφορες περιοχές σε σχέση με αυτό του πνευμονικού (6).

Μόνο στους άνω και μέσους λοβούς το πάχος του πνευμονικού υπεζωκότα πλησιάζει αυτό του τοιχωματικού. (Πίνακας 1). Η απόσταση των αγγείων από την υπεζωκοτική κοιλότητα στον τοιχωματικό υπεζωκότα είναι 10-12  $\mu\text{m}$ , ενώ κυμαίνεται από 18 σε 56  $\mu\text{m}$  στον πνευμονικό. Η απόσταση αυτή αυξάνεται από τους άνω προς τους κάτω λοβούς, γιατί και το πάχος του υπεζωκότα στους κάτω λοβούς είναι μεγαλύτερο (5). Η αύξηση του πάχους οφείλεται σε μια στιβάδα κολλαγόνων και ελαστικών ινών μεταξύ της μικροκυκλοφορίας και του μεσοθηλίου (Πίνακας 2).

ΠΕΡΙΟΧΗ	ΠΑΧΟΣ ( $\mu\text{m}$ )
<b>Τοιχωματικός Υπεζωκότας</b>	
Μεσοπνευμόνιος	23
Πλευρικός	21
Διαφραγματικός	25
<b>Πνευμονικός Υπεζωκότας</b>	
<u>Άνω και μέσοι λοβοί</u>	
Μεσοπνευμόνιος	26
Πλευρικός	27
<u>Κάτω λοβοί</u>	
Μεσοπνευμόνιος	64
Πλευρικός	83
Διαφραγματικός	54

Πίνακας 1. Πάχος τοιχωματικού και πνευμονικού υπεζωκότα προβάτου (Albertine KH et al, 5,6).

ΠΕΡΙΟΧΗ	ΑΠΟΣΤΑΣΗ (μm)
<b>Τοιχωματικός Υπεζωκότας</b>	
Μεσοπνευμόνιος	12
Πλευρικός	10
Διαφραγματικός	12
<b>Πνευμονικός Υπεζωκότας</b>	
<u>Άνω και μέσοι λοβοί</u>	
Μεσοπνευμόνιος	18
Πλευρικός	19
<u>Κάτω λοβοί</u>	
Μεσοπνευμόνιος	42
Πλευρικός	56
Διαφραγματικός	38

Πίνακας 2. Απόσταση των υπεζωκοτικών αγγείων από την υπεζωκοτική κοιλότητα στο πρόβατο (Albertine KH et al, 5,6).

### **Α ι μ ά τ ω σ η**

Ο τοιχωματικός υπεζωκότας αιματώνεται από τις μεσοπλεύριες αρτηρίες (συστηματική κυκλοφορία), ενώ ο πνευμονικός αιματώνεται αποκλειστικά από τις βρογχικές αρτηρίες (συστηματική κυκλοφορία). Η απαγωγή του φλεβικού αίματος του πνευμονικού υπεζωκότα γίνεται από τις πνευμονικές φλέβες ενώ του τοιχωματικού από τις βρογχικές φλέβες. Οι ανατομικές αυτές διαφορές προκαλούν διαφορετική πίεση διήθησης στα δύο πέταλα. Έτσι η ενδοαγγειακή πίεση στον πνευμονικό είναι μικρότερη σε σχέση με του τοιχωματικού, γιατί οι βρογχικές αρτηρίες που τροφοδοτούν

τον πνευμονικό εκβάλουν σε πνευμονικά αγγεία χαμηλής πίεσης και όχι στις φλέβες της συστηματικής κυκλοφορίας (182).

### **Λ ε μ φ α γ γ ε ί α**

Η υπεζωκοτική κοιλότητα περιβάλλεται από δύο διαφορετικά συστήματα λεμφικής κυκλοφορίας. Τα λεμφαγγεία του τοιχωματικού υπεζωκότα είναι το αληθινό λεμφικό σύστημα του υπεζωκότα, και τα λεμφαγγεία του πνευμονικού υπεζωκότα που είναι το επιφανειακό τμήμα του λεμφικού συστήματος των πνευμόνων (100). Ο πνευμονικός υπεζωκότας έχει ένα πυκνό σύστημα λεμφαγγείων το οποίο δεν έχει άμεση επικοινωνία με την υπεζωκοτική κοιλότητα. Τα υπεζωκοτικά λεμφαγγεία συνεχονται με τα λεμφαγγεία του διάμεσου πνευμονικού ιστού και του τοιχώματος των βρόγχων και η λέμφος ρέει προς τους πυλαίους λεμφαδένες διαμέσου των εν τω βάθει και των επιφανειακών λεμφαγγειακών πλεγμάτων. Τα λεμφαγγεία του τοιχωματικού υπεζωκότα συνδέονται άμεσα με την υπεζωκοτική κοιλότητα διαμέσου ανοιγμάτων που καλούνται στόματα (80,166). Τα στόματα έχουν σχήμα κυκλικό ή ωοειδές, μέγεθος 2-6 μm και βρίσκονται κυρίως στη διαφραγματική και στη μεσοπνευμόνια περιοχή καθώς και κάτω από τις πλευρές. Μεγαλομοριακές ενώσεις και κύτταρα όπως ερυθροκύτταρα και μακροφάγα απομακρύνονται από την υπεζωκοτική κοιλότητα διαμέσου των στομάτων. Από τον τοιχωματικό υπεζωκότα η λέμφος ρέει προς τον δεξιό θωρακικό πόρο (125,150).



## ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ

Η μικρή ποσότητα υγρού που φυσιολογικά υπάρχει στην υπεζωκοτική κοιλότητα έχει γίνει το επίκεντρο εκτεταμένης έρευνας για περισσότερο από ένα αιώνα. Το μακροχρόνιο ενδιαφέρον των ερευνητών και κλινικών γιατρών πηγάζει από διάφορες αιτίες:

1. Η ποσότητα του υπεζωκοτικού υγρού αυξάνεται ως αποτέλεσμα πολλών πνευμονικών και εξωπνευμονικών νοσημάτων αλλά και φυσιολογικών καταστάσεων όπως η εγκυμοσύνη.
2. Η υπεζωκοτική συλλογή μπορεί να διαγνωσθεί με την φυσική εξέταση.
3. Το υπεζωκοτικό υγρό μπορεί εύκολα να εξετασθεί.
4. Η εξέταση του υπεζωκοτικού υγρού οδηγεί στην διάγνωση, στην πλειοψηφία των ασθενών.

Παρόλα αυτά, υπάρχουν πολλά αναπάντητα ερωτήματα και σημαντικές διαφωνίες αναφορικά με τη φυσιολογική σημασία του υπεζωκοτικού υγρού και των δυνάμεων που επιδρούν στην μετακίνηση του υγρού προς την υπεζωκοτική κοιλότητα και την απομάκρυνση του από αυτήν.

Η υπεζωκοτική κοιλότητα είναι ένας χώρος, το περιεχόμενο του οποίου εξαρτάται από την επίδραση δύο αντίθετων δυνάμεων, οι οποίες εξασκούνται στις επιφάνειες του. Η μια προέρχεται από το θωρακικό κλωβό και η άλλη από τους πνεύμονες. Κάθε δεδομένη στιγμή η ποσότητα του υγρού που περιέχεται στην υπεζωκοτική κοιλότητα είναι το αποτέλεσμα

συνεχών δυναμικών φαινομένων της πνευμονικής και συστηματικής κυκλοφορίας, της λεμφικής κάθαρσης, των μηχανικών ιδιοτήτων του θωρακικού κλωβού και της λειτουργίας της καρδιάς. Όλες αυτές οι δυνάμεις σε φυσιολογικές συνθήκες συνεργάζονται έτσι ώστε τα δύο πέταλα του υπεζωκότα να κινούνται το ένα απέναντι στο άλλο, με αποτέλεσμα τη μετακίνηση των πνευμόνων πάνω στο θωρακικό τοίχωμα με τη μικρότερη δυνατή ύπαρξη υγρού στην υπεζωκοτική κοιλότητα.

### **Ι σ τ ο ρ ι κ ή   Α ν α δ ρ ο μ ή**

Η απορροφητική ικανότητα των ορογόνων μεμβρανών έχει μελετηθεί εκτεταμένα, σε μια προσπάθεια κατανόησης της πρόκλησης και λύσης των συλλογών. Ο Von Recklinghausen, το 1863, ήταν ο πρώτος που ανέφερε την επαναρρόφηση συγκεκριμένων ουσιών από την περιτοναϊκή κοιλότητα του κουνελιού. Επισήμανε την ύπαρξη άμεσης επικοινωνίας μεταξύ της περιτοναϊκής κοιλότητας και των υποορογόνιων λεμφαγγείων, διαμέσου ανοιγμάτων που εδράζονται στη διαφραγματική περιοχή. Τα ανοίγματα αυτά τα ονόμασε στίγματα και στόματα και τα ανέφερε σαν την κύρια δίοδο από την οποία ουσίες μπορούν να ρέουν από την ορογόνο κοιλότητα προς τα λεμφαγγεία. Το 1866 ο Dybkowsky επέκτεινε τις παρατηρήσεις του Von Recklinghausen και περιέγραψε την απορρόφηση ουσιών από την υπεζωκοτική κοιλότητα σε κουνέλια και σκύλους. Ισχυρίστηκε την ύπαρξη στομάτων στις πλευρικές περιοχές του τοιχωματικού υπεζωκότα και

υποστήριξε την μετακίνηση υγρών και ουσιών διαμέσου των στομάτων προς στα υποκείμενα λεμφαγγεία με τη βοήθεια των αναπνευστικών κινήσεων. Αρκετά χρόνια μετά από τα αρχικά αυτά πειράματα, η πιο αποδεκτή άποψη μεταξύ των φυσιολόγων ήταν, ότι οι ορογόνες κοιλότητες του σώματος ήταν προέκταση του λεμφικού συστήματος και ότι η απορρόφηση υγρών και ουσιών γινόταν απαραίτητα από τα λεμφαγγεία (134).

Πρώτοι οι Starling και Tubby το 1894 αμφισβήτησαν αυτή τη θεωρία εξετάζοντας το ρυθμό απορρόφησης χρωστικών ουσιών από την υπεζωκοτική και την περιτοναϊκή κοιλότητα σε αναισθητοποιημένα σκυλιά. Παρατήρησαν ότι οι χρωστικές ουσίες εμφανίζονταν πιο γρήγορα στα ούρα από ότι στη λέμφο του θωρακικού πόρου και το θεώρησαν αυτό σαν απόδειξη της άμεσης απορρόφησης των χρωστικών από τα αιμοφόρα αγγεία. Το 1895 οι Leathes και Starling προσπαθώντας να αναλύσουν τους μηχανισμούς της απορρόφησης ισοτονικών διαλυμάτων, που ενιόνταν στην υπεζωκοτική κοιλότητα σκυλιών, βρήκαν πως ο ρυθμός απορρόφησης ήταν αργός, ομοιόμορφος και περίπου 5 ml ανά ώρα. Για να εξακριβώσουν αν αυτή η αργή απορρόφηση είχε σχέση με κάποια άγνωστη μέχρι τότε ενεργό μεταφορά από τα μεσοθηλιακά κύτταρα, πρόσθεσαν φθοριούχο νάτριο στα χορηγούμενα υγρά. Η προσθήκη του φθοριούχου νατρίου δεν επηρέασε το ρυθμό απορρόφησης, δεν μπορούσε όμως να αποκλειστεί πιθανή βλαπτική επίδραση στη ακεραιότητα των μεσοθηλιακών κυττάρων, αφού το

φθοριούχο νάτριο είχε βρεθεί να προκαλεί βλάβη σε εντερικά κύτταρα (134).

Παρόλο που δεν υπήρξε οριστική πειραματική απόδειξη που να ανακατασκευάζει τις παρατηρήσεις των Von Recklinghausen και Dybkowsky, στην πορεία του χρόνου η άποψη που επικράτησε ήταν, ότι η απορρόφηση υγρών και ουσιών πραγματοποιείται πρωταρχικά από τα αιμοφόρα αγγεία ενώ τα λεμφαγγεία έχουν ένα μικρό ρόλο σε αυτή.

Η μετακίνηση των υγρών επανεξετάστηκε ολοκληρωτικά από τους Courtice και Simmonds το 1949. Οι ερευνητές μελέτησαν το ρυθμό απορρόφησης χλωριούχου νατρίου 0,9% και ομόλογου πλάσματος ραδιοσημασμένου με την κυανή χρωστική T-1824, από την υπεζωκοτική κοιλότητα αναισθητοποιημένων και μη κουνελιών. Όταν ενίονταν 6ml/kg βάρους σώματος ορού ή πλάσματος απορροφούνταν πλήρως σε 24 ώρες. Η αναισθησία προκαλούσε μείωση του ρυθμού απορρόφησης και η ραδιοσημασμένη πρωτεΐνη απορροφούνταν σχεδόν πλήρως από την λεμφική οδό, διαμέσου κυρίως του αριστερού λεμφικού πόρου σε σχέση με τον θωρακικό πόρο. Παρατήρησαν επίσης ότι η αύξηση του αερισμού στα αναισθητοποιημένα πειραματόζωα προκαλούσε και αύξηση του ρυθμού απορρόφησης των πρωτεϊνών (134).

Από το 1927 και μετά η έρευνα αφορά και τη σημασία των μηχανικών ιδιοτήτων πνευμόνων και του θωρακικού τοιχώματος, όπως

επίσης και των δυναμικών φαινομένων της πνευμονικής και της συστηματικής κυκλοφορίας. Ο Von Neergaard είναι ο πρώτος που προτείνει, το 1927, τη θεωρία της μετακίνησης του υπεζωκοτικού υγρού βάσει των διαφορών της κολλοειδωσμοτικής και της υδροστατικής πίεσης των αγγείων που τροφοδοτούν τον πνευμονικό υπεζωκότα. Στήριξε την υπόθεσή του στις παρατηρήσεις του Krogh το 1924, ότι στα τριχοειδή η κολλοειδωσμοτική πίεση του πλάσματος είναι λίγο πιο υψηλή από την υδροστατική πίεση (134).

Άμεση μέτρηση των πιέσεων στα τριχοειδή του πνευμονικού υπεζωκότα σε σκυλιά αναφέρεται από τον Agostoni και τους συνεργάτες του το 1957. Οι ερευνητές βρήκαν απορρόφηση υγρού από τις υπεζωκοτικές επιφάνειες των πνευμόνων με μία πίεση περίπου 13 mm Hg, η οποία αντιστοιχούσε στη διαφορά μεταξύ της κολλοειδωσμοτικής και της υδροστατικής πίεσης των τριχοειδών της πνευμονικής κυκλοφορίας, που τροφοδοτεί τον πνευμονικό υπεζωκότα. Ανάλογη πίεση απορρόφησης δεν βρέθηκε στο επίπεδο του τοιχωματικού υπεζωκότα, όπου κολλοειδωσμοτική πίεση εξισορροπούνταν με την υδροστατική λόγω της αιμάτωσης του τοιχωματικού υπεζωκότα από τη συστηματική κυκλοφορία. Μετά τα παραπάνω ευρήματα ο Agostoni υποθέτει, ότι κάτω από φυσιολογικές συνθήκες το υπεζωκοτικό υγρό προέρχεται από τα τριχοειδή του τοιχωματικού υπεζωκότα και απάγεται από τα τριχοειδή του

πνευμονικού υπεζωκότα και ότι η πίεση του υπεζωκοτικού υγρού είναι αποτέλεσμα αυτών των συνεχών δυναμικών φαινομένων (134).

Σύμφωνα με τον Agostoni και τους συνεργάτες του, ο βασικός μηχανισμός που κρατάει τους πνεύμονες κοντά στο θωρακικό τοίχωμα, συντηρείται από την πίεση απορρόφησης η οποία προέρχεται από τα τριχοειδή του πνευμονικού υπεζωκότα. Ο μηχανισμός αυτός είναι αυτορυθμιζόμενος, υπό την έννοια ότι όσο απορροφάται υγρό τα πέταλα του υπεζωκότα έρχονται σε επαφή σε πολλά σημεία. Σε αυτό το στάδιο οποιαδήποτε επαναρρόφηση υγρού είναι αντίθετη στις τοπικές δυνάμεις που παραμορφώνουν τα πέταλα του υπεζωκότα όταν έρχονται σε επαφή. Με αυτό τον τρόπο εξασφαλίζεται η κίνηση των δύο πετάλων του υπεζωκότα με το μικρότερο δυνατό όγκο υπεζωκοτικού υγρού. Στη θεωρία που προτάθηκε από τον Agostoni, τα λεμφαγγεία φαίνεται να έχουν ένα μικρό ρόλο, απομακρύνοντας ενδεχομένως την περίσσεια των πρωτεϊνών από την υπεζωκοτική κοιλότητα. Στη πορεία των χρόνων ο μηχανισμός του Agostoni (134) έγινε η πιο αποδεκτή θεωρία για τη διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού και ως τέτοια αναφέρεται σε πολλά κλασικά βιβλία. Οι ερευνητές δεν έλαβαν υπόψη τις περιπτώσεις στις οποίες ο πνευμονικός υπεζωκότας αιματώνεται πλήρως ή μερικώς από τη συστηματική κυκλοφορία, όπως επίσης και την πιθανή απορροφητική λειτουργία του μεσοπνευμόνιου

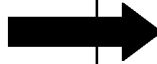





τοιχωματικού υπεζωκότα. Επομένως υπήρχαν ερωτήματα που δεν είχαν απαντηθεί ακόμη (134).

Συνοψίζοντας, φαίνεται πως υπήρχαν δύο διαφορετικές τάσεις που προσπαθούσαν να διασαφηνίσουν τους μηχανισμούς της διακίνησης του υπεζωκοτικού υγρού. Από τη μια οι Courtice και Simmonds έδωσαν έμφαση στη σημασία των λεμφαγγείων στην απορρόφηση του υπεζωκοτικού υγρού, και από την άλλη ο Agostoni και συνεργάτες υποστήριζαν πως η ανταλλαγή του υγρού στην υπεζωκοτική κοιλότητα βασίζεται σχεδόν πλήρως στη ισορροπία μεταξύ των υδροστατικών και κολλοειδωσμοτικών δυνάμεων που δρουν στα μεσοθήλια (134).

## **Ο Ρόλος Των Πιέσεων Στη Φυσιολογία Της Υπεζωκοτικής Κοιλότητας**

Για περισσότερο από εβδομήντα χρόνια η θεωρία που επικρατούσε στηρίζονταν απλά στην ισορροπία μεταξύ της υδροστατικής και της κολλοειδωσμοτικής πίεσης που υπάρχει στα πέταλα του υπεζωκότα. Τα τριχοειδή του τοιχωματικού υπεζωκότα προέρχονται από τη συστηματική κυκλοφορία και έχουν, όπως όλα τα τριχοειδή, υδροστατική πίεση 30 cm H<sub>2</sub>O. Οι δυνάμεις ελαστικής επαναφοράς των πνευμόνων καθιστούν την ενδοθωρακική πίεση μικρότερη της ατμοσφαιρικής κατά το μεγαλύτερο χρονικό διάστημα της αναπνοής. Η ενδοθωρακική πίεση επηρεάζεται από

διαφόρους παράγοντες όπως η βαρύτητα και ο τύπος της αναπνοής. Η μέση τιμή είναι  $-5 \text{ cm H}_2\text{O}$ . Άρα υπάρχει μία διαφορά πίεσης  $35 \text{ cm H}_2\text{O}$  που οδηγεί υγρό από τον τοιχωματικό υπεζωκότα στην υπεζωκοτική κοιλότητα.

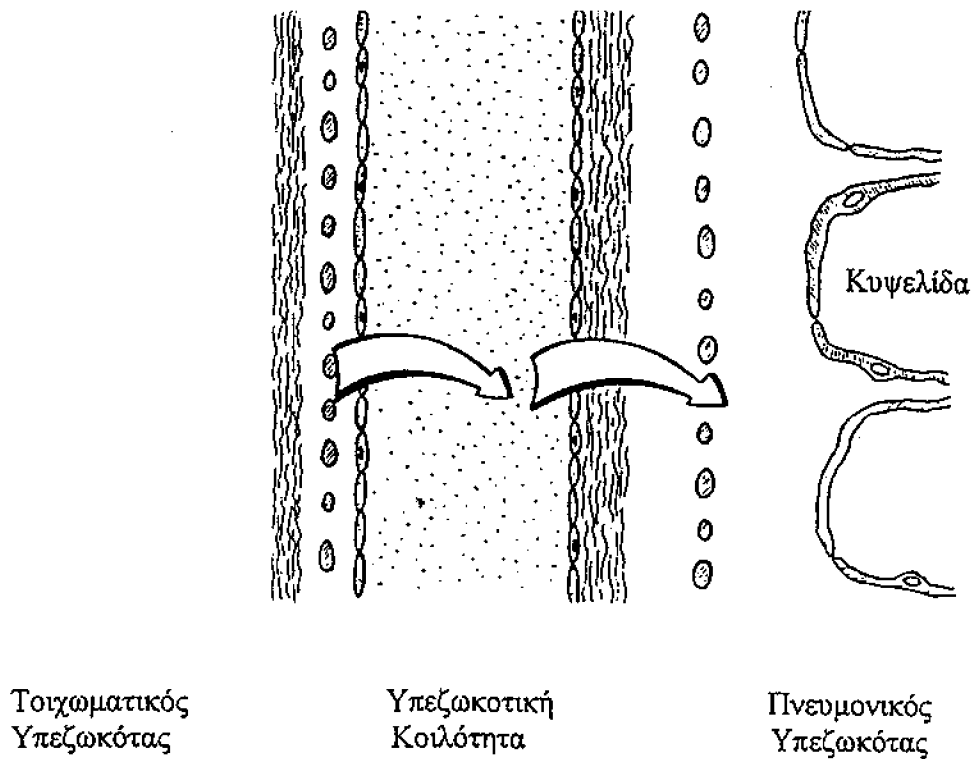
	ΤΟΙΧΩΜΑΤΙΚΟΣ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑΣ	ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΗ ΚΟΙΛΟΤΗΤΑ	ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΟΣ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑΣ
ΥΔΡΟΣΤΑΤΙΚΗ ΠΙΕΣΗ	30	-5	11
		35	16
			
ΩΣΜΩΤΙΚΗ ΠΙΕΣΗ	34	8	34
		26	26
			
ΤΕΛΙΚΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ ( $\text{cm H}_2\text{O}$ )		9	10
			

Σχήμα 1. Υδροστατικές και ωσμωτικές πιέσεις στον τοιχωματικό, τον πνευμονικό υπεζωκότα και την υπεζωκοτική κοιλότητα. Τελικά υπάρχει μια διαφορά πίεσης  $9 \text{ cm H}_2\text{O}$  που οδηγεί υγρό από τον τοιχωματικό υπεζωκότα στην υπεζωκοτική κοιλότητα και μια διαφορά  $10 \text{ cm H}_2\text{O}$  που το οδηγεί από την υπεζωκοτική κοιλότητα στο πνευμονικό υπεζωκότα (Προσαρμογή από Weinaker A, 169 και Πατάκα ΔΕ, 182).

Τα τριχοειδή του πνευμονικού υπεζωκότα προέρχονται κυρίως από την πνευμονική κυκλοφορία, με υδροστατική πίεση  $11 \text{ cm H}_2\text{O}$ . Η διαφορά






μεταξύ της υδροστατικής πίεσης του πνευμονικού υπεζωκότα και της πίεσης της υπεζωκοτικής κοιλότητας, 16 cm H<sub>2</sub>O, συντελεί στη ροή υγρού από τον πνευμονικό υπεζωκότα στην υπεζωκοτική κοιλότητα (σχήμα 1). Η κολλοειδωσμοτική πίεση και στα δύο πέταλα του υπεζωκότα είναι 34 cm H<sub>2</sub>O, ενώ μέσα στην υπεζωκοτική κοιλότητα είναι μικρότερη (8 cm H<sub>2</sub>O), αφού μόνο μικρό ποσοστό μεγάλων μορίων μπορεί να περάσει το ενδοθήλιο των τριχοειδών και να μπει στην υπεζωκοτική κοιλότητα. Η οσμωτική πίεση τείνει να συγκρατήσει υγρό. Έτσι η διαφορά πίεσης μεταξύ τοιχωματικού υπεζωκότα και υπεζωκοτικής κοιλότητας (26 cm H<sub>2</sub>O), έλκει υγρό από την υπεζωκοτική κοιλότητα στον τοιχωματικό υπεζωκότα. Η ίδια διαφορά υπάρχει μεταξύ πνευμονικού υπεζωκότα και υπεζωκοτικής κοιλότητας (26 cm H<sub>2</sub>O), που έλκει υγρό από την κοιλότητα στον πνευμονικό υπεζωκότα. Τελικά υπάρχει μια διαφορά πιέσεων 9 cm H<sub>2</sub>O που οδηγεί υγρό από τον τοιχωματικό υπεζωκότα προς την υπεζωκοτική κοιλότητα και μια διαφορά 10 cm H<sub>2</sub>O που ωθεί υγρό έξω από την κοιλότητα προς τον πνευμονικό υπεζωκότα (σχήμα 1). Η ανατομική διαφορά ανάμεσα στα τριχοειδή του περισπλάχνιου και του τοιχωματικού πετάλου του υπεζωκότα είναι ο βασικός παράγοντας που δημιουργεί τη φυσική ροή του υγρού από τον τοιχωματικό στον πνευμονικό υπεζωκότα μέσω της υπεζωκοτικής κοιλότητας (Εικόνα 2).



Εικόνα 2. Το υπεζωκοτικό υγρό προέρχεται από τον τοιχωματικό υπεζωκότα (υψηλή πίεση) και απάγεται από τον πνευμονικό (χαμηλή πίεση). [Ευχαριστώ την ιατρό Ευγενία Μαρκοπούλου για το σχήμα]

Οι απόψεις αυτές για τη φυσιολογία της υπεζωκοτικής στηρίζονται σχεδόν αποκλειστικά στις διαφορές των οσμωτικών και υδροστατικών πιέσεων στα δύο πέταλα του υπεζωκότα. Αυτή η απλουστευμένη μελέτη της διακίνησης του υγρού από την υπεζωκοτική κοιλότητα μπορεί να βοηθήσει στην κατανόηση του μηχανισμού δημιουργίας υπεζωκοτικής συλλογής σε αρκετά νοσήματα (115,116).

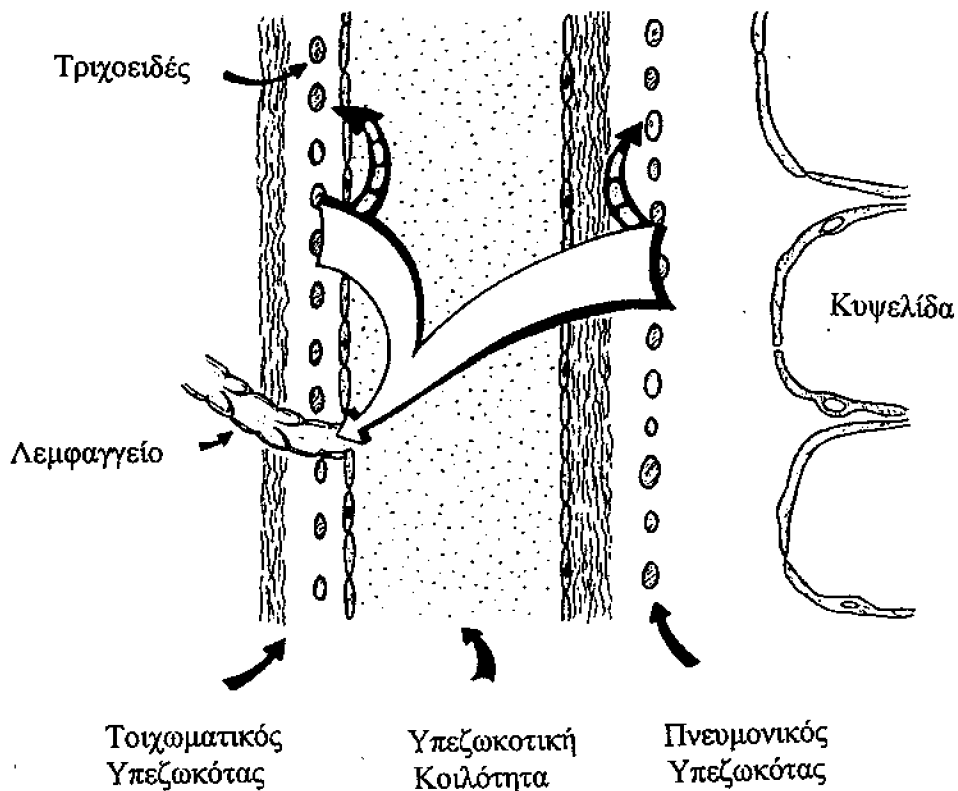
Σήμερα είναι γνωστό ότι ο πνευμονικός υπεζωκότας αιματώνεται κυρίως ή πλήρως από τις βρογχικές αρτηρίες που προέρχονται από τη συστηματική κυκλοφορία. Επομένως, οι πιέσεις που διέπουν τη μετακίνηση υγρού στην υπεζωκοτική κοιλότητα είναι διαφορετικές (1,98,124). Η υδροστατική πίεση στα τριχοειδή του τοιχωματικού υπεζωκότα είναι 30 cm

	ΤΟΙΧΩΜΑΤΙΚΟΣ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑΣ	ΥΠΕΖΩΚΟΤΙΚΗ ΚΟΙΛΟΤΗΤΑ	ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΟΣ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑΣ
ΥΔΡΟΣΤΑΤΙΚΗ ΠΙΕΣΗ	30	-5	24
	35		29
			
ΩΣΜΩΤΙΚΗ ΠΙΕΣΗ	34	8	34
	26		26
			
ΤΕΛΙΚΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ (cm H <sub>2</sub> O)	9		3
			

Σχήμα 2. Υδροστατικές και ωσμωτικές πιέσεις στον τοιχωματικό, τον πνευμονικό υπεζωκότα και την υπεζωκοτική κοιλότητα. Η τελική διαφορά πίεσης στον τοιχωματικό υπεζωκότα είναι 9 cm H<sub>2</sub>O, ενώ στον πνευμονικό 3 cm H<sub>2</sub>O. Έτσι, τα τριχοειδή του τοιχωματικού υπεζωκότα παραμένουν η κύρια πηγή παραγωγής υπεζωκοτικού υγρού (Προσαρμογή από Weinaker A, 169 και Πατάκα ΔΕ, 182).

H<sub>2</sub>O και στην υπεζωκοτική κοιλότητα –5. Αυτή η διαφορά προκαλεί πίεση 35 cm H<sub>2</sub>O, που τείνει να μεταφέρει υγρό από τα τριχοειδή προς την υπεζωκοτική κοιλότητα. Η διαφορά όμως των κολλοειδωσμοτικών πιέσεων είναι 26 cm H<sub>2</sub>O και τείνει να μετακινήσει υγρό αντίθετα, από τον υπεζωκότα, προς τα τριχοειδή. Έτσι, η απόλυτη διαφορά υδροστατικής (35 cm H<sub>2</sub>O) και κολλοειδωσμοτικής (26 cm H<sub>2</sub>O) πίεσης είναι 9 cm H<sub>2</sub>O και επιβάλλει την κίνηση του υγρού προς την υπεζωκοτική κοιλότητα. Στον πνευμονικό υπεζωκότα η υδροστατική πίεση στα τριχοειδή είναι μικρότερη (24 cm H<sub>2</sub>O), έτσι και η διαφορά υδροστατικών και κολλοειδωσμοτικών πιέσεων είναι μικρότερη, 3 cm H<sub>2</sub>O (σχήμα 2).

Η καθιερωμένη αντίληψη που θεωρούσε ότι το υγρό φυσιολογικά μετακινείται δια της υπεζωκοτικής κοιλότητας από τον τοιχωματικό υπεζωκότα λόγω των υψηλών πιέσεων, στον πνευμονικό υπεζωκότα που χαρακτηρίζεται από χαμηλές πιέσεις έχει αλλάξει. Η νέα θεωρία που επικρατεί και ήδη έχει αρχίσει να αναγράφεται σε κλασικά βιβλία, θεωρεί ότι το υγρό φυσιολογικά έρχεται στην υπεζωκοτική κοιλότητα κυρίως από τα αγγεία της συστηματικής κυκλοφορίας του τοιχωματικού υπεζωκότα αλλά και από τα αγγεία του πνευμονικού υπεζωκότα (113). Η απομάκρυνση του υγρού υπό φυσιολογικές συνθήκες γίνεται από τα λεμφαγγεία του τοιχωματικού υπεζωκότα (Εικόνα 3).



Εικόνα 3. Το υπεζωκοτικό υγρό προέρχεται από τον τοιχωματικό και τον πνευμονικό υπεζωκότα και απάγεται από τα λεμφαγγεία του τοιχωματικού υπεζωκότα. [Ευχαριστώ την ιατρό Ευγενία Μαρκοπούλου για το σχήμα]

Σύμφωνα με τη νέα θεωρία, η υπεζωκοτική κοιλότητα είναι ανάλογη με οποιαδήποτε διάμεσο χώρο του σώματος. Υπάρχουν αρκετές αποδείξεις για αυτή τη νέα ερμηνεία.

1. Η πίεση της υπεζωκοτικής κοιλότητας είναι χαμηλότερη από την πίεση του διάμεσου ιστού και των δύο πετάλων του υπεζωκότα (14). Αυτό δημιουργεί μια κλίση πιέσεων, που οδηγεί υγρό μέσα αλλά όχι έξω από την υπεζωκοτική κοιλότητα.
2. Τα πέταλα του υπεζωκότα είναι εξαιρετικά διαπερατά στα υγρά και στις πρωτεΐνες. Ο υπεζωκότας είτε εξετάζεται *in vitro* (88) είτε *in situ* (126), προβάλλει μικρή αντίσταση στην κίνηση των πρωτεϊνών.
3. Τα μεσοθηλιακά κύτταρα δεν αναπτύσσουν διαφορά δυναμικού, όπως θα αναμένονταν αν υπήρχε ενεργητική μεταφορά από αυτά (131). Το υπεζωκοτικό υγρό όμως είναι περισσότερο αλκαλικό από το πλάσμα (141), και μια τέτοια διαφορά είναι δύσκολο να διατηρηθεί, αν δεχθούμε ότι το μεσοθήλιο είναι εξαιρετικά διαπερατό.
4. Η ροή του υπεζωκοτικού υγρού είναι αργή και παρόμοια με τις ροές που ισχύουν για τους διάμεσους ιστούς. Στα πρόβατα η είσοδος του υπεζωκοτικού υγρού βρέθηκε περίπου 0,01 mL/ kg ανά ώρα (18,93).
5. Η συγκέντρωση πρωτεϊνών κατά την απορρόφηση του υπεζωκοτικού υγρού δεν αλλάζει (19). Επιπλέον η απομάκρυνση των ερυθροκυττάρων από την υπεζωκοτική κοιλότητα γίνεται από τα λεμφαγγεία του τοιχωματικού υπεζωκότα (20). Αυτά υποδηλώνουν πως η κύρια έξοδος μεγάλων μορίων είναι τα στόματα των λεμφαγγείων του τοιχωματικού υπεζωκότα.

## Αντιφατικά Πειραματικά Δεδομένα Για Τη Φυσιολογία Της Υπεζωκοτικής Κοιλότητας

Η παλιά θεωρία ήταν αναμφισβήτητη για περισσότερο από μισό αιώνα ενώ σήμερα φαίνεται απλή και αστήριχτη αφού αγνοεί τον διάμεσο ιστό, τη διαφορετική διαπερατότητα υγρού και ουσιών και τα λεμφαγγεία. Το μοντέλο των πιέσεων που εξηγεί τη φυσιολογία της υπεζωκοτικής κοιλότητας δεν έλαβε υπόψη του τους βασικούς μηχανισμούς με τους οποίους γίνεται η μεταφορά ιόντων και μορίων μέσα από κάποια ημιδιαπερατή μεμβράνη. Οι βασικοί μηχανισμοί με τους οποίους γίνεται η μεταφορά είναι η παθητική διάχυση και η ενεργητική μεταφορά (13). Η διάχυση επιτελείται με τη συνήθη κινητική ενέργεια της ύλης. Αντίθετα η ενεργητική μεταφορά συνιστάται σε μετακίνηση ιόντων ή άλλων μορίων διαμέσου των μεμβρανών με τη συμμετοχή πρωτεϊνών που λειτουργούν ως φορείς και επιπρόσθετα αντίθετα προς το ενεργειακό πρανάς, δηλαδή μεταφορά από χαμηλή συγκέντρωση σε υψηλή συγκέντρωση. Η διεργασία αυτή απαιτεί επιπρόσθετη πηγή ενέργειας εκτός από την κινητική ενέργεια των μορίων.

Πρόσφατες μελέτες παρουσιάζουν έμμεσες αποδείξεις για την ενεργητική μεταφορά ηλεκτρολυτών από τον υπεζωκότα (2,177,178). Οι ερευνητές βρήκαν μια σημαντική μείωση του ρυθμού απορρόφησης προκλητού υδροθώρακα σε κουνέλια, όταν στο υγρό υπήρχαν ουσίες που

εμπόδιζαν τη μεταφορά ηλεκτρολυτών. Έτσι υποστηρίζουν την ύπαρξη συμμεταφοράς ιόντων  $\text{Na}^+\text{-Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+\text{-H}^+$ ,  $\text{Cl}^-\text{-HCO}_3^-$ , όπως και την ύπαρξη αντλίας  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  στα μεσοθηλιακά κύτταρα του υπεζωκότα. Οι Engelberg and Radin βρήκαν την ύπαρξη διαφοράς δυναμικού (-5mV) μεταξύ πνευμονικού αγγείου και υπεζωκότα. Αυτή η διαφορά δυναμικού εξαφανίζονταν όταν κυανιούχο άλας ή ουαμπαίνη προστίθονταν από την πλευρά του πνευμονικού παρεγχύματος υποδηλώνοντας ότι η γένεση του δυναμικού οφείλονταν στην ενεργητική μεταφορά ιόντων (44). Μικρή ενεργητική μεταφορά ιόντων  $\text{Na}^+$  σε τοιχωματικό υπεζωκότα σκύλου *in vitro* βρέθηκε επίσης από την ομάδα του D'Angelo (33). Επιπλέον, ανταλλαγή ιόντων  $\text{Na}^+\text{-H}^+$  παρατηρήθηκε σε μεσοθηλιακά κύτταρα ανθρώπινου υπεζωκότα (104).

Ηλεκτροφυσιολογικές μελέτες των μεμβρανών του υπεζωκότα μέσα από τις οποίες γίνεται η μεταφορά του νερού, των ιόντων αλλά και άλλων ουσιών της υπεζωκοτικής κοιλότητας έδειξαν ότι δεν δημιουργείται διαφορά δυναμικού όπως θα αναμενόταν εάν η μεταφορά ήταν ενεργητική, αλλά ότι συμπεριφέρονται ως εξαιρετικά διαπερατές μεμβράνες (88,131). Μεγάλη αύξηση διαπερατότητας του πνευμονικού υπεζωκότα βρέθηκε σε συνθήκες υποξίας (90). Αυτή η υψηλή διαπερατότητα τόσο του πνευμονικού όσο και του τοιχωματικού υπεζωκότα θα μπορούσε να εξηγήσει την απουσία



ενεργητικής μεταφοράς παρόλο που το μεσοθήλιο του υπεζωκότα έχει όλα τα χαρακτηριστικά που απαιτεί η ενεργητική μεταφορά.

Μετά τις ισχυρές αμφιβολίες για το αν ισχύει η ενεργητική μεταφορά από τα πέταλα του υπεζωκότα αρκετές μελέτες απέδειξαν, ότι η μεταφορά των ουσιών με διάχυση είναι επίσης σχεδόν αδύνατη από τα δύο πέταλα του υπεζωκότα. Η παρατήρηση ότι η σύνθεση του υπεζωκοτικού υγρού δεν αλλάζει κατά την απορρόφηση του, ενισχύει αυτή την άποψη (21). Άλλοι ερευνητές τοποθέτησαν ερυθρά αιμοσφαίρια μαζί με μεγάλες ποσότητες λευκωμάτων στην υπεζωκοτική κοιλότητα και παρατήρησαν ότι απομακρύνθηκαν από την υπεζωκοτική κοιλότητα (3,31). Ένας πιθανός μηχανισμός που προτάθηκε σε αντίθεση με τη διάχυση που φαίνεται ότι ισχύει είναι η μεταφορά του υγρού και των συστατικών του δια των λεμφαγγείων.

## **Ο Ρόλος Των Λεμφαγγείων Στη Φυσιολογία Της Υπεζωκοτικής Κοιλότητας**

Φαίνεται ότι το υγρό στην υπεζωκοτική κοιλότητα προέρχεται από τα αγγεία της συστηματικής κυκλοφορίας κυρίως του τοιχωματικού υπεζωκότα. Η διάχυση και η ενεργητική μεταφορά που είχαν προταθεί σαν μέθοδοι απομάκρυνσης του υγρού από τον πνευμονικό υπεζωκότα άρχισαν να αμφισβητούνται. Η θεωρία των πιέσεων δεν εξηγεί επαρκώς τη φυσιολογία της υπεζωκοτικής κοιλότητας. Αρκετοί ερευνητές τοποθέτησαν

μερικά κυβικά εκατοστά υγρού με λευκώματα που ήταν ραδιοσημασμένα στην υπεζωκοτική κοιλότητα ζώων ή και ανθρώπων και μελέτησαν την απομάκρυνση του από τα λεμφαγγεία. Ο πνευμονικός υπεζωκότας έχει αρκετά λεμφαγγεία αλλά αυτά δεν επικοινωνούν με την υπεζωκοτική κοιλότητα. Τα λεμφαγγεία του τοιχωματικού υπεζωκότα επικοινωνούν με την υπεζωκοτική κοιλότητα με στόματα τα οποία είναι υπεύθυνα για την απομάκρυνση ύδατος, λευκωμάτων, σωματιδίων ακόμα και ερυθροκυττάρων (4,65,180). Σε φυσιολογικές καταστάσεις το υγρό που απάγεται από τα λεμφαγγεία είναι από 60 μέχρι 100% της συνολικής ποσότητας. Σε παθολογικές καταστάσεις η ροή του υγρού από τα λεμφαγγεία μπορεί να αυξηθεί ακόμη περισσότερο. Άλλη εναλλακτική οδός απομάκρυνσης του υγρού είναι διαμέσου των τριχοειδών της πνευμονικής κυκλοφορίας και των πνευμονικών λεμφαγγείων (39,40). Η απόσταση των πνευμονικών τριχοειδών από την επιφάνεια του πνευμονικού υπεζωκότα είναι ένα σημαντικό εμπόδιο για την απομάκρυνση του υγρού με αυτή την οδό. Το εμπόδιο αυτό υπερνικάται από τις αυξημένες πιέσεις που αναπτύσσονται στην υπεζωκοτική κοιλότητα όταν αθροίζεται υπεζωκοτικό υγρό.

## ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΥΠΕΖΩΚΟΤΑ

Ο υπεζωκοτικός χώρος συμπεριφέρεται ως διάμεσος χώρος, εντός του οποίου ενδέχεται να συγκεντρωθούν μεγάλες ποσότητες υγρού. Φυσιολογικά εντός της υπεζωκοτικής κοιλότητας υπάρχει μικρή ποσότητα υγρού. Το υγρό αυτό παράγεται κατά κύριο λόγο από τα τριχοειδή του τοιχωματικού υπεζωκότα και παροχετεύεται κυρίως, από τον τοιχωματικό υπεζωκότα μέσω στομάτων που συνεχονται με λεμφόκολπους. Βάση αυτού του γεγονότος, προτάθηκε μια θεωρία, που προσπαθεί να εξηγήσει την παθοφυσιολογία του υπεζωκότα (116). Σύμφωνα με αυτή η διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού λαμβάνει χώρα μεταξύ τριών διαμερισμάτων στη σειρά (τριχοειδή συστηματικής κυκλοφορίας, διάμεσος ιστός τοιχωματικού υπεζωκότα και υπεζωκοτική κοιλότητα), που χωρίζονται από δύο αντιστάσεις στη σειρά (ενδοθηλίο τριχοειδών και μεσοθηλίο υπεζωκότα) και δύο οδούς παροχέτευσης (υπεζωκοτικά και μη υπεζωκοτικά λεμφαγγεία). Ο πνευμονικός υπεζωκότας, κάτω από φυσιολογικές συνθήκες δεν έχει αξιόλογη συμμετοχή στην έξοδο του υπεζωκοτικού υγρού. Η θεωρία είναι χρήσιμη για την ερμηνεία μερικών σημαντικών αιτιών υπεζωκοτικής συλλογής. Μια αύξηση της διαπερατότητας για νερό του ενδοθηλίου και του μεσοθηλίου, που υπερβαίνει τη μέγιστη λεμφική ροή, οδηγεί σε συλλογή υπότονου υπεζωκοτικού υγρού (δίιδρωμα). Όταν αυξηθεί η διαπερατότητα των τριχοειδών της συστηματικής κυκλοφορίας για πρωτείνες, θα προκληθεί

συγκέντρωση υπεζωκοτικού υγρού με μεγαλύτερη αναλογία πρωτεϊνών (εξίδρωμα). Εξιδρωματική συλλογή θα συμβεί επίσης όταν ο ρυθμός παραγωγής ξεπεράσει τη μέγιστη λεμφική ροή.

### **Υπεζωκοτικό Υγρό**

Το υπεζωκοτικό υγρό αποτελεί στην ουσία ένα « υπερδιήθημα » του αίματος, είναι διαυγές, άχρωμο, με λίγα κύτταρα και μικρή ποσότητα πρωτεΐνης (40). Ο όγκος του υπεζωκοτικού υγρού ποικίλει μεταξύ των θηλαστικών και μειώνεται από 2,5 κυβικά εκατοστά ανά κιλό βάρους σώματος στα ποντίκια μέχρι 0,4 κυβικά εκατοστά ανά κιλό στα πρόβατα (144). Περιέχει ιόντα σε συγκεντρώσεις παρόμοιες με αυτές του πλάσματος (177). Η συγκέντρωση πρωτεϊνών μειώνεται από 2,5 g/kg στα ποντίκια σε 1g / kg με την αύξηση του μεγέθους του ζώου, προκαλώντας μείωση της αναλογίας πρωτεΐνης υπεζωκοτικού υγρού προς πρωτεΐνη πλάσματος από 0,6 σε 0,1 (114). Στα πρόβατα, ο υπεζωκότας των οποίων έχει παρόμοια ανατομία με των ανθρώπων, η φυσιολογική συγκέντρωση πρωτεΐνης υπεζωκοτικού υγρού είναι 1-1,5 g/dl, ενώ το διάμεσο υγρό των πνευμόνων περιέχει 4,5 g/dl (94). Κατεστραμμένα μεσοθηλιακά κύτταρα, μονοκύτταρα και λεμφοκύτταρα επίσης βρίσκονται στο υπεζωκοτικό υγρό κάτω από φυσιολογικές συνθήκες (142).

## **Υπεζωκοτικές Συλλογές**

Ως υπεζωκοτική συλλογή χαρακτηρίζεται η αύξηση του υπεζωκοτικού υγρού εντός της υπεζωκοτικής κοιλότητας. Για να συσσωρευτεί υπεζωκοτικό υγρό, θα πρέπει η είσοδος του υγρού να αυξηθεί σε ένα σταθερό ρυθμό μεγαλύτερο κατά 30 φορές από το φυσιολογικό (ώστε να υπερβεί την εφεδρεία των λεμφαγγείων για απαγωγή υγρού), ο ρυθμός εξόδου να μειωθεί ή να αλλάξουν και οι δύο. Συνήθως οφείλεται σε διαταραχή τόσο στην παραγωγή όσο και στην παροχέτευση του υπεζωκοτικού υγρού. Η πρωτοπαθής νόσος αφορά συχνότερα τον υπεζωκότα και τον πνεύμονα (109) και σπανιότερα άλλα παρακείμενα όργανα (181). Επίσης, υπεζωκοτικές συλλογές παρατηρούνται σε συστηματικά νοσήματα, σε κακώσεις και μετά από λήψη φαρμάκων.

## **Μηχανισμοί Υπεζωκοτικής Συλλογής**

Παθολογική αύξηση του υγρού στην υπεζωκοτική κοιλότητα μπορεί να οφείλεται σε έναν ή περισσότερους από τους παρακάτω μηχανισμούς :

1. Αύξηση της υδροστατικής πίεσης στη μικροκυκλοφορία του υπεζωκότα.

Ευθύνεται συχνά για την υπεζωκοτική συλλογή που παρατηρείται στην καρδιακή ανεπάρκεια. Ασθενείς με αριστερή καρδιακή ανεπάρκεια παρουσιάζουν συχνότερα υπεζωκοτική συλλογή από τους ασθενείς με δεξιά καρδιακή ανεπάρκεια.

2. Ελάττωση της κολλοειδωσμοτικής πίεσης (υπολευκωματιναμία, νεφρωσικό σύνδρομο). Μόνη της σπάνια προκαλεί υπεζωκοτική συλλογή, λόγω της μεγάλης απορροφητικής ικανότητας των λεμφαγγείων. Αν όμως συνδυαστεί με παρεμπόδιση της λεμφικής παροχέτευσης είναι δυνατόν να δημιουργηθούν μεγάλες συλλογές.
3. Ελάττωση της πίεσης μέσα στην υπεζωκοτική κοιλότητα (ατελεκτασία πνεύμονα). Έχει διαπιστωθεί ότι, σε ολική ατελεκτασία πνεύμονα, η υπεζωκοτική πίεση μπορεί να κατέλθει σε επίπεδα  $<-20$  cm H<sub>2</sub>O. Σύμφωνα με την εξίσωση του Starling, οι αρνητικές αυτές πιέσεις προκαλούν απόλυτη αύξηση της υδροστατικής πίεσης και υπεζωκοτική συλλογή.
4. Αύξηση της διαπερατότητας των τριχοειδών του υπεζωκότα. Αποτελεί τη δεύτερη μετά την αύξηση της υδροστατικής πίεσης αιτία υπεζωκοτικής συλλογής. Η διαπερατότητα των τριχοειδών αυξάνεται σε φλεγμονές. Πρέπει να σημειωθεί ότι η φλεγμονή του υπεζωκότα παρεμποδίζει και την παροχέτευση του υγρού που συγκεντρώνεται στην υπεζωκοτική κοιλότητα με την απόφραξη των λεμφικών στομάτων.
5. Ελάττωση της λεμφικής παροχέτευσης. Η απόφραξη του λεμφικού συστήματος από το ύψος των στομάτων μέχρι το ύψος των μεσαυλικών λεμφαδένων και η μείωση της λεμφικής ροής, λόγω αύξησης της

συστηματικής φλεβικής πίεσης συμβάλλει στη δημιουργία υπεζωκοτικής συλλογής. Συχνά αίτια είναι οι νεοπλασίες, οι φλεγμονές και η ίνωση.

6. Περιτοναϊκή συλλογή. Ασκίτης κάθε αιτιολογίας μπορεί να επιπλακεί με υπεζωκοτική συλλογή. Πιθανός μηχανισμός είναι η μετακίνηση υγρού από την περιτοναϊκή στην υπεζωκοτική κοιλότητα με τα διαφραγματικά λεμφαγγεία ή από διαφραγματικά ελλείμματα λόγω της υφιστάμενης διαφοράς πίεσης μεταξύ των δύο κοιλοτήτων.

### **Κατάταξη Υπεζωκοτικών Συλλογών**

Οι υπεζωκοτικές συλλογές συνήθως χαρακτηρίζονται σαν διϋδρώματα ή εξιδρώματα. Αν μια συλλογή είναι διϋδρωμα ή εξιδρωμα καθορίζεται από τον μηχανισμό που δημιουργείται. Από τη στιγμή που η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ των υδροστατικών και οσμωτικών πιέσεων δεν μεταβάλλει τη συγκέντρωση πρωτεΐνης και γαλακτικής δευδρογενάσης (LDH) του υπεζωκοτικού υγρού, η συλλογή που προκαλείται με αυτό το μηχανισμό είναι διϋδρωμα. Η αύξηση της διαπερατότητας των τριχοειδών επιτρέπει την αύξηση της ποσότητας πρωτεΐνης, LDH και άλλων ουσιών στο υπεζωκοτικό υγρό. Επομένως, η αύξηση της διαπερατότητας των τριχοειδών του υπεζωκότα, των πνευμόνων ή του περιτοναίου (στις περιπτώσεις που η υπεζωκοτική συλλογή σχετίζεται με ασκίτη) προκαλεί εξιδρωματική υπεζωκοτική συλλογή. Η κατάταξη των συλλογών σε

διιδρώματα και εξιδρώματα διευκολύνει τον καθορισμό της αιτίας της υπεζωκοτικής συλλογής (169).

Αρκετά κριτήρια έχουν προταθεί για τον διαχωρισμό των διιδρωμάτων από τα εξιδρώματα. Τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα είναι η αναλογία πρωτεϊνών υπεζωκοτικού υγρού προς πρωτείνες πλάσματος, η αναλογία LDH υπεζωκοτικού υγρού προς LDH πλάσματος και η απόλυτη τιμή της LDH του υπεζωκοτικού υγρού. Με την εκτίμηση των λευκωμάτων και της γαλακτικής δευδρογενάσης ολοκληρώνεται ο έλεγχος των διιδρωμάτων. Για τα εξιδρώματα απαιτείται επιπλέον έλεγχος που αφορά κυρίως τον αριθμό και τον τύπο των λευκών αιμοσφαιρίων, τα επίπεδα γλυκόζης, την τιμή του pH, της αμυλάσης, της αδενοσινοδιαμινάσης (149,179), του αιματοκρίτη, των λιπιδίων και των δεικτών ανοσίας.

Τα αίτια των υπεζωκοτικών συλλογών φαίνονται στο πίνακα 3. Όσον αφορά τη συχνότητα των διαφόρων συλλογών (με βάση στατιστικά στοιχεία των ΗΠΑ), προηγούνται οι συμφορητικές καρδιακές ανεπάρκειες (38%) και ακολουθούν οι μικροβιακές πνευμονίες (23%), οι νεοπλασίες (15%), οι πνευμονικές εμβολές (11%), οι ιώσεις (7%) και άλλα αίτια (6%).

Η καλοήθης υπεζωκοτική συλλογή της κύησης, το σύνδρομο Meigs και το σύνδρομο υπερδιέγερσης των ωοθηκών μπορεί να συνοδεύονται από υπεζωκοτική συλλογή. Το κοινό χαρακτηριστικό της κύησης και του συνδρόμου υπερδιέγερσης των ωοθηκών είναι τα αυξημένα επίπεδα



οιστρογόνων και προγεστερόνης στο αίμα. Η ορμονική διέγερση εμπλέκεται επίσης στην παθογένεια του συνδρόμου Meigs.

---

### Δ Ι Ι Δ Ρ Ω Μ Α Τ Α

---

Συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια  
Συμπιεστική περικαρδίτιδα  
Κίρρωση ήπατος  
Νεφρωσικό σύνδρομο  
Απόφραξη άνω κοίλης φλέβας

Υπερχορήγηση υγρών  
Υπολευκωματιναίμια  
Περιτοναϊκές διυλίσσεις  
Ατελεκτασία

---

### Ε Ξ Ι Δ Ρ Ω Μ Α Τ Α

---

#### Λοιμώξεις

Βακτήρια  
Μυκοβακτηρίδιο φυματίωσης  
Ιοί  
Μύκητες  
Παράσιτα

#### Απόστημα

Υποδιαφραγματικό  
Ήπατος-Σληνός

#### Νεοπλάσματα

Πνεύμονα  
Μαστού  
Λέμφωμα  
Μεσοθηλίωμα  
Μεταστατικό  
Άλλο

#### Οισοφαγική ρήξη

#### Ανοσιακά αίτια

Ρευματοειδής αρθρίτιδα  
Ερυθρελαιώδης λύκος  
Σύνδρομο Sjogren

#### ΙΑΤΡΟΓΕΝΗ

Ακτινοβολία  
Επεμβάσεις  
Φάρμακα

#### Αιμοθώρακας (Ψευδο-)χυλοθώρακας

#### Άλλα αίτια

Παγκρεατίτιδα  
Έκθεση σε αμίαντο  
Ουραιμία  
Σύνδρομο υπερδιέγερσης  
ωοθηκών

---

### Δ Ι Ι Δ Ρ Ω Μ Α Τ Α Ή Ε Ξ Ι Δ Ρ Ω Μ Α Τ Α

---

Σαρκοείδωση  
Μυξοίδημα

Πνευμονική εμβολή  
Υπεζωκοτική συλλογή  
εγκυμοσύνης  
Σύνδρομο Meigs

---

Πίνακας 3. Αίτια υπεζωκοτικών συλλογών.

## Υπεζωκοτική Συλλογή Εγκυμοσύνης

Κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και ιδιαίτερα στον τοκετό, αναπτύσσονται κατάλληλες συνθήκες για τη δημιουργία υπεζωκοτικής συλλογής. Η φυσιολογική εγκυμοσύνη ευνοεί τη συλλογή υγρού στην υπεζωκοτική κοιλότητα λόγω των αυξημένων υδροστατικών πιέσεων της συστηματικής κυκλοφορίας, της αύξησης του όγκου αίματος και της μείωσης της κολλοειδωσμοτικής πίεσης. Οι επαναλαμβανόμενοι χειρισμοί Valsalva κατά τον τοκετό αυξάνουν ακόμα περισσότερο τη συλλογή υγρού λόγω των αυξημένων ενδοθωρακικών πιέσεων και της μείωσης της απομάκρυνσης του υγρού από την υπεζωκοτική κοιλότητα δια των λεμφαγγείων. Οι ατελεκτασίες των κάτω πνευμονικών πεδίων που προκαλούνται από την πίεση από το κύημα μπορούν επίσης να αυξήσουν το σχηματισμό υγρού στην υπεζωκοτική κοιλότητα (159). Με τη βοήθεια υπερηχογραφήματος αποκαλύφθηκε υπεζωκοτική συλλογή όγκου 300-500 ml τις πρώτες 24 ώρες μετά από φυσιολογικό τοκετό σε 7 από 31 γυναίκες (63). Μόνο 2 στις 31 γυναίκες είχαν φυσιολογική δημιουργία υπεζωκοτικής συλλογής ένα 24ωρο πριν τον τοκετό (64). Επομένως οι συνθήκες του τοκετού ευνοούν τη δημιουργία υπεζωκοτικής συλλογής φυσιολογικά. Το υγρό αυτό απορροφάται τις πρώτες ημέρες μετά τον τοκετό. Ο τοκετός με τους μηχανισμούς που αναφέρθηκαν παραπάνω εμποδίζει κυρίως την απομάκρυνση του υγρού δια των λεμφαγγείων. Είναι

γνωστό ότι η διάμετρος των λεμφαγγείων μειώνεται πολύ περισσότερο από τις φλέβες και τις αρτηρίες όταν αυξάνονται οι ενδοθωρακικές πιέσεις.

Η ανάπτυξη υπεζωκοτικής συλλογής σε γυναίκες μετά τον τοκετό μπορεί επίσης να οφείλεται σε παθολογικά αίτια που αφορούν κυρίως το παρέγχυμα, αλλά συνοδεύονται από υπεζωκοτική συλλογή, όπως είναι η πνευμονική εμβολή, η εμβολή με αμνιακό υγρό και το μη καρδιογενές πνευμονικό οίδημα ή να αποτελούν εντόπιση της νόσου στον υπεζωκότα. Ο χυλοθώρακας συνοδεύει την λεμφαγγειομυωμάτωση, μια ιδιοπαθή νόσο που προσβάλλει τις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας ιδιαίτερα κατά την εγκυμοσύνη και χαρακτηρίζεται από αύξηση των λείων μυϊκών ινών στα πνευμονικά αγγεία, στους αεραγωγούς και τα λεμφαγγεία. Το χοριοκαρκίνωμα μπορεί να προσβάλλει τον υπεζωκότα και να εκδηλωθεί με μεγάλη υπεζωκοτική συλλογή. Η υδρονέφρωση που μπορεί να συμβεί σε προηγούμενα υγιείς εγκύους και που πιθανότατα οφείλεται σε πίεση του ουρητήρα ή ορμονικές δράσεις στην περισταλτικότητα του ουρητήρα μπορεί να συνοδεύεται από συλλογή υγρού στην περιτοναϊκή ή και την υπεζωκοτική κοιλότητα. Η ρήξη του διαφράγματος μπορεί να συμβεί στην εγκυμοσύνη αλλά είναι πολύ σπάνια, σοβαρή επιπλοκή που συνοδεύεται συνήθως από υπεζωκοτική συλλογή (75,172)

## Υπεζωκοτική Συλλογή Συνδρόμου Meigs

Το σύνδρομο Meigs είναι η κλινική παθολογική κατάσταση, όπου συνυπάρχουν ασκίτης και υπεζωκοτική συλλογή μαζί με ένα ωθηκικό νεόπλασμα. Το ωθηκικό ίνωμα αποτελεί τη συχνότερη αιτία του συνδρόμου. Εκτός από το ωθηκικό ίνωμα και άλλες νεοπλασίες των ωθηκών όπως ινοσαρκώματα, τερατώματα και κυσταδενώματα ή και νεοπλασίες της μήτρας μπορεί να συνοδεύονται από ασκίτη και υπεζωκοτική συλλογή. Στις περιπτώσεις αυτές το σύνδρομο ονομάζεται ψευδο-Meigs. Η περιτοναϊκή και η υπεζωκοτική συλλογή εξαφανίζονται μετά την αφαίρεση του όγκου.

Η παθογένεια της δημιουργίας της περιτοναϊκής και της υπεζωκοτικής συλλογής δεν είναι καλά τεκμηριωμένη. Η προέλευση του ασκίτικου υγρού από την επιφάνεια του όγκου είναι ο πιο αποδεκτός μηχανισμός σήμερα. Εναλλακτικοί μηχανισμοί για τη δημιουργία ασκίτη περιλαμβάνουν την άσκηση πίεσης στα περιβάλλοντα λεμφαγγεία και αγγεία, την ορμονική διέγερση και την συστροφή του όγκου. Η αιτιολογία της υπεζωκοτικής συλλογής επίσης δεν είναι γνωστή. Η μεταφορά του ασκίτικου υγρού στην υπεζωκοτική κοιλότητα, διαμέσου των διαφραγματικών λεμφαγγείων, είναι η επικρατούσα θεωρία (55,83).

## **Υπεζωκοτική Συλλογή Συνδρόμου**

### **Υπερδιέγερσης Ωοθηκών**

Το σύνδρομο υπερδιέγερσης ωοθηκών είναι μια συχνή ιατρογενής επιπλοκή της πρόκλησης ωοθυλακιορηξίας. Διακρίνονται τρεις κλινικές κατηγορίες, η ελαφρά ή ήπια υπερδιέγερση, η μέτρια υπερδιέγερση και η βαριά ή σοβαρή υπερδιέγερση (12).

Η ήπια υπερδιέγερση περιλαμβάνει υπερβολική παραγωγή στεροειδών (οιστρογόνων και προγεστερόνης), αύξηση του μεγέθους των ωοθηκών και ήπια κοιλιακά ενοχλήματα όπως ο μετεωρισμός (12).

Η μέτρια υπερδιέγερση περιλαμβάνει εκτός των ανωτέρω, ψηλαφητές κύστες ωοθήκης και πιθανόν ναυτία και εμετούς.

Η σοβαρή μορφή του συνδρόμου χαρακτηρίζεται από ωοθηκική διόγκωση και εξαγγείωση υγρών από τα ωοθηκικά τριχοειδή στον εξαγγειακό χώρο, που σχετίζεται με ασκίτη, κοιλιακή διάταση, υπεζωκοτική συλλογή και γενικευμένο ή εντοπισμένο ιστικό οίδημα. Υποβολαιμία, αιμορραγία και θρομβοεμβολή αποτελούν σπάνιες, αλλά σοβαρές επιπλοκές του συνδρόμου. Η συλλογή υγρού στον υπεζωκότα είναι μια πολύ συνηθισμένη επιπλοκή της σοβαρής μορφής του συνδρόμου και συνήθως σχετίζεται με ασκίτη, ετερόπλευρη διόγκωση ωοθηκών, αιμοσυμπύκνωση και υποαλβουμιναιμία (107). Υπάρχουν πολύ λίγες αναφορές στις οποίες η υπεζωκοτική συλλογή είναι η μοναδική κλινική εκδήλωση του συνδρόμου

υπερδιέγερσης των ωοθηκών (11,34,79). Στις περιπτώσεις αυτές έχει αναφερθεί έντονη αμφοτερόπλευρη διόγκωση των ωοθηκών.

Η παθογένεια του συνδρόμου υπερδιέγερσης ωοθηκών και της υπεζωκοτικής συλλογής δεν είναι καλά γνωστή. Πολλοί παράγοντες όπως ισταμίνη, προσταγλαδίνες, ιντερλευκίνη 6, ρενίνη-αγγειοτενσίνη, αλβουμίνη και διάφορες κυτοκίνες έχουν συσχετιστεί με αυτή την επιπλοκή (76). Τα υψηλά επίπεδα στεροειδών ορμονών (οιστρογόνων, προγεστερόνης και αλδοστερόνης) εμπλέκονται επίσης, τροποποιώντας πιθανόν τη διαπερατότητα των αγγείων (76). Ο αγγειοδραστικός παράγοντας του ενδοθηλίου ίσως παίζει κάποιο ρόλο στη μεταβολή της διαπερατότητας των τριχοειδών. Δεν εξηγεί όμως τις περιπτώσεις εκείνες στις οποίες υπάρχει υπεζωκοτική συλλογή χωρίς ασκίτη (11). Μεγαλύτερη έκκριση του αυξητικού παράγοντα του ενδοθηλίου (VEGF), ένα πολυπεπτίδιο που εμπλέκεται στην διέγερση της αύξησης νέων αιμοφόρων αγγείων, έχει αναφερθεί επίσης (118). Τα διαφραγματικά λεμφαγγεία αποτελούν μια πιθανή οδό μεταφοράς του ασκίτικού υγρού στον υπεζωκότα. Άλλοι υποστηρίζουν ότι το ασκίτικό υγρό περνάει στον υπεζωκότα από ανατομικά ελλείμματα του διαφράγματος (70).

## ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΜΕΜΒΡΑΝΩΝ

Η κυτταρική μεμβράνη λειτουργεί ως φραγμός διαπερατότητας που επιτρέπει στο κυτταρόπλασμα να διατηρεί σύσταση πολύ διαφορετική από εκείνη του εξωκυττάριου υγρού.

Περίπου 180 λίτρα υγρού απορροφούνται καθημερινά από το εγγύς εσπειραμένο σωληνάριο, 9 λίτρα την ημέρα από το επιθήλιο του λεπτού εντέρου, περισσότερα από 700 ml την ημέρα από τον τοιχωματικό υπεζωκότα, αλλά υπάρχουν ακόμη διαφωνίες σχετικά με τους μηχανισμούς (153). Πριν από ένα αιώνα ο Waymouth Reid ήταν ο πρώτος που ανακάλυψε ότι η απορρόφηση υγρού από το έντερο απαιτεί ακέραιο επιθήλιο και ότι η διακίνηση υγρού διαμέσου της μεμβράνης γίνεται χωρίς να υπάρχει κάποια οσμωτική δύναμη (147). Από τότε έχουν γίνει σημαντικά βήματα και σήμερα γνωρίζουμε τους βασικούς μηχανισμούς της διαμεμβρανικής μεταφοράς ύδατος και ουσιών. Οι βασικοί μηχανισμοί με τους οποίους γίνεται η μεταφορά μέσα από την κυτταρική μεμβράνη, είτε αυτή αφορά μετακίνηση μέσα από τη λιπιδιακή διπλοστιβάδα, είτε μέσα από τις πρωτείνες της μεμβράνης, είναι η διάχυση και η ενεργητική μεταφορά.

### Διάχυση

Διάχυση είναι η τυχαία διακίνηση ουσιών, μόριο με μόριο, μέσα από χώρους που παρεμβάλλονται μεταξύ των μορίων στη μεμβράνη, είτε σε συνδυασμό με πρωτεΐνη φορέα. Η διάχυση επιτελείται με τη συνήθη

κινητική ενέργεια της ύλης. Τα ιόντα διαχέονται με τον ίδιο ακριβώς τρόπο όπως και τα μόρια, καθώς επίσης και τα αιωρούμενα κολλοειδή σωματίδια, με τη διαφορά ότι τα κολλοειδή κινούνται με πολύ μικρότερη ταχύτητα εξαιτίας του μεγαλύτερου μεγέθους τους (97).

### **Ενεργητική Μεταφορά**

Η ενεργητική μεταφορά συνίσταται σε μετακίνηση ιόντων ή άλλων ουσιών, διαμέσου της μεμβράνης, με τη συμμετοχή μίας πρωτεΐνης φορέα. Επιπλέον μπορεί να πραγματοποιηθεί αντίθετα προς το ενεργειακό πρηνές, όπως από χαμηλή συγκέντρωση σε υψηλή συγκέντρωση, διεργασία για την οποία απαιτείται επιπρόσθετη πηγή ενέργειας, εκτός από την κινητική ενέργεια για την πραγματοποίηση της μετακίνησης (97).

### **Μεταφορά Διαμέσου Επιθηλίων**

Τα επιθηλιακά κύτταρα παρουσιάζουν πολικότητα στις μεταφορικές ιδιότητες τους. Αυτό σημαίνει ότι οι μεταφορικές ιδιότητες της κυτταρικής μεμβράνης που βλέπει προς τη μια πλευρά της στιβάδας των επιθηλιακών κυττάρων διαφέρουν από εκείνες της μεμβράνης που βλέπει προς την άλλη πλευρά.

Τα επιθηλιακά κύτταρα του λεπτού εντέρου και του εγγύς εσπειραμένου σωληναρίου των νεφρών αποτελούν χαρακτηριστικά παραδείγματα αυτής της πολικότητας. Το συμπλήρωμα των μεταφορικών πρωτεϊνών της μεμβράνης στην ψηκτροειδή παρυφή που βλέπει προς τον

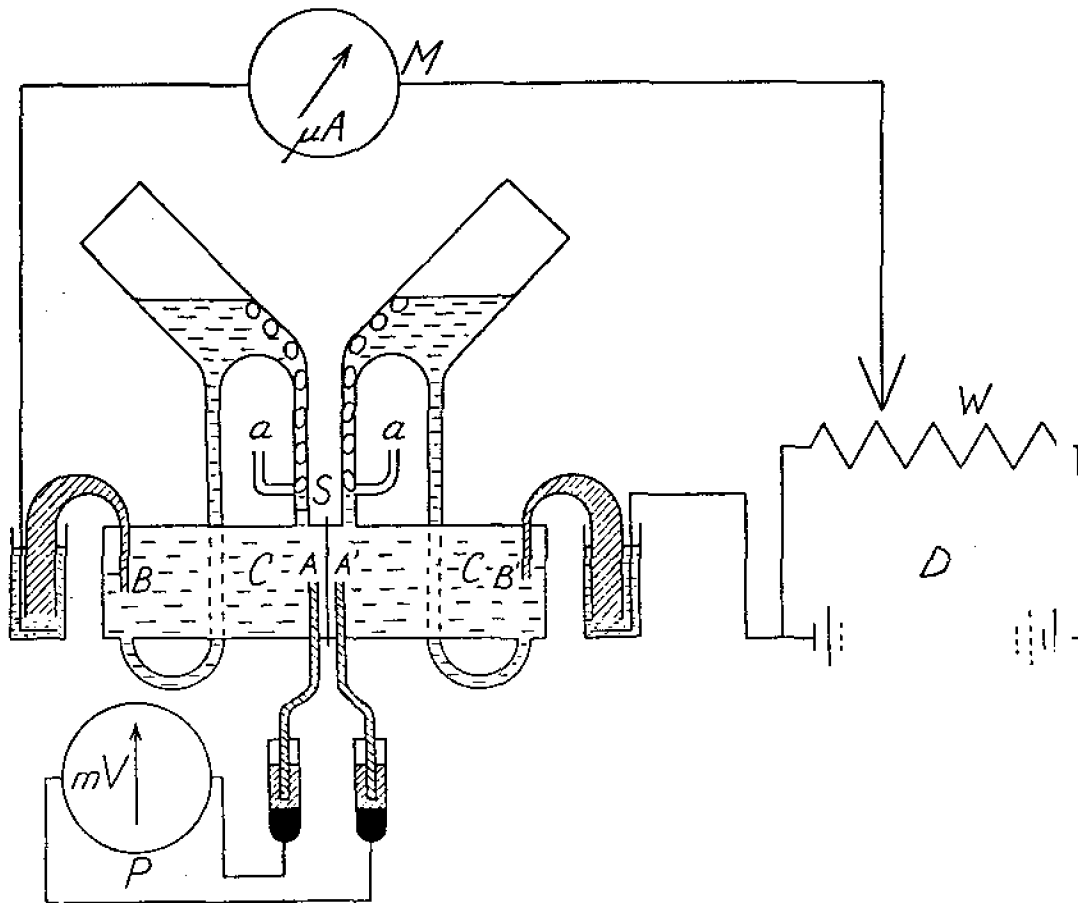


αυλό του λεπτού εντέρου ή του ουροφόρου σωληναρίου διαφέρει από τη σύσταση των μεταφορικών πρωτεϊνών της βασεοπλευρικής μεμβράνης του κυττάρου. Οι στενές συνδέσεις που ενώνουν τα επιθηλιακά κύτταρα δεν επιτρέπουν τη μίξη των μεταφορικών πρωτεϊνών της βασεοπλευρικής όψης των κυτταρικών μεμβρανών με εκείνες της πλευράς του αυλού, διατηρώντας έτσι την πολικότητα ως προς την κατανομή των συστατικών. Οι συνδέσεις αυτές επιτρέπουν τη δίοδο ύδατος και μικρών υδατοδιαλυτών μορίων και ιόντων. Έτσι, υπάρχουν δύο ειδών οδοί μεταφοράς διαμέσου των επιθηλίων: (α) διακυττάρια οδοί, μέσα από τα κύτταρα, και (β) παρακυττάρια οδοί, ανάμεσα από τα κύτταρα (8).

Η μεταφορά υγρών και ουσιών μέσα από τα κύτταρα γίνεται με τους βασικούς μηχανισμούς που αναφέρθηκαν. Η διακίνηση από τις παρακυττάρια οδούς περιορίζεται από τις στενές συνδέσεις (tight junctions), οι οποίες συνήθως βρίσκονται στην κορυφαία (apical) πλευρά των επιθηλιακών κυττάρων (68,71). Η μεταφορά στις παρακυττάρια οδούς θεωρούνταν παθητική, κυρίως σαν αποτέλεσμα υδροστατικών ή ωσμωτικών διαφορών ή κλίσης ιόντων, που δημιουργούνται από την ενεργητική διακυττάρια μεταφορά ιόντων (57,175). Πρόσφατα, αρκετές μελέτες έχουν αποδείξει ότι η παρακυττάρια μεταφορά μπορεί να ρυθμίζεται ενεργά (56,58,59,62).

## Μελέτη Διαπερατότητας Των Βιολογικών Μεμβρανών

Μια κλασική μέθοδος μελέτης διαπερατότητας των βιολογικών μεμβρανών είναι η μέθοδος Ussing System (36,41,158). Αναμφισβήτητη απόδειξη για την αντλία  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  και την ενεργητική μεταφορά προέρχεται από τις μελέτες του Hans Ussing σε τμήμα δέρματος βατράχου (162). Η τεχνική του Hans Ussing εξασφάλισε ένα πειραματικό εργαλείο, το οποίο αποδείχθηκε εξαιρετικά χρήσιμο όχι μόνο για τη μελέτη δέρματος βατράχου αλλά και για την έρευνα της φυσιολογικής συμπεριφοράς άλλων απομονωμένων επιθηλιακών ιστών (7,108,162). Η αρχή της τεχνικής φαίνεται στην εικόνα 4. Το δέρμα (S) είναι τοποθετημένο σαν επίπεδο στρώμα σε μια αντλία (C) και διαχωρίζει ένα διάλυμα Ringer. Η διαφορά δυναμικού κατά πλάτος του ιστού μετριέται από ένα ζεύγος ηλεκτροδίων (A, A') που τοποθετούνται όσο πιο κοντά γίνεται στη μεμβράνη χωρίς ουσιαστικά να την αγγίζουν. Το δυναμικό καταγράφεται από ένα μιλιβολτόμετρο (P). Με τη βοήθεια μιας μπαταρίας (D) και ενός διαιρέτη τάσης (potential divider) (W), ρεύμα μπορεί να διαπεράσει τον ιστό διαμέσου ενός δεύτερου ζεύγους ηλεκτροδίων (B, B'), που τοποθετούνται όσο πιο μακριά γίνεται από τον ιστό. Το ρεύμα μπορεί να προστεθεί αντίθετα προς το δυναμικό που αναπτύσσει ο ιστός και να αυξηθεί σταδιακά ώστε το δυναμικό να γίνει μηδέν.



Εικόνα 4. Διάγραμμα της συσκευής που χρησιμοποιήθηκε για τον καθορισμό ηλεκτρικών παραμέτρων σε δέρμα βατράχου από τον H. Ussing (Ussing HH et al, 1962).

C: αντλία

S: ιστός

a: εισοδοι για οξυγόνο

A and A': ηλεκτρόδια για την καταγραφή της διαφοράς δυναμικού

B and B': ηλεκτρόδια για την χορήγηση ρεύματος

D: μπαταρία

W: διαιρέτης τάσης

M: μικροαμπερόμετρο

P: μιλιβολτόμετρο

## Χρήση Ουσιών Για Τη Μελέτη Διαπερατότητας

### Βιολογικών Μεμβρανών

Πληθώρα ουσιών έχει χρησιμοποιηθεί για την έρευνα διαπερατότητας των βιολογικών μεμβρανών. Από τις πιο συχνά χρησιμοποιούμενες είναι η

αμιλορίδη, η ουαμπαΐνη, τα τελευταία χρόνια το οξείδιο του αζώτου (NO) και οι ορμόνες.

### **Αμιλορίδη**

Ο πιο ειδικός και χρήσιμος αναστολέας των διαύλων  $\text{Na}^+$  είναι το διουρητικό φάρμακο αμιλορίδη (86,123,129). Η αμιλορίδη αναστέλλει τη μεταφορά  $\text{Na}^+$  γρήγορα και αναστρέψιμα. Μια επισκόπηση της βιβλιογραφίας δείχνει ότι η διαδικασία της, ευαίσθητης στην αμιλορίδη μεταφοράς  $\text{Na}^+$ , μπορεί αυθαίρετα να διαχωριστεί σε τρεις κύριες κατηγορίες, ανάλογα με την ευαισθησία της αναστολής που προκαλεί η αμιλορίδη σε υψηλές εξωκυττάρειες συγκεντρώσεις  $\text{Na}^+$  (54). Η πρώτη κατηγορία περιέχει ειδικούς διαύλους  $\text{Na}^+$  που αναστέλλονται από χαμηλές συγκεντρώσεις αμιλορίδης (μικρότερες από  $\mu\text{M}$ ). Οι επιθηλιακοί δίαυλοι  $\text{Na}^+$  έχουν την υψηλότερη συγγένεια στην αμιλορίδη και το διουρητικό αυτό συχνά χρησιμοποιείται ως δείκτης γι'αυτούς τους διαύλους. Στη δεύτερη κατηγορία ανήκουν συστήματα μεταφοράς ιόντων  $\text{Na}^+$  που έχουν λίγο μικρότερη συγγένεια στην αμιλορίδη (αναστέλλονται από συγκεντρώσεις αμιλορίδης σε  $\mu\text{M}$ ). Τα συστήματα αυτά είναι ηλεκτρικά ουδέτερα και κάτω από φυσιολογικές συνθήκες ανταλλάσσουν ιόντα  $\text{Na}^+$  με ιόντα  $\text{H}^+$ . Επειδή ο βασικός ρόλος αυτού του συστήματος μεταφοράς είναι η ρύθμιση του ενδοκυττάριου pH, ουσιαστικά βρίσκονται στις μεμβράνες όλων των κυττάρων. Η αμιλορίδη μπορεί επίσης να αναστέλλει την ανταλλαγή ιόντων

$\text{Na}^+ / \text{Ca}^{2+}$ . Η αναστολή αυτού του συστήματος απαιτεί συγκεντρώσεις αμιλορίδης σε mM. Αυτό το σύστημα μεταφοράς πρωταρχικά εμπλέκεται στην ενδοκυττάρια ομοιόσταση του  $\text{Ca}^{2+}$  και έχει βρεθεί σε διάφορα όργανα όπως η καρδιά, ο εγκέφαλος και η υπόφυση.

### **Ουαμπαΐνη**

Η αντλία  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  ( $\text{Na}^+, \text{K}^+$  ATPάση) είναι αναπόσπαστο ένζυμο της μεμβράνης όλων των κυττάρων του οργανισμού. Στις περισσότερες περιπτώσεις αντλεί τρία ενδοκυττάρια ιόντα  $\text{Na}^+$  έξω από το κύτταρο και δύο εξωκυττάρια ιόντα  $\text{K}^+$  μέσα στο κύτταρο, ενάντια στην ηλεκτροχημική κλίση συγκέντρωσης και με κατανάλωση ενέργειας από την υδρόλυση ενός μορίου ATP. Αυτή η άνιση άντληση κατιόντων κατά πλάτος της κυτταρικής μεμβράνης δημιουργεί ένα εξωτερικό ρεύμα που μεταφέρεται από τα ιόντα  $\text{Na}^+$  (103,152). Ένας ειδικός αναστολέας αυτής της αντλίας είναι η ουαμπαΐνη (9,161).

### **Οξειδίο Του Αζώτου**

Το οξειδίο του αζώτου (NO) είναι ένα απλό και σχετικά ασταθές μόριο σε αερόβιες συνθήκες, η ανακάλυψη του οποίου άνοιξε νέους ορίζοντες στην έρευνα. Ενώ πολλές από τις επιδράσεις του NO είναι γνωστές, υπάρχουν ακόμη πολλά που πρέπει να μάθουμε για τις αλληλεπιδράσεις αυτού του μορίου στις φυσιολογικές και παθοφυσιολογικές διαδικασίες του οργανισμού.

Το NO συντίθεται από το αμινοξύ L-αργινίνη με τη βοήθεια ενός ενζύμου, της συνθάσης του οξειδίου του αζώτου (NOS) (25,117,130). Η αργινίνη μέσω της NOS μετατρέπεται σε NO και κιτρουλλίνη. Υπάρχουν τρεις γνωστοί υπότυποι της NOS. Ο τύπος I (NOS I) εκφράζεται κυρίως στα νευρικά κύτταρα, με κύρια λειτουργία τη νευροδιαβιβαστική και η ενεργοποίησή της εξαρτάται από τη συγκέντρωση ιόντων  $Ca^{2+}$  και καλμοδουλίνης. Ο τύπος II (NOS II) έχει περιγραφεί στα μακροφάγα και στα ηπατοκύτταρα, αλλά επίσης και σε νευρογλοιακά κύτταρα του κεντρικού νευρικού συστήματος. Η ενεργοποίησή της είναι ανεξάρτητη από τη συγκέντρωση ιόντων  $Ca^{2+}$  και καλμοδουλίνης. Ο τύπος III (NOS III) ανακαλύφθηκε στα ενδοθηλιακά κύτταρα, στα οποία εκφράζεται κυρίως, αλλά έχει βρεθεί και σε νευρώνες του κεντρικού νευρικού συστήματος. Η ενεργοποίησή της εξαρτάται από τη συγκέντρωση ιόντων  $Ca^{2+}$  και καλμοδουλίνης (111).

Η ενδογενής παραγωγή του NO μπορεί να ανασταλεί από διάφορα ανάλογα της L-αργινίνης που μπλοκάρουν τη δράση της NOS. Δύο από τους πιο συχνά χρησιμοποιούμενους αναστολείς είναι η  $N^G$ -μόνο-μέθυλο-L-αργινίνη (L-NMMA) και ο  $N^{\omega}$ -νίτρο-L-αργινίνη-μέθυλο-εστέρας (L-NAME). Εκτός από τα ανάλογα της L-αργινίνης χρησιμοποιούνται και άλλες ουσίες όπως αναστολείς του  $Ca^{2+}$  και της καλμοδουλίνης, ουσίες που περιέχουν άζωτο και αναστολείς της  $BH_4$  σύνθεσης (47,96).

Η παραγωγή του NO μπορεί να εξασφαλιστεί με μια ποικιλία ουσιών που έχουν και (πιθανές) κλινικές εφαρμογές σαν αγγειοδιασταλτικά φάρμακα. Τυπικά παραδείγματα δοτών του NO είναι το νιτροπρωσσικό νάτριο (SNP), η νιφεδιπίνη και η S-νιτρόσο-N-ακετυλοπενικιλλαμίνη (SNAP) (95,160).

Το NO παίζει σημαντικό ρόλο σε ένα ευρύ φάσμα φυσιολογικών διαδικασιών. Μερικές από τις κύριες λειτουργίες του είναι η ρύθμιση της αιματικής ροής και της αρτηριακής πίεσης (60,77,143,164), η χάλαση των λείων μυϊκών ινών των αγγείων και των λεμφαγγείων (15,156), η διακυττάρια επικοινωνία στο κεντρικό νευρικό σύστημα με ενεργοποίηση της γουανυλικής κυκλάσης στους νευρώνες στόχους, η ρύθμιση μηχανισμών άμυνας μετά από έκθεση σε βακτηριδιακά προϊόντα (53) και η ρύθμιση διακίνησης ιόντων (53).

### **Ορμονική Ρύθμιση**

Σημαντικό ρόλο στους μηχανισμούς δράσης των ορμονών στα κύτταρα έχουν οι αλλαγές που προκαλούν στις ηλεκτρικές ιδιότητες των κυτταρικών μεμβρανών, οι οποίες καθορίζουν τη διαπερατότητα, τη διεγερσιμότητα και άλλες κυτταρικές λειτουργίες. Η σταθερή ορμονική κατάσταση ή οι αλλαγές που υφίσταται σε διάφορες καταστάσεις καθορίζουν το βασικό επίπεδο της διαπερατότητας και της διεγερσιμότητας

των κυττάρων ή το τροποποιούν ανάλογα με τις επιδράσεις που δέχεται ο οργανισμός.

Πληθώρα ορμονών έχει προσελκύσει το ερευνητικό ενδιαφέρον όπως η αλδοστερόνη (168), η αντιδιουρητική ορμόνη (122), τα οιστρογόνα (28,151), η προγεστερόνη (148), η ινσουλίνη (155), η αδρεναλίνη (51) και η κορτιζόνη (51).

### **Οιστρογόνα - Προγεστερόνη**

Σύμφωνα με την κλασική θεωρία δράσης, οι στεροειδείς ορμόνες (οιστρογόνα, προγεστερόνη κ.τ.λ.), φθάνουν στα κύτταρα στόχους διαμέσου της κυκλοφορίας. Αφού διαπεράσουν τη μεμβράνη συνδέονται με ειδικούς κυτταροπλασματικούς υποδοχείς. Στη συνέχεια το σύμπλοκο υποδοχέα-ορμόνης μεταφέρεται στον πυρήνα, όπου ενεργοποιεί συγκεκριμένα γονίδια, προάγει τη διαδικασία της μετάφρασης και του σχηματισμού νέων πρωτεϊνών (23). Ο χρόνος που απαιτείται για τις γονιδιακές επιδράσεις των ορμονών είναι πάνω από 30 λεπτά. Η θεωρία αυτή αποτελούσε ένα αναμφισβήτητο δόγμα, για την ερμηνεία των ορμονικών επιδράσεων, κατά τις προηγούμενες δεκαετίες. Παρατηρήσεις για άμεσες επιδράσεις ορμονών, εντός δευτερολέπτων ή λίγων λεπτών υπήρχαν από το 1941 (120). Αυτές οι παρατηρήσεις διαφωνούσαν με την επικρατούσα θεωρία και μόνο πρόσφατα έχουν αναγνωριστεί ευρύτατα οι μη γονιδιακές επιδράσεις των



στεροειδών ορμονών και οδήγησαν σε κριτική επανεκτίμηση αυτού του δόγματος.

Οι μη γονιδιακές δράσεις των οιστρογόνων και της προγεστερόνης χαρακτηρίζονται από γρήγορες επιδράσεις, από δευτερόλεπτα μέχρι μερικά λεπτά σε μια ποικιλία κυττάρων στόχων όπως κύτταρα υπόφυσης (17), υπόκαμπου (67), ηπατοκύτταρα (30), ωοκύτταρα (170), ερυθροκύτταρα (66), οστεοβλάστες (49) και κύτταρα του ενδομητρίου (133,176).

Ο μηχανισμός με τον οποίο τα οιστρογόνα και η προγεστερόνη αλλά και οι υπόλοιπες στεροειδείς ορμόνες ασκούν τις άμεσες επιδράσεις δεν είναι ομοιόμορφος και ως εκ τούτου πολλοί πιθανοί μηχανισμοί έχουν περιγραφεί (146,171). Μια κατάταξη των άμεσων επιδράσεων των στεροειδών ορμονών σε σχέση με τους μηχανισμούς που εμπλέκονται έχει συζητηθεί και προταθεί από την « πρώτη διεθνή συνάντηση για τις άμεσες επιδράσεις των στεροειδών ορμονών », στο Mennheim της Γερμανίας το 1998 (46). Η ταξινόμηση των μη γονιδιακών επιδράσεων των στεροειδών ορμονών φαίνεται στην σχήμα 3. Σύμφωνα με αυτή οι πιθανές κατηγορίες είναι: AI, BI, AIIα, AIIβ, BIIα και BIIβ. Παραδείγματα για τις κατηγορίες AI, AIIα, AIIβ, και BIIβ έχουν ήδη περιγραφεί.

#### **Τάξη AI (Άμεση δράση, χωρίς εμπλοκή υποδοχέα)**

Μη ειδικές, μη γονιδιακές επιδράσεις στεροειδών ορμονών έχουν περιγραφεί εδώ και πολλά χρόνια. Είναι αποτέλεσμα υψηλών

συγκεντρώσεων στεροειδών και αντανακλούν αλλαγές στις φυσικοχημικές ιδιότητες των μεμβρανών, όπως η ρευστότητα και το μικροπεριβάλλον των μεμβρανικών υποδοχέων. Επιδράσεις οιστρογόνων και προγεστερόνης βρέθηκαν σε διάφορους ιστούς όπως είναι τα επιθηλιακά κύτταρα του κόλπου, τα ανθρώπινα σπερματοζωάρια και τα καρκινικά κύτταρα μαστού (146).

<b>A. ΑΜΕΣΗ ΔΡΑΣΗ</b>		<b>B. ΕΜΜΕΣΗ ΔΡΑΣΗ</b>	
(όταν η στεροειδής ορμόνη είναι ο μόνος αγωνιστής και δρά μόνη της)		(όταν η στεροειδής ορμόνη χρειάζεται συναγωνιστή για την πρόκληση γρήγορων αλλαγών)	
<b>➔</b>	<b>I. ΜΗ ΕΙΔΙΚΗ</b> (χωρίς εμπλοκή υποδοχέα)		<b>←</b>
	<b>II. ΕΙΔΙΚΗ</b> (υποδοχέας στεροειδών)		
<b>➔</b>	<b>α. Κλασικός ενδοκυττάριος υποδοχέας στεροειδών</b>		<b>←</b>
<b>➔</b>	<b>β. Μη κλασικός υποδοχέας στεροειδών</b>		<b>←</b>

Σχήμα 3. Κατάταξη Mannheim για τις μη γονιδιακές δράσεις των στεροειδών ορμονών. Τα σκούρα βέλη(➔) δείχνουν την ύπαρξη παραδειγμάτων στις αντίστοιχες κατηγορίες, ενώ τα άλλα (→) δείχνουν υποθετικές κατηγορίες στις οποίες δεν υπάρχουν παραδείγματα (Falkenstein et all, 46).

### **Τάξη ΑΙΙα** (Άμεσες επιδράσεις μέσω κλασικών ενδοκυττάριων υποδοχέων)

Η πιθανή συμμετοχή του ενδοκυττάριου υποδοχέα των στεροειδών ορμονών στην πρόκληση γρήγορων επιδράσεων έχει προταθεί σε πρόσφατες

μελέτες (73,74,99). Η 17β οιστραδιόλη βρέθηκε να αυξάνει το οξύδιο του αζώτου σε ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα ομφαλικής φλέβας. Η δράση αυτή αναστέλλονται από τους ανταγωνιστές των ενδοκυττάρων υποδοχέων την ταμοξιφαίνη και ICI 182,780 (73). Η ταμοξιφαίνη είναι ένας συχνά χρησιμοποιούμενος ανταγωνιστής των ενδοκυττάρων υποδοχέων των οιστρογόνων, μπορεί όμως να αναστέλλει κάποιες από τις επιδράσεις των οιστρογόνων μέσω των μεμβρανικών υποδοχέων (136,154), όπως επίσης και άμεσες επιδράσεις οιστρογόνων μέσω κλασικών ενδοκυττάρων υποδοχέων (26). Χρησιμοποιείται στη θεραπεία του καρκίνου του μαστού (81,85), αν και δεν είναι καθαρά μια αντιοιστρογονική ουσία γιατί διαθέτει και κάποιες ιδιότητες παρόμοιες με των οιστρογόνων, όπως η μείωση της χοληστερόλης στο πλάσμα και η μείωση της οστικής απώλειας (105).

**Τάξη ΑΠΒ** (Άμεσες επιδράσεις μέσω μη κλασικών [ενδοκυττάρων] υποδοχέων)

Η πλειοψηφία των γρήγορων επιδράσεων των στεροειδών ορμονών πραγματοποιείται μέσω μεμβρανικών υποδοχέων, μη συγγενικών με τους ενδοκυττάρους υποδοχείς (61,87,119,127,167). Τα φαρμακολογικά χαρακτηριστικά αυτών των ειδικών μεμβρανικών θέσεων σύνδεσης είναι σαφώς διαφορετικά από αυτά των κλασικών ενδοκυττάρων υποδοχέων. Σύμφωνα με αυτό το μηχανισμό οι στεροειδείς ορμόνες συνδέονται με μεμβρανικούς υποδοχείς και οδηγούν σε αλλαγές στα επίπεδα του cAMP,

της ροής  $Ca^{2+}$  ή και της διακίνησης άλλων ιόντων, τα οποία τελικά επηρεάζουν τη διεγερσιμότητα και τη διαπερατότητα των μεμβρανών (27,82,157).

**Τάξη ΒΙΙβ** (Εμμεσες επιδράσεις: Η στεροειδής ορμόνη χρειάζεται συναγωνιστή, εμπλοκή μη κλασικού [ενδοκυττάρου] υποδοχέα)

Παράδειγμα της κατηγορίας αυτής είναι η διαμόρφωση της γ-αμινοβουτυρικής διαβίβασης από «νευροστεροειδή» (neurosteroids) στα οποία ανήκουν τα στεροειδή που συντίθενται στα νευρογλοιακά κύτταρα και τα συνθετικά στεροειδή (46). Είναι επιδράσεις που απαιτούν συναγωνιστή (GABA, γ-αμινοβουτυρικό οξύ) αλλά πραγματοποιούνται μέσω ειδικών μη κλασικών (ενδοκυττάρων) υποδοχέων.

**Γονιδιακές και μη γονιδιακές επιδράσεις στεροειδών ορμονών. Ένα σύνθετο μοντέλο δράσης.**

Παρότι οι γονιδιακές και οι μη γονιδιακές επιδράσεις των οιστρογόνων εμπλέκουν διαφορετικούς κυτταρικούς και μοριακούς μηχανισμούς, είναι πιθανό να αλληλεπιδρούν. Η ύπαρξη και των δύο μηχανισμών των οιστρογόνων στο ίδιο κύτταρο πιθανά σχετίζεται με απλές προσθετικές επιδράσεις ή πιο σύνθετες συνεργικές αλληλεπιδράσεις, μεγεθύνοντας την συνολική δύναμη και επίδραση της στεροειδικής ρύθμισης (120). Είναι σημαντικό να λαμβάνουμε υπόψη τις διασταυρούμενες αντιδράσεις μεταξύ των μεμβρανικών και των

ενδοκυττάρων υποδοχέων και προς τις δύο κατευθύνσεις, με τις μεμβρανικές λειτουργίες να επηρεάζουν τις λειτουργίες του γονιδιώματος και τους γονιδιακούς μηχανισμούς να ρυθμίζουν τις ιδιότητες της μεμβράνης.

Η μη γονιδιακή δράση των στεροειδών εμπλέκει πιθανούς μεμβρανικούς υποδοχείς, με αποτέλεσμα γρήγορες επιδράσεις στο σύστημα των δευτερευόντων διαβιβαστών και στη διακίνηση ηλεκτρολυτών. Αυτές οι γρήγορες επιδράσεις προηγούνται των δράσεων των στεροειδών μέσω του κλασικού γονιδιακού μηχανισμού. Οι αλλαγές στο σύστημα των δευτερευόντων διαβιβαστών και της ενδοκυττάριας ιοντικής σύστασης στη συνέχεια μπορούν να επηρεάσουν τη γονιδιακή στεροειδική δράση (128). Οι στεροειδείς ορμόνες φαίνεται να μπορούν να δράσουν ταυτόχρονα και με τους δύο μηχανισμούς και αυτοί οι μηχανισμοί μπορούν να συνεργάζονται σε πληθώρα στεροειδικών επιδράσεων.

Μη γονιδιακές στεροειδικές δράσεις μπορεί να συμπληρώνουν γονιδιακές επιδράσεις, προκαλώντας πολύ πιο γρήγορα αλλαγές στην ενεργοποίηση ή αναστολή πρωτεϊνών / υποδοχέων / διαύλων. Οι αλλαγές αυτές μπορεί να συνηγορούν με τις μεταγενέστερες γονιδιακές επιδράσεις στις ίδιες πρωτεΐνες / υποδοχείς, ή μπορεί να συμπληρώνουν τις λειτουργικές επιδράσεις των μεταγενέστερων γονιδιακών δράσεων, επιδρώντας σε τελείως διαφορετικές πρωτεΐνες / υποδοχείς / διαύλους.

# **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

# ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

## ΜΕΡΟΣ Α

### Συλλογή και Προετοιμασία Ιστού

Για τη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν ακέραια τμήματα τοιχωματικού και πνευμονικού υπεζωκότα από 30 ενήλικα πρόβατα (θηλυκά και αρσενικά). Η συλλογή των δειγμάτων έγινε στο σφαγείο. Ο ιστός αμέσως μετά τη λήψη τοποθετήθηκε σε οξυγονωμένο διάλυμα Krebs, στους 4° C και μεταφέρθηκε στο εργαστήριο το αργότερο σε 30 λεπτά από το θάνατο του ζώου. Μέρμινα λήφθηκε ώστε η επιφάνεια της μεμβράνης να αγγιχτεί όσο το δυνατό λιγότερο. Τα τμήματα του υπεζωκότα αμέσως μετά την αφαίρεση του υποκείμενου ιστού διατηρήθηκαν σε διάλυμα Krebs, του οποίου η σύνθεση (σε mM) ήταν 117,5 NaCl, 1,15 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 24,99 NaHCO<sub>3</sub>, 5,65 KCL, 1,18 MgSO<sub>4</sub>, 2,52 CaCl<sub>2</sub> και 5,55 γλυκόζη. Στο διάλυμα διοχετεύονταν συνεχώς αέριο σύνθεσης: 95% O<sub>2</sub> και 5% CO<sub>2</sub>. Ο υπεζωκότας μαζί με μικρά τεμάχια του υποκείμενου ιστού μπορούσε να διατηρηθεί σε διάλυμα Krebs στους 4° C έτσι ώστε από ένα μόνο ζώο να γίνουν πολλά πειράματα.

Τμήματα πνευμονικού υπεζωκότα αποκολλήθηκαν προσεκτικά από τον υποκείμενο ιστό και εξετάστηκαν οπτικά για την ύπαρξη τρυπών ή εναπομείναντος προσκολλημένου πνευμονικού ιστού. Η λήψη των τμημάτων έγινε από τους άνω, μέσους και κάτω λοβούς του αριστερού και δεξιού πνεύμονος. Ο τοιχωματικός υπεζωκότας προέρχονταν κυρίως από τη

διαφραγματική περιοχή και εξετάζονταν με το ίδιο τρόπο. Για να μελετήσουμε την επίδραση της αποκόλλησης του υπεζωκότα από τους πνεύμονες, το διάφραγμα και τις πλευρές χρησιμοποιήσαμε και μεσοπνευμόνιο υπεζωκότα. Στο μεσοπνευμόνιο υπεζωκότα δεν υπάρχει υποκείμενος ιστός και δεν απαιτείται αποκόλληση. Τα αποτελέσματα ήταν ίδια και στις δύο περιπτώσεις.

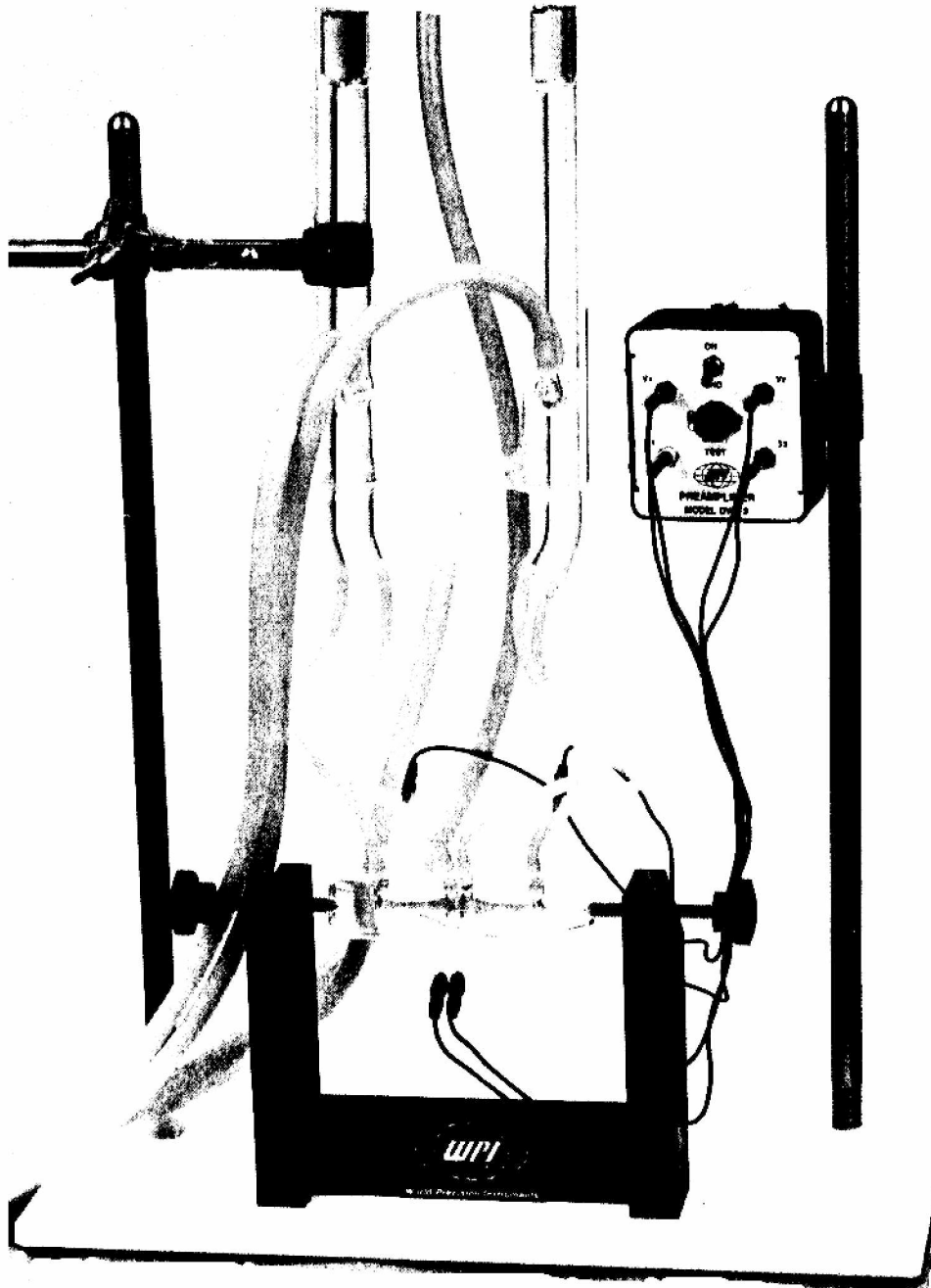
### **Πειραματική Διαδικασία**

Ο υπεζωκότας τοποθετήθηκε ως επίπεδο στρώμα σε μία αντλία τύπου Ussing μεταξύ δύο δεξαμενών με υγρό (εικόνα 5), και βρίσκονταν μεταξύ δύο δακτυλιδιών (O) από σιλικόνη (SYLGAR D Silicone-elastomer kit). Αυτή η μέθοδος βρέθηκε να ελαχιστοποιεί τη βλάβη που προκαλείται στον ιστό από την πίεση στην αντλία (102). Κάθε δεξαμενή είχε σχήμα κωνικό με ολικό όγκο περίπου 20 ml. Η επιφάνεια του εκτεθειμένου ιστού ήταν 1,43 cm<sup>2</sup>. Εξαιτίας της επίδρασης της θερμοκρασίας στην ενεργητική μεταφορά των ιόντων όλες οι μετρήσεις της διαφοράς δυναμικού έγιναν στους 37° C.

Η διαφορά δυναμικού κατά πλάτος του πνευμονικού και τοιχωματικού υπεζωκότα μετρήθηκε με ηλεκτρόδια Ag/AgCl (3M KCL, 3% άγαρ) τοποθετημένα σε απόσταση 3 χιλιοστά από τη μία και την άλλη πλευρά της μεμβράνης και η συνολική τους απόδοση ενισχύθηκε (model PVC-3 with input impedance 10<sup>12</sup>Ω, World Precision Instruments). Για να καθοριστεί η ανταπόκριση του δυναμικού σε εξωγενή χορήγηση ρεύματος,



συνεχές ρεύμα χορηγήθηκε από μια συσκευή voltage-clamp (model DVC-100, Word Precision Instruments) διαμέσου ηλεκτροδίων τοποθετημένων σε απόσταση 30 χιλιοστά από τη μια και την άλλη πλευρά της μεμβράνης.



Εικόνα 5. Αντλία τύπου Ussing που χρησιμοποιήθηκε στην πειραματική διαδικασία.

Τμήματα πνευμονικού και τοιχωματικού υπεζωκότα τοποθετήθηκαν στην αντλία με διάλυμα Krebs και από τις δύο πλευρές και οξυγονώνονταν συνεχώς με 95% O<sub>2</sub> και 5% CO<sub>2</sub>. Η διαφορά δυναμικού κατά πλάτος του πνευμονικού (6 πειράματα) και του τοιχωματικού (6 πειράματα) υπεζωκότα, μετρήθηκε κάθε 30 λεπτά για 5 ώρες χωρίς χορήγηση ρεύματος. Στη συνέχεια χορηγήθηκε ρεύμα με μεταβλητή ένταση (0-300μΑ και -300-0μΑ) και μετρήθηκε η μεταβολή του δυναμικού τόσο στον πνευμονικό (10 πειράματα) όσο και στον τοιχωματικό (9 πειράματα) υπεζωκότα. Η αντίσταση του ιστού (R<sub>TE</sub>) υπολογίστηκε βάση του νόμου του Ohm ( $R=V/I$ , R= αντίσταση, V= δυναμικό, I= ρεύμα), από τις αποκλίσεις του δυναμικού σε απάντηση στο χορηγούμενο ρεύμα. Οι αλλαγές της διαπερατότητας καθορίστηκαν σύμφωνα με τις αλλαγές της αντίστασης.

Η πλευρά του υπεζωκότα που φυσιολογικά αντικρίζει την υπεζωκοτική κοιλότητα ονομάζεται έσω, ενώ η πλευρά που βρίσκεται προς το διάμεσο ιστό έξω.

Αρχικά οι μετρήσεις της διαφοράς δυναμικού γίνονταν σε υπεζωκότα τοιχωματικό ή πνευμονικό που και από τις δύο πλευρές έρχονταν σε επαφή με διάλυμα Krebs. Τριάντα λεπτά περίπου μετά την τοποθέτηση της μεμβράνης γίνονταν μέτρηση της διαφοράς δυναμικού και της μεταβολής της διαφοράς δυναμικού σε χορήγηση ρεύματος (0-300μΑ). Σε μια σειρά πειραμάτων ένας δότης του οξειδίου του αζώτου (NO), το νιτροπρωσσικό

νάτριο σε συγκέντρωση  $10^{-5}\text{M}$  και νιτροπρωσσικό νάτριο ( $10^{-5}\text{M}$ ) μαζί με  $\text{N}^{\omega}$ -νίτρο-L-αργινίνη-μέθυλο-εστέρα (L-NAME), ένα αναστολέα της συνθάσης του NO, προστέθηκε στην πλευρά προς την υπεζωκοτική κοιλότητα τοιχωματικού (6 πειράματα) και πνευμονικού (6 πειράματα) υπεζωκότα όπως επίσης και στην πλευρά προς τον ενδιάμεσο ιστό τοιχωματικού (6 πειράματα) και πνευμονικού (6 πειράματα) υπεζωκότα και οι μετρήσεις επαναλήφθηκαν μετά από δέκα λεπτά. Η ίδια πειραματική διαδικασία έγινε με αναστολέα της αντλίας  $\text{Na}^+-\text{K}^+$ , την ουαμπαΐνη ( $10^{-3}\text{M}$ ) και την αμιλορίδη ( $10^{-5}\text{M}$ ) που αναστέλλει τους διαύλους  $\text{Na}^+$  την ανταλλαγή  $\text{Na}^+-\text{H}^+$  και  $\text{Na}^+-\text{Ca}^{2+}$ . Η διαφορά δυναμικού και η απάντηση του δυναμικού στην χορήγηση ρεύματος μετρήθηκε μετά από δέκα λεπτά. Αυτές οι συγκεντρώσεις επιλέχθηκαν με βάση τις υψηλότερες ανασταλτικές επιδράσεις των ουσιών. Δεν παρατηρήθηκαν ανασταλτικές επιδράσεις σε συγκεντρώσεις μικρότερες από  $10^{-8}\text{M}$  για όλες τις ουσίες.

Οι συγκρίσεις γίνονταν με μετρήσεις σε υπεζωκότα που και από τις δύο πλευρές είχε Krebs μόνο. Σαν ιστός αναφοράς (control) χρησιμοποιούνταν κάθε φορά ιστός από το ίδιο ζώο, ώστε να αποφύγουμε τυχόν διαφορές που οφείλονται σε διαφορετικά ζώα. Εξαιτίας των ανατομικών διαφορών μεταξύ των δύο πετάλων του υπεζωκότα οι μετρήσεις του τοιχωματικού υπεζωκότα συγκρίνονταν με αυτές του πνευμονικού.

Όλα τα διαλύματα παρασκευάζονταν πριν από κάθε πείραμα, θερμαίνονταν στους 37° C και οξυγονώνονταν συνεχώς. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτη αποτελούν το μέσο όρο από 6 διαφορετικά πειράματα.

Η στατιστική ανάλυση έγινε στο πρόγραμμα SPSS for Windows. Όλα τα αποτελέσματα εκφράζονται σαν μέσοι όροι  $\pm$  σταθερή απόκλιση (SD) και η στατιστική σημαντικότητα καθορίστηκε με paired t-test. Θεωρήσαμε την ύπαρξη στατιστικά σημαντικής διαφοράς όταν το p ήταν μικρότερο από 0,05.

## **ΜΕΡΟΣ Β**

### **Συλλογή και Προετοιμασία Ιστού**

Ακέραια τμήματα τοιχωματικού και πνευμονικού υπεζωκότα συλλέχθηκαν από 50 ενήλικα πρόβατα. Για να αποφυγή διαφορών στην ανταπόκριση στα οιστρογόνα και στην προγεστερόνη που οφείλονται στο γένος, χρησιμοποιήθηκαν θηλυκά πρόβατα.

Η λήψη των δειγμάτων, η προετοιμασία, η τοποθέτηση στην αντλία και ο καθορισμός της αντίστασης της μεμβράνης έγιναν με τον ίδιο τρόπο (ΜΕΡΟΣ Α).

### **Πειραματική Διαδικασία**

Πριν την αρχή κάθε πειράματος ο ιστός αφέθηκε να ισορροπήσει για τουλάχιστον μισή με μία ώρα, έχοντας Krebs και από τις δύο πλευρές και κάτω υπό συνεχή παροχή 95% O<sub>2</sub> και 5% CO<sub>2</sub>. Στην πρώτη σειρά

πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν 17β οιστραδιόλη ( $10^{-6}$ M, 6 πειράματα) και προγεστερόνη ( $10^{-6}$ M, 6 πειράματα) προστιθέμενες και από τις δύο πλευρές ταυτόχρονα τόσο του τοιχωματικού (6 πειράματα) όσο και του πνευμονικού (6 πειράματα) υπεζωκότα. Οι επιδράσεις της 17β οιστραδιόλης και της προγεστερόνης παρατηρήθηκαν όταν οι ορμόνες ήταν παρούσες και από τις δύο πλευρές του υπεζωκότα. Από τη στιγμή που οι ορμόνες αυτές είναι λιποδιαλυτές και διαπερνούν πολύ γρήγορα τις μεμβράνες η παρουσία τους και στις δύο πλευρές του υπεζωκότα είναι αναμενόμενη. Η καμπύλη δόσης απάντησης για τη 17β οιστραδιόλη έγινε για συγκεντρώσεις από  $10^{-9}$ M μέχρι  $10^{-5}$ M και στα δύο πέταλα του υπεζωκότα. Παράλληλα μελετήθηκε και η καμπύλη δόσης απάντησης για την προγεστερόνη. Η διαφορά δυναμικού, η ανταπόκριση του δυναμικού στο χορηγούμενο ρεύμα και ο υπολογισμός της  $R_{TE}$  έγιναν στο πρώτο λεπτό, μετά από 5, 10, 15, 30, 60 λεπτά και στη συνέχεια κάθε ώρα για τις επόμενες 6 ώρες. Στα επόμενα πειράματα, ένας ανταγωνιστής των υποδοχέων της 17β οιστραδιόλης, η ταμοξιφαίνη ( $10^{-6}$  M, 6 πειράματα) και ταμοξιφαίνη ( $10^{-5}$ M) μαζί με 17β οιστραδιόλη ( $10^{-6}$ M, 6 πειράματα) προστέθηκαν στο Krebs και οι μετρήσεις επαναλήφθηκαν στον τοιχωματικό (6 πειράματα) και στον πνευμονικό (6 πειράματα) υπεζωκότα. Επιπλέον τμήματα του τοιχωματικού και του πνευμονικού εκτέθηκαν σε διάφορες συγκεντρώσεις ταμοξιφαίνης ( $10^{-9}$ - $10^{-5}$  M). Μια σειρά πειραμάτων έγινε για να διερευνηθεί η πιθανή

συμμετοχή της 17β-οιστραδιόλης και της προγεστερόνης στην παραγωγή NO. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε L-NAME ( $10^{-5}$ M, 6 πειράματα), ένας αναστολέας της συνθάσης του NO και L-NAME ( $10^{-5}$ M) μαζί με 17β οιστραδιόλη ( $10^{-6}$  M, 6 πειράματα) ή προγεστερόνη ( $10^{-6}$ M, 6 πειράματα) τόσο σε τοιχωματικό (6 πειράματα) όσο και σε πνευμονικό (6 πειράματα) υπεζωκότα. Οι μετρήσεις έγιναν κάθε 5 λεπτά για διάστημα 30 λεπτών.

Όταν χρησιμοποιήθηκε ανταγωνιστής των οιστρογόνων ή της συνθάσης του NO, αυτός προστίθονταν 2 λεπτά πριν την 17β-οιστραδιόλη ή την προγεστερόνη.

Κάθε πείραμα επαναλήφθηκε έξι φορές, η στατιστική επεξεργασία έγινε με τον ίδιο τρόπο όπως στο πρώτο μέρος και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σαν μέσοι όροι  $\pm$  σταθερή απόκλιση.

Η αναζήτηση υποδοχέων οιστρογόνων και προγεστερόνης έγινε με τη μέθοδο κορεσμού με ραδιενεργά ανάλογα (Ligand Binding Assay) (92). Οι στεροειδείς υποδοχείς βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα και κατά τη διάσπαση του κυττάρου ανευρίσκονται στο κυτταροπλασματικό κλάσμα. Είναι πολύ ευαίσθητοι στη δράση πρωτεολυτικών ενζύμων και απαιτείται ειδική λήψη και άμεση κατάψυξη. Η αρχή της μεθόδου στηρίζεται στη συναγωνιστική δέσμευση-κορεσμό με ραδιενεργά ανάλογα. Μετά από επώαση του κυτταροπλάσματος με ραδιενεργό στεροειδές (σημασμένη

ορμόνη), απουσία ή παρουσία περίσσειας μη σημασμένης ορμόνης (για τον προσδιορισμό της μη ειδικής δέσμευσης, non specific binding), η μη συνδεδεμένη ορμόνη προσρροφάται και απομακρύνεται με τη βοήθεια διαλύματος ενεργού άνθρακα και δεξτράνης. Στη συνέχεια μετράται η συνδεδεμένη με τους υποδοχείς ραδιενέργεια.

Τεμάχια τοιχωματικού και πνευμονικού υπεζωκότα αμέσως μετά τη λήψη τους τοποθετήθηκαν σε υγρό άζωτο. Στη συνέχεια κονιορτοποιήθηκαν σε μηχανικό ανακινητή (Dismembrator, Retsch Co, Model MM2) σε θερμοκρασία κάτω του μηδενός. Στα κυτταρικά θραύσματα, τα οποία έχουν τη μορφή πούδρας προστέθηκε ανάλογη ποσότητα ρυθμιστικού διαλύματος (10 mmol/L Tris-Cl, pH 7.4, με σύσταση 1,5 mmol/L EDTA, 0,5 mmol/L dithiothreitol, 10 mmol/L sodium molybdate και 100 mmol/L glycerol) και φυγοκεντρήθηκαν στις 100000 g για 50 λεπτά. Με τη φυγοκέντρωση επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός του κυτταροπλάσματος από τα υπόλοιπα κυτταρικά τμήματα.

Η ανάλυση έγινε σε πλάκες ELISA, στους 4° C. Η όλη διαδικασία διαρκούσε 2 ημέρες. Για να μέτρηση της ολικής σύνδεσης, δείγμα τοιχωματικού και πνευμονικού υπεζωκότα επωάζονταν με σημασμένη ορμόνη, [2,4,6,7-<sup>3</sup>H]17β οιστραδιόλης ή [6,7-<sup>3</sup>H]Org 2058 για το προσδιορισμό υποδοχέων οιστρογόνων και προγεστερόνης αντίστοιχα. Η μη ειδική σύνδεση προσδιορίστηκε παρουσία 10mmol/L DES

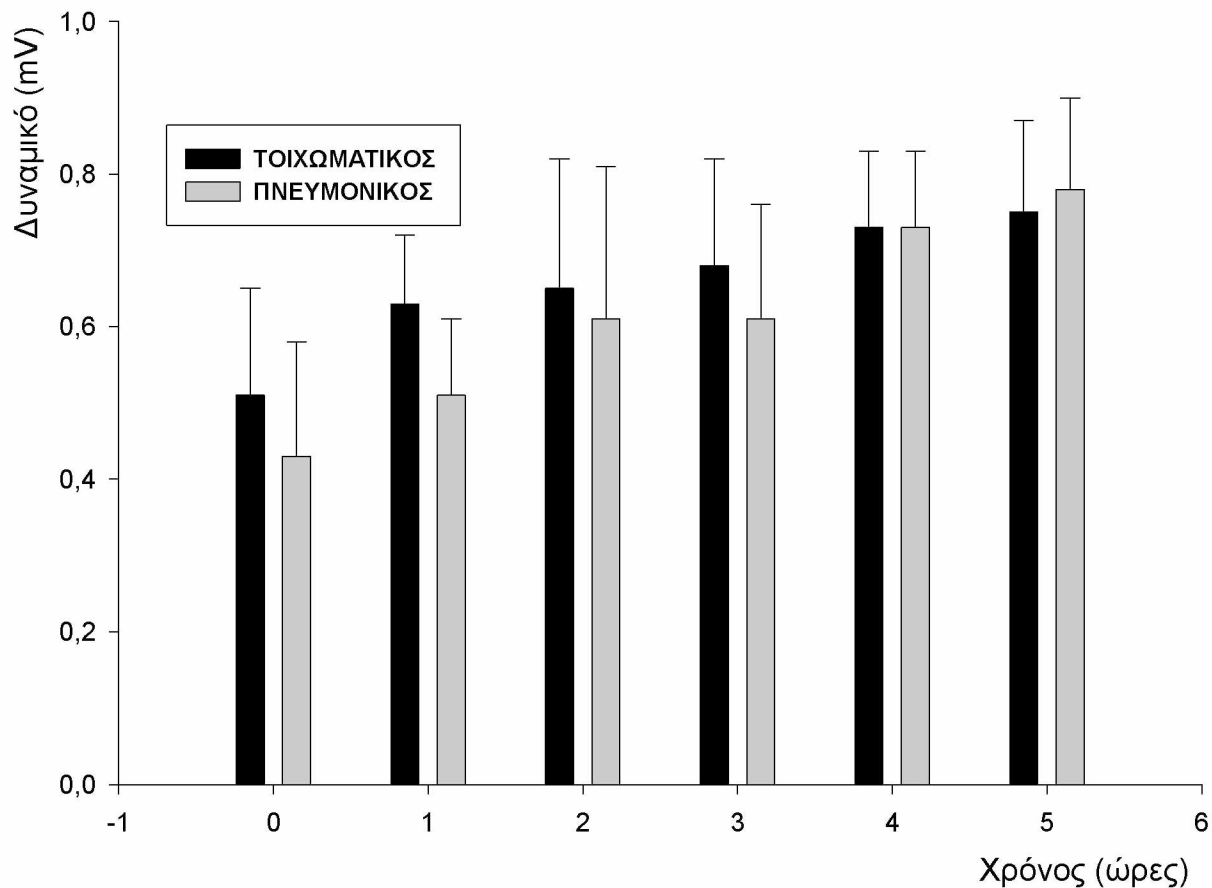
(διεθυλστιλβεστρόλη, μη ραδιενεργό ανάλογο των οιστρογόνων για τον προσδιορισμό της μη ειδικής σύνδεσης) για τους υποδοχείς οιστρογόνων και 10 mmol/L Org 2058 (μη ραδιενεργό ανάλογο για τον προσδιορισμό των υποδοχέων προγεστερόνης) για τους υποδοχείς προγεστερόνης αντίστοιχα. Η πλάκα επωάστηκε για 18 έως 20 ώρες στους 4° C. Ανά φρεάτιο πλάκας προστέθηκε διάλυμα ενεργού άνθρακα και δεξτράνης για να απομακρυνθεί η μη συνδεδεμένη ορμόνη. Στη συνέχεια έγινε ανακίνηση της πλάκας για 10 λεπτά στους 4° C και φυγοκέντρωση 20 λεπτά, 2000 x g στους 4° C. 80 μl από το υπερκείμενο αναμείχθηκαν με 3 ml υγρό σπινθηρισμού και η μέτρηση της ραδιενέργειας έγινε σε β-counter (Tricards 4000: Packard Instruments, Meriden, CT) με 80% απόδοση στο τρίτιο.



## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### ΜΕΡΟΣ Α: Ανάπτυξη διαφοράς δυναμικού και επιδράσεις αμιλορίδης, ουαμπαίνης και νιτροπρωσσικού νατρίου στην $R_{TE}$ του υπεζωκότα.

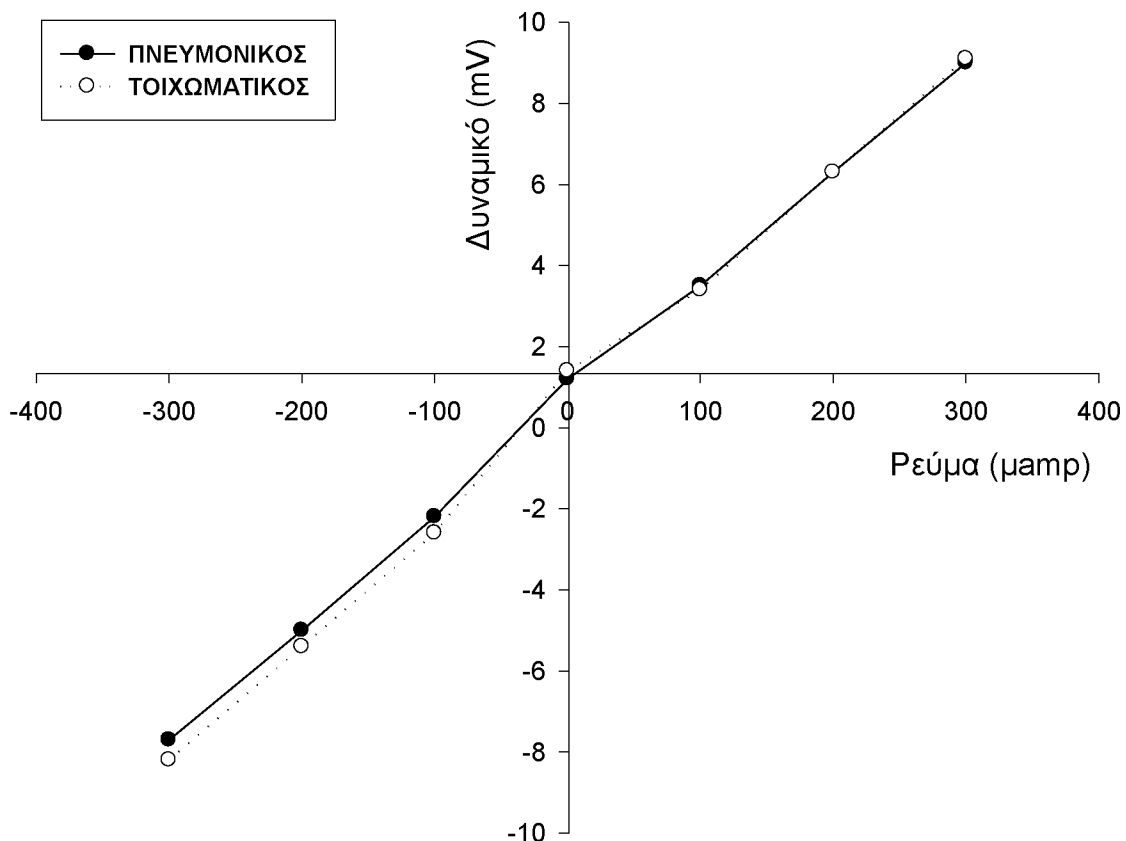
Η διαφορά δυναμικού που αναπτύχθηκε στον τοιχωματικό υπεζωκότα ήταν  $0,5 \pm 0,1$  mV ενώ στον πνευμονικό υπεζωκότα ήταν  $0,4 \pm 0,1$  mV. Και οι δύο τιμές δεν διέφεραν σημαντικά από το μηδέν. Μετρήσεις της διαφοράς



Διάγραμμα 1. Η διαφορά δυναμικού σε συνάρτηση με το χρόνο (0-5 ώρες) και στα δύο πέταλα του υπεζωκότα. Και οι δύο πλευρές του υπεζωκότα ήταν εκτεθειμένες σε διάλυμα Krebs υπό συνεχή παροχή 95%  $O_2$  και 5%  $CO_2$ .

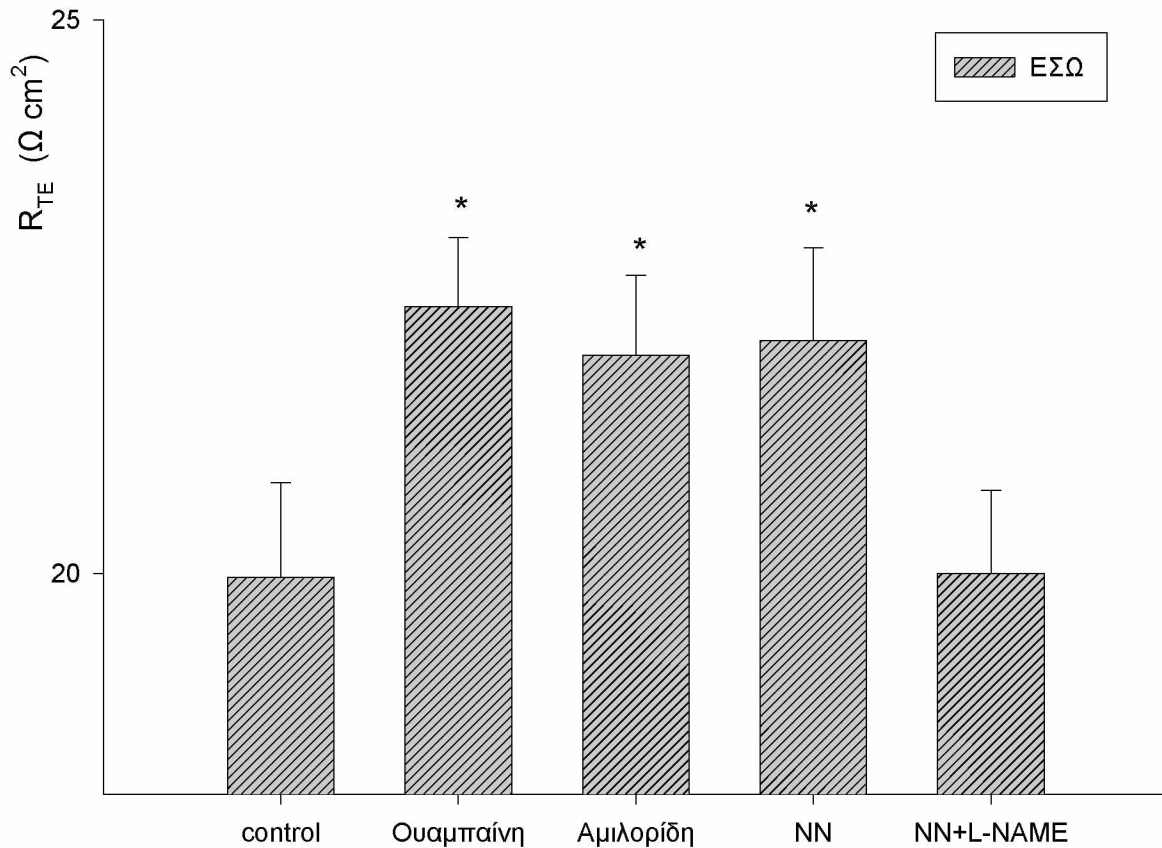
δυναμικού κάθε 30 λεπτά για πέντε ώρες δεν έδειξαν ανάπτυξη διαφοράς δυναμικού (διάγραμμα 1).

Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 2, η σχέση δυναμικού-ρεύματος και για τα δύο πέταλα του υπεζωκότα ήταν γραμμική υποδηλώνοντας συμπεριφορά ωμικής αντίστασης. Η αντίσταση της μεμβράνης και στα δύο πέταλα του υπεζωκότα ήταν πολύ μικρή:  $22,02 \pm 4,1 \Omega \cdot \text{cm}^2$  για τον πνευμονικό υπεζωκότα και  $22,02 \pm 3,5 \Omega \cdot \text{cm}^2$  για τον τοιχωματικό υπεζωκότα.



Διάγραμμα 2. Σχέση ρεύματος (i)-δυναμικού (V) στον τοιχωματικό και στον πνευμονικό υπεζωκότα. Η αντίσταση για αυτά τα δείγματα ήταν  $22,02 \Omega \cdot \text{cm}^2$ .

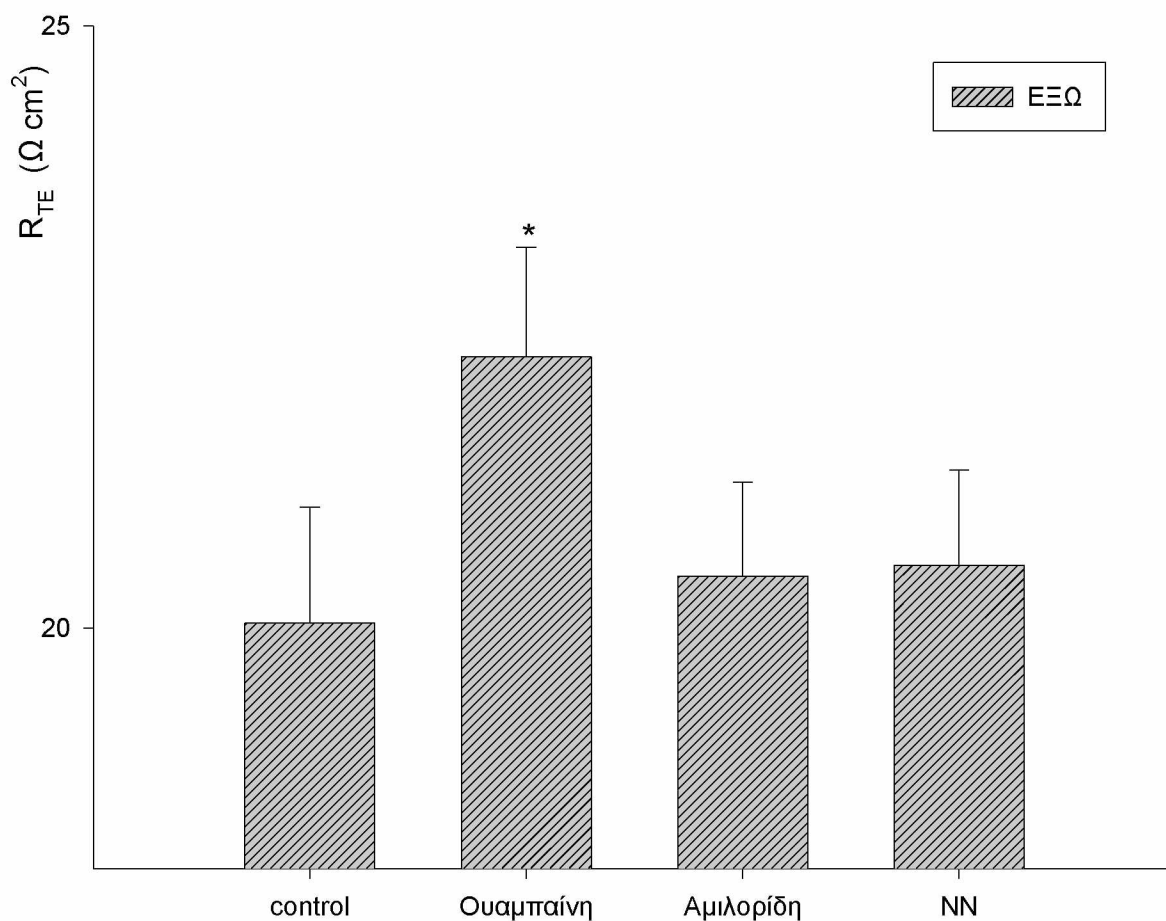
Οι επιδράσεις της ουαμπαίνης, της αμιλορίδης και του νιτροπρωσσικού νατρίου στην πλευρά προς την υπεζωκοτική κοιλότητα του τοιχωματικού υπεζωκότα φαίνονται στο διάγραμμα 3. Στην έσω πλευρά της μεμβράνης αύξηση της αντίστασης ( $R_{TE}$ ) παρατηρήθηκε με την προσθήκη  $10^{-3}M$  ουαμπαίνης και  $10^{-5}M$  αμιλορίδης. Τα αποτελέσματα αυτά ήταν αντιστρεπτά όταν το διάλυμα Krebs μαζί με τις ουσίες αντικαθίσταταν με



Διάγραμμα 3. Επιδράσεις ουαμπαίνης ( $10^{-3}M$ ), αμιλορίδης ( $10^{-5}M$ ), νιτροπρωσσικού νατρίου ( $10^{-5}M$ ) και συνδυασμού νιτροπρωσσικού νατρίου (NN) με L-NAME στην αντίσταση ( $R_{TE}$ ) όταν προστίθονταν στην πλευρά προς την υπεζωκοτική κοιλότητα του τοιχωματικού υπεζωκότα. \* $P \leq 0,05$  σε σχέση με τον ιστό αναφοράς.

διάλυμα Krebs μόνο. Προσθήκη  $10^{-5}\text{M}$  νιτροπρωσσικού νατρίου στην πλευρά προς την υπεζωκοτική κοιλότητα αύξησε επίσης την  $R_{\text{TE}}$ , ενώ όταν προστέθηκε νιτροπρωσσικό νάτριο μαζί με L-NAME ( $10^{-4}\text{M}$ ), ένα ειδικό αναστολέα της συνθάσης του NO δεν παρατηρήθηκε αύξηση της  $R_{\text{TE}}$ .

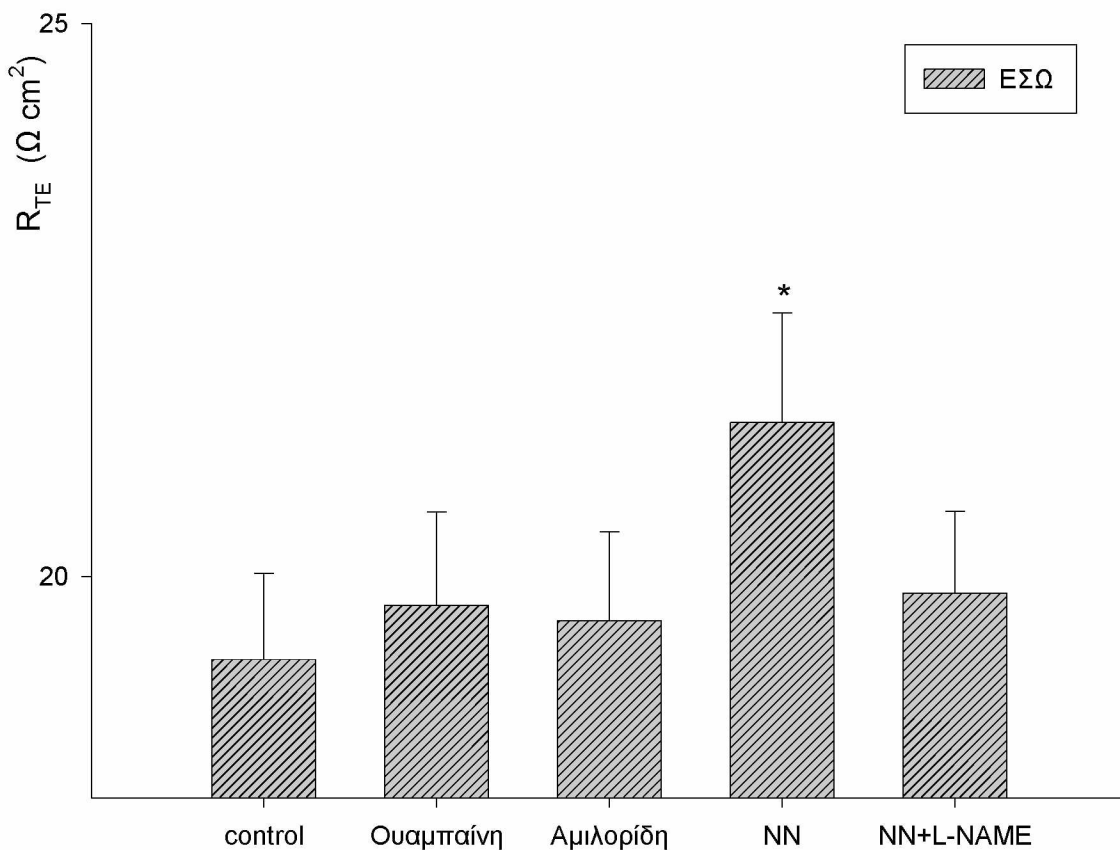
Στην πλευρά προς το διάμεσο ιστό του τοιχωματικού υπεζωκότα στατιστικά σημαντική αύξηση της  $R_{\text{TE}}$  υπήρξε μόνο όταν προστέθηκε



Διάγραμμα 4. Επιδράσεις ουαπαίνης ( $10^{-3}\text{M}$ ), αμιλορίδης ( $10^{-5}\text{M}$ ) και νιτροπρωσσικού νατρίου ( $10^{-5}\text{M}$ ) στην αντίσταση ( $R_{\text{TE}}$ ) όταν προστίθονταν στην πλευρά προς το διάμεσο ιστό του τοιχωματικού υπεζωκότα. \* $P \leq 0,05$  σε σχέση με τον ιστό αναφοράς.

ουαμπαίνη  $10^{-3}\text{M}$  (διάγραμμα 4). Η αύξηση επέστρεψε στα αρχικά επίπεδα πάλι, όταν το διάλυμα Krebs μαζί με την ουαμπαίνη αντικαστάθηκε με διάλυμα Krebs μόνο.

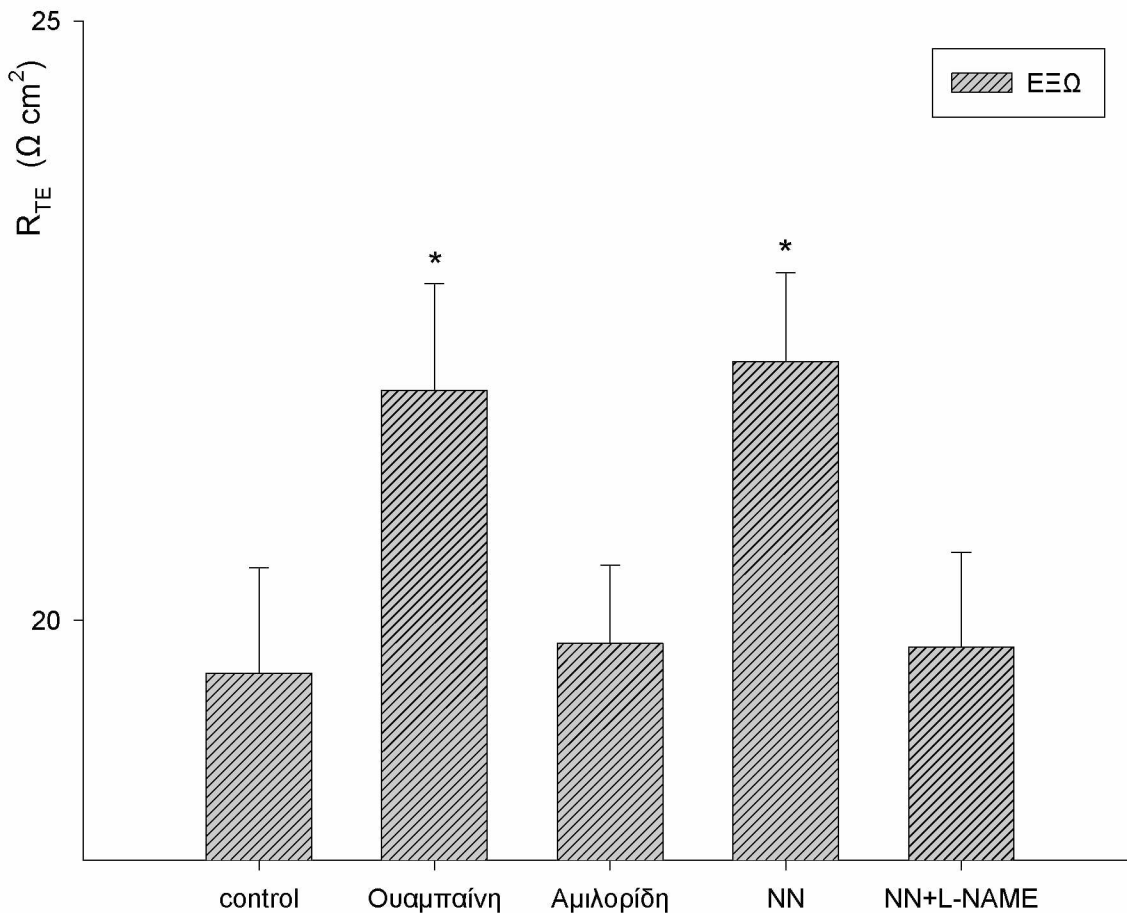
Στην πλευρά προς την υπεζωκοτική κοιλότητα του πνευμονικού υπεζωκότα στατιστικά σημαντική αύξηση της  $R_{\text{TE}}$  υπήρξε μόνο όταν νιτροπρωσσικό νάτριο  $10^{-5}\text{M}$  προστέθηκε σ' αυτή την πλευρά της μεμβράνης



Διάγραμμα 5. Επιδράσεις ουαμπαίνης ( $10^{-3}\text{M}$ ), αμιλορίδης ( $10^{-5}\text{M}$ ), νιτροπρωσσικού νατρίου ( $10^{-5}\text{M}$ ) και συνδυασμού νιτροπρωσσικού νατρίου με L-NAME στην αντίσταση ( $R_{\text{TE}}$ ) όταν προστίθονταν στην πλευρά προς την υπεζωκοτική κοιλότητα του πνευμονικού υπεζωκότα. \* $P \leq 0,05$  σε σχέση με τον ιστό αναφοράς.

(διάγραμμα 5). Προσθήκη νιτροπρωσσικού νατρίου μαζί με L-NAME δεν προκάλεσε καμία αλλαγή στην  $R_{TE}$ .

Προσθήκη  $10^{-3}$  M ουαμπαίνης στη έξω επιφάνεια του πνευμονικού υπεζωκότα οδήγησε σε αύξηση της  $R_{TE}$  (διάγραμμα 6). Η αύξηση επέστρεψε στα αρχικά επίπεδα όταν το διάλυμα Krebs μαζί με την

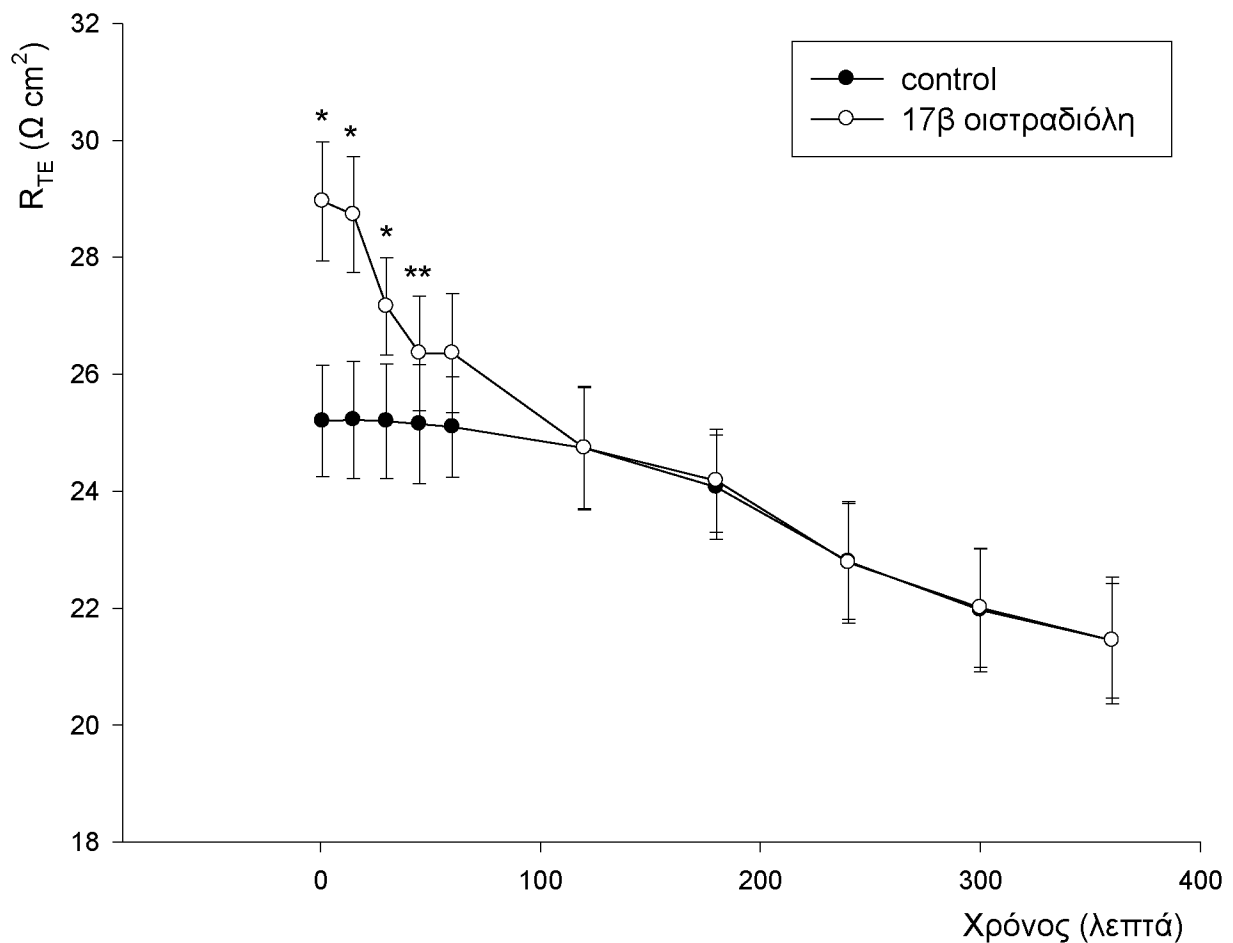


Διάγραμμα 6. Επιδράσεις ουαμπαίνης ( $10^{-3}$ M), αμιλορίδης ( $10^{-5}$ M), νιτροπρωσσικού νατρίου ( $10^{-5}$ M) και συνδυασμού νιτροπρωσσικού νατρίου (NN) με L-NAME στην αντίσταση ( $R_{TE}$ ) όταν προστίθονταν στην πλευρά προς το διάμεσο ιστό του πνευμονικού υπεζωκότα. \* $P \leq 0,05$  σε σχέση με τον ιστό αναφοράς.

ουαμπαίνη αντικαστάθηκε με διάλυμα Krebs μόνο. Αύξηση της αντίστασης παρατηρήθηκε επίσης όταν νιτροπρωσσικό νάτριο προστέθηκε στη πλευρά προς το διάμεσο ιστό του πνευμονικού υπεζωκότα, και επέστρεψε στα αρχικά επίπεδα όταν νιτροπρωσσικό νάτριο μαζί με L-NAME ( $10^{-4}\text{M}$ ) προστέθηκε στο διάλυμα της έξω επιφάνειας.

**ΜΕΡΟΣ Β: Επιδράσεις 17β οιστραδιόλης, προγεστερόνης και ταμοξιφαίνης στην  $R_{TE}$  του υπεζωκότα και υποδοχείς οιστρογόνων και προγεστερόνης στον υπεζωκότα.**

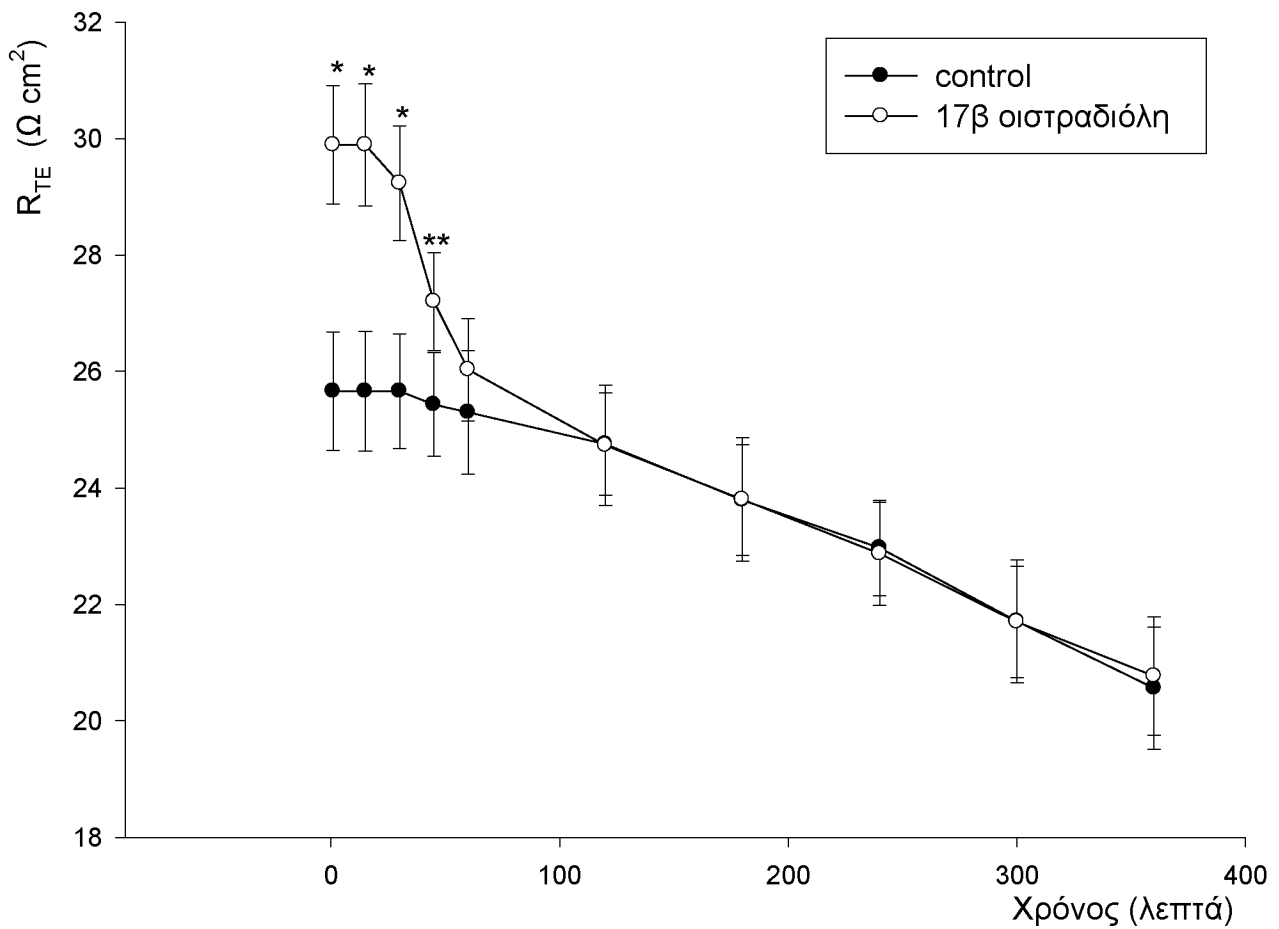
Έκθεση του τοιχωματικού υπεζωκότα σε 17β οιστραδιόλη ( $10^{-6}M$ ) (διάγραμμα 7) αλλά και του πνευμονικού (διάγραμμα 8) για διάστημα έξι



Διάγραμμα 7. Επιδράσεις 17β οιστραδιόλης ( $10^{-6}M$ ) στην  $R_{TE}$  του τοιχωματικού υπεζωκότα για διάστημα 6 ωρών. \* $P \leq 0,01$ , \*\* $P \leq 0,05$  σε σχέση με τον ιστό αναφοράς.

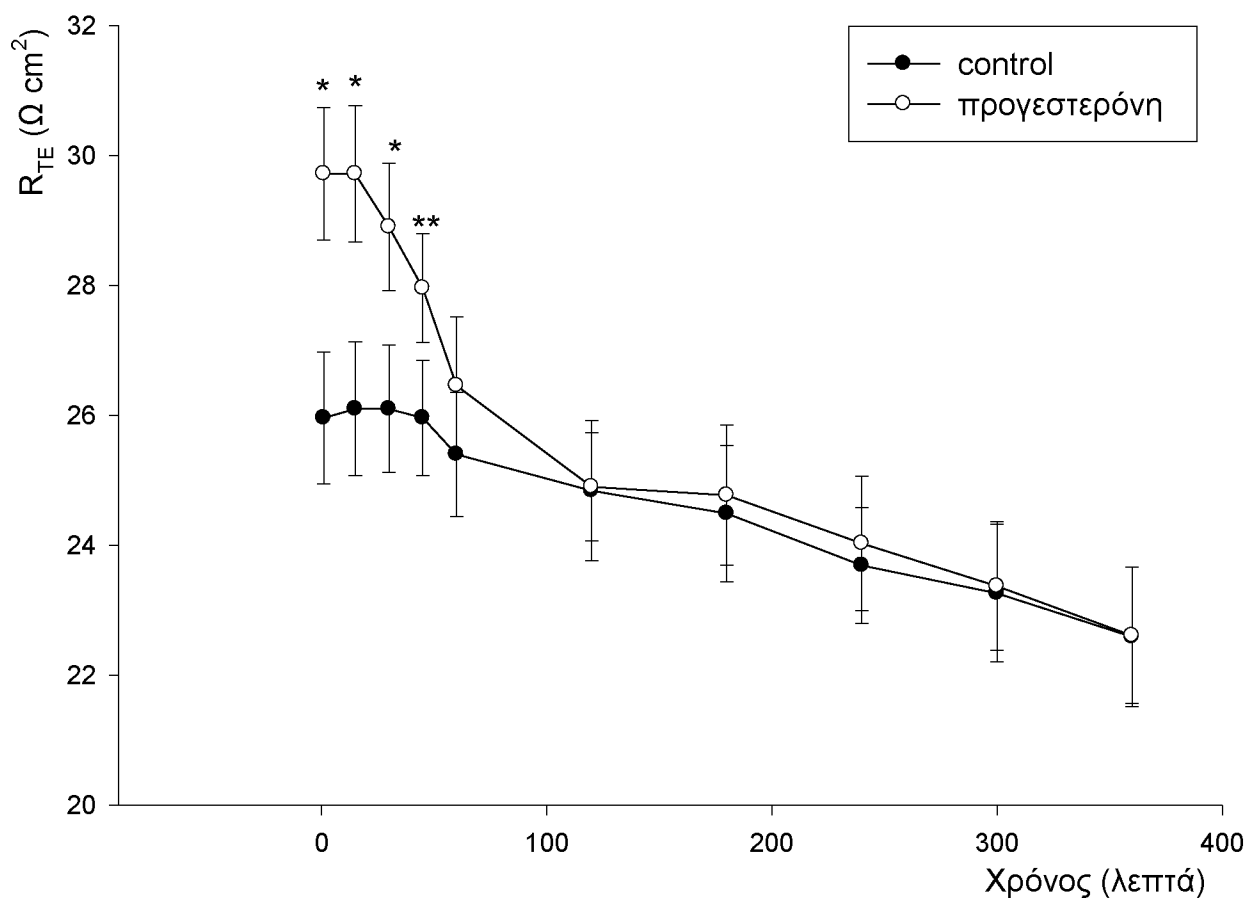


ωρών. Εκτός των αρχικών επιδράσεων (στα πρώτα λεπτά) στην  $R_{TE}$  δεν είχε άλλο αποτέλεσμα. Επιπλέον έκθεση της μεμβράνης δεν τροποποίησε την  $R_{TE}$ .

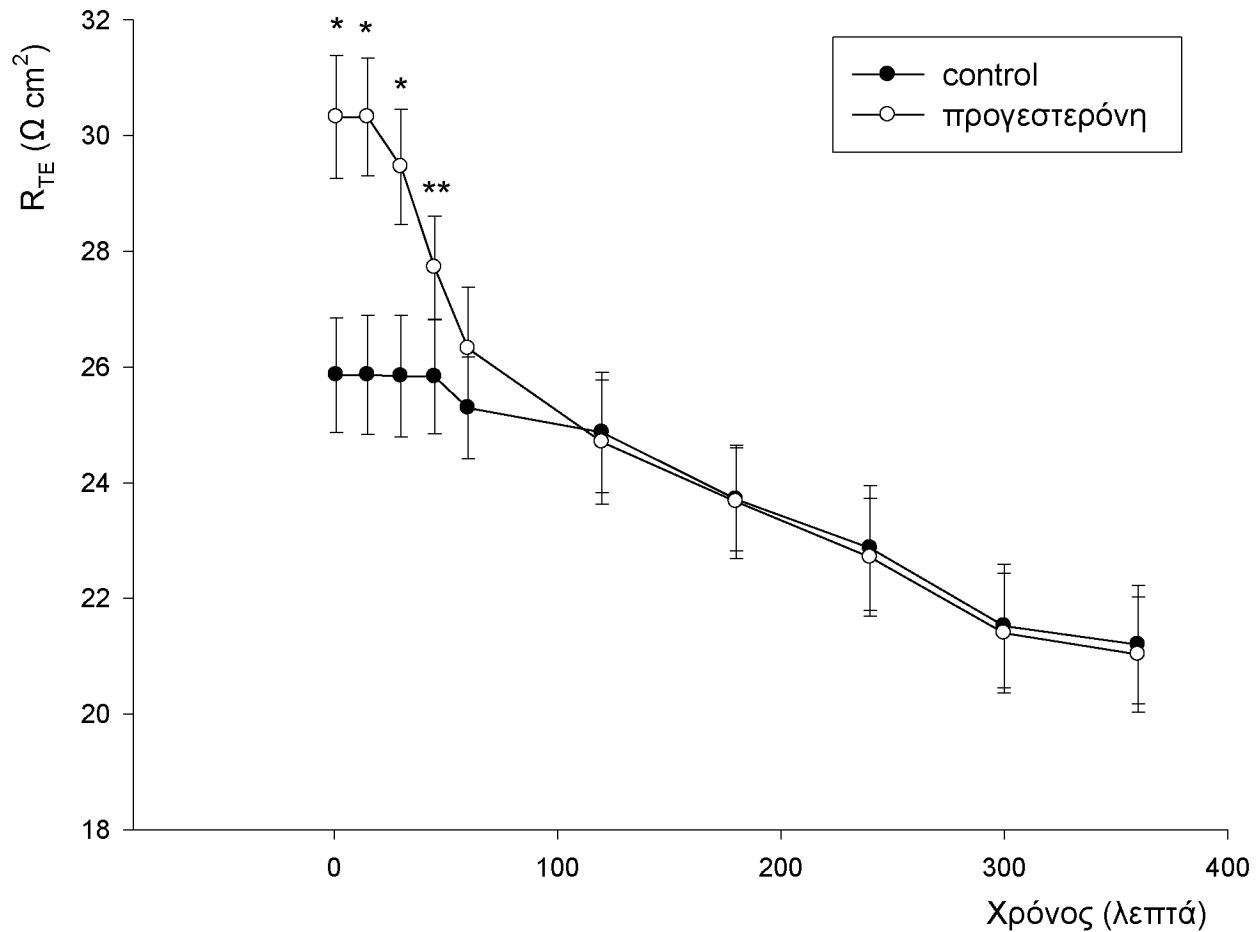


Διάγραμμα 8. Επιδράσεις 17β οιστραδιόλης ( $10^{-6}M$ ) στην  $R_{TE}$  του πνευμονικού υπεζωκότα για διάστημα 6 ωρών. \* $P \leq 0,01$ , \*\* $P \leq 0,05$  σε σχέση με τον ιστό αναφοράς.

Το ίδιο παρατηρήθηκε και μετά από έκθεση σε προγεστερόνη ( $10^{-6}M$ ) τόσο στο τοιχωματικό υπεζωκότα (διάγραμμα 9) όσο και στον πνευμονικό (διάγραμμα 10). Βάση αυτών των αρχικών αποτελεσμάτων, τα επόμενα πειράματα και η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγιναν για χρονική περίοδο μιας ώρας.

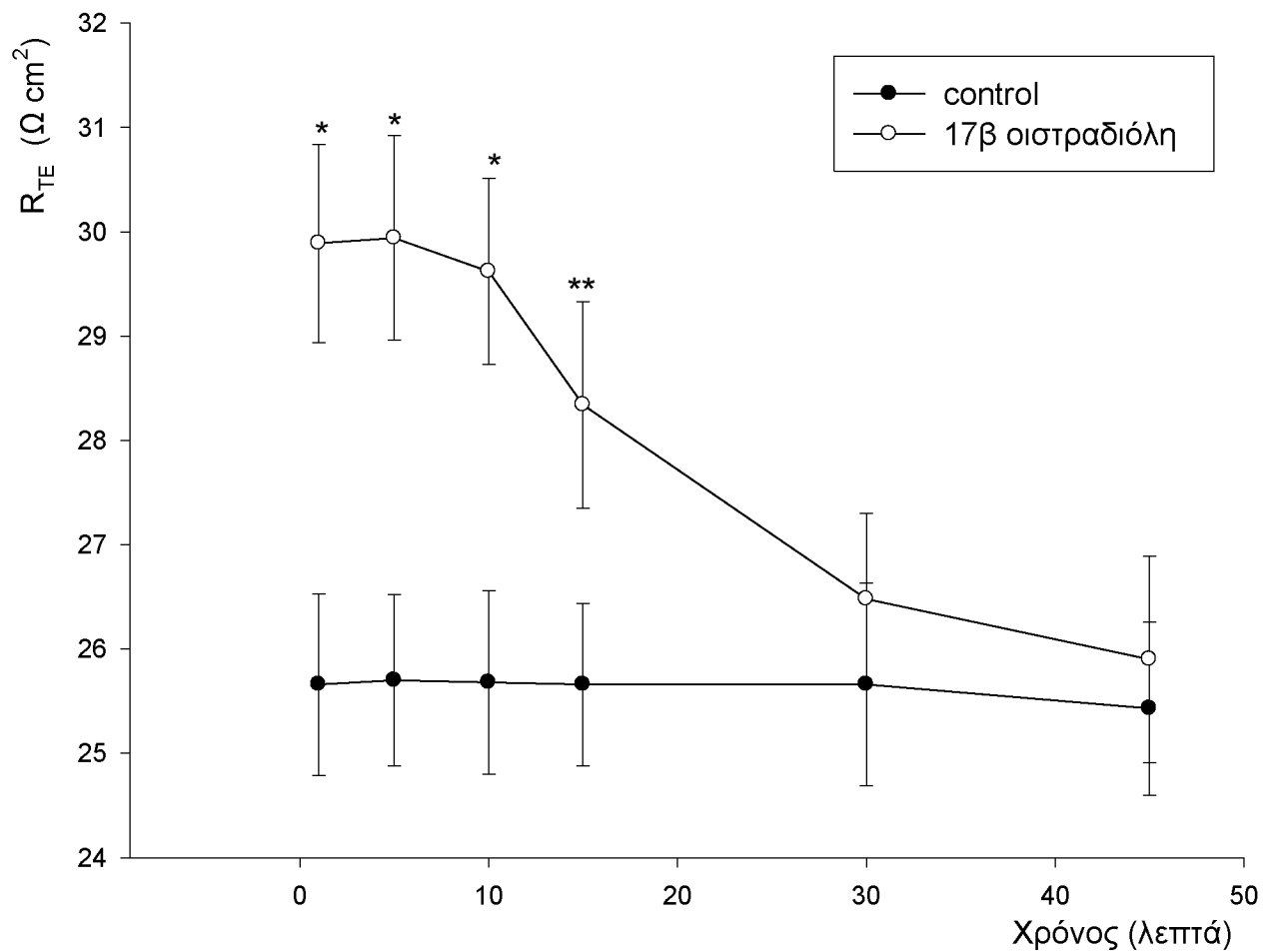


Διάγραμμα 9. Επιδράσεις προγεστερόνης ( $10^{-6}M$ ) στην  $R_{TE}$  του τοιχωματικού υπεζωκότα για διάστημα 6 ωρών. \* $P \leq 0,01$ , \*\* $P \leq 0,05$  σε σχέση με τον ιστό αναφοράς.

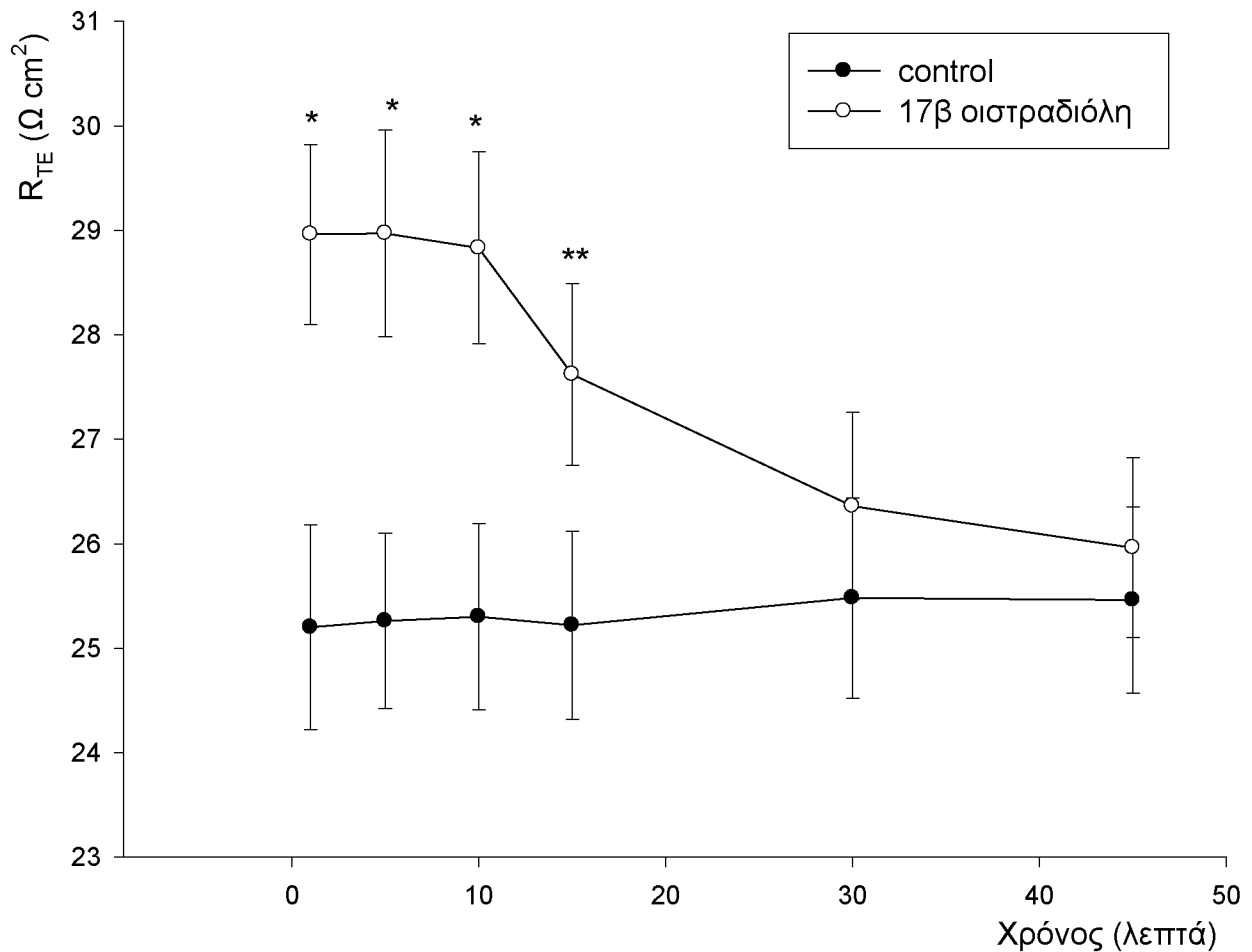


Διάγραμμα 10. Επιδράσεις προγεστερόνης ( $10^{-6}\text{M}$ ) στην  $R_{TE}$  του πνευμονικού υπεζωκότα για διάστημα 6 ωρών. \* $P \leq 0,01$ , \*\* $P \leq 0,05$  σε σχέση με τον ιστό αναφοράς.

Όπως φαίνεται στο διάγραμμα 11 προσθήκη  $10^{-6}\text{M}$  17β οιστραδιόλης προκάλεσε 16% αύξηση της  $R_{TE}$  στον τοιχωματικό υπεζωκότα και 17% αύξηση στον πνευμονικό υπεζωκότα (διάγραμμα 12). Η αύξηση της  $R_{TE}$  ήταν γρήγορη, σε 1 λεπτό, διαρκούσε περίπου 15 λεπτά και επέστρεψε στα αρχικά επίπεδα σε 30-45 λεπτά.

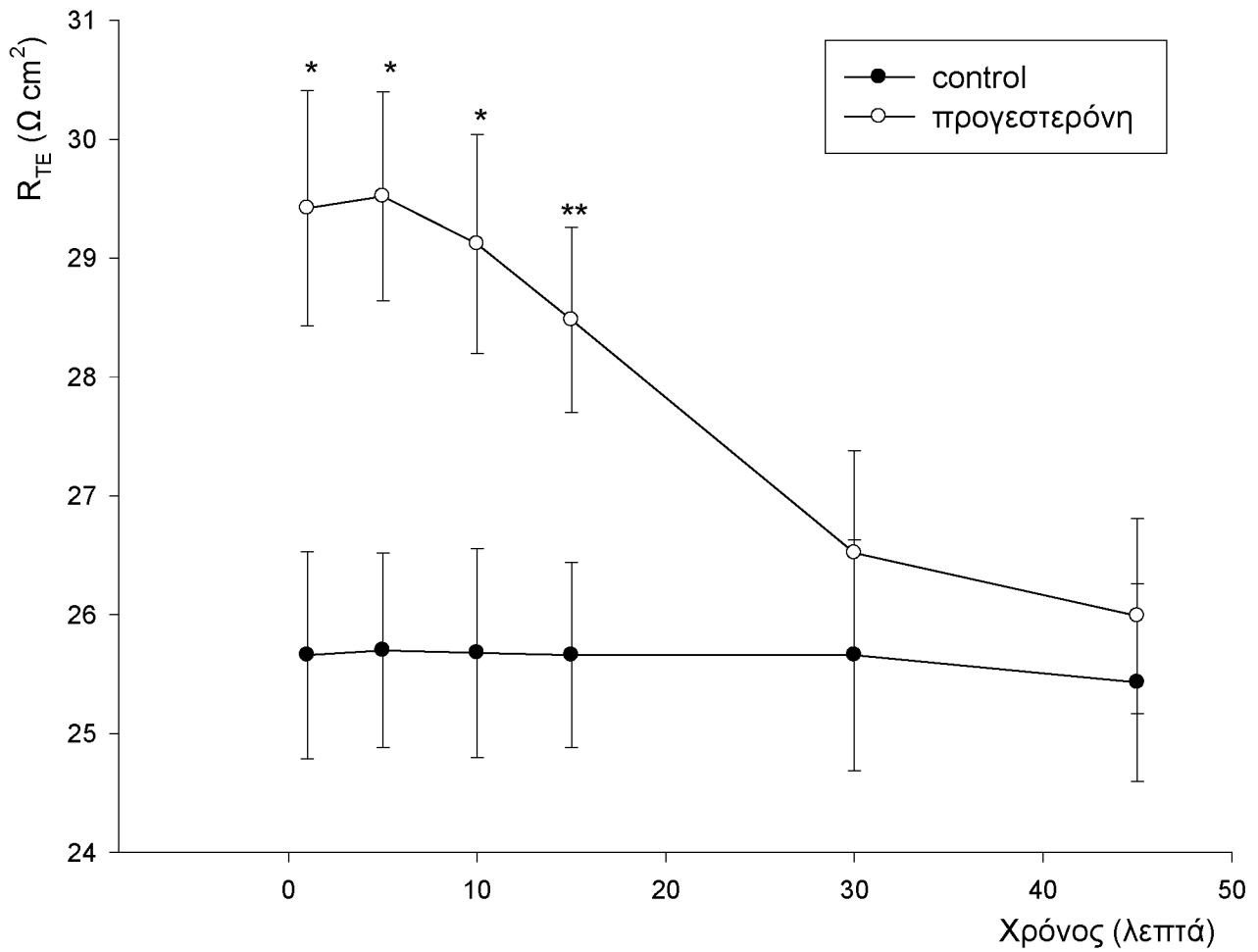


Διάγραμμα 11. Χρονοεξαρτώμενες επιδράσεις 17β οιστραδιόλης ( $10^{-6}M$ ) στην  $R_{TE}$  του τοιχωματικού υπεζωκότα κατά την πρώτη ώρα της έκθεσης. \* $P \leq 0,01$ , \*\* $P \leq 0,05$  σε σχέση με τον ιστό αναφοράς.

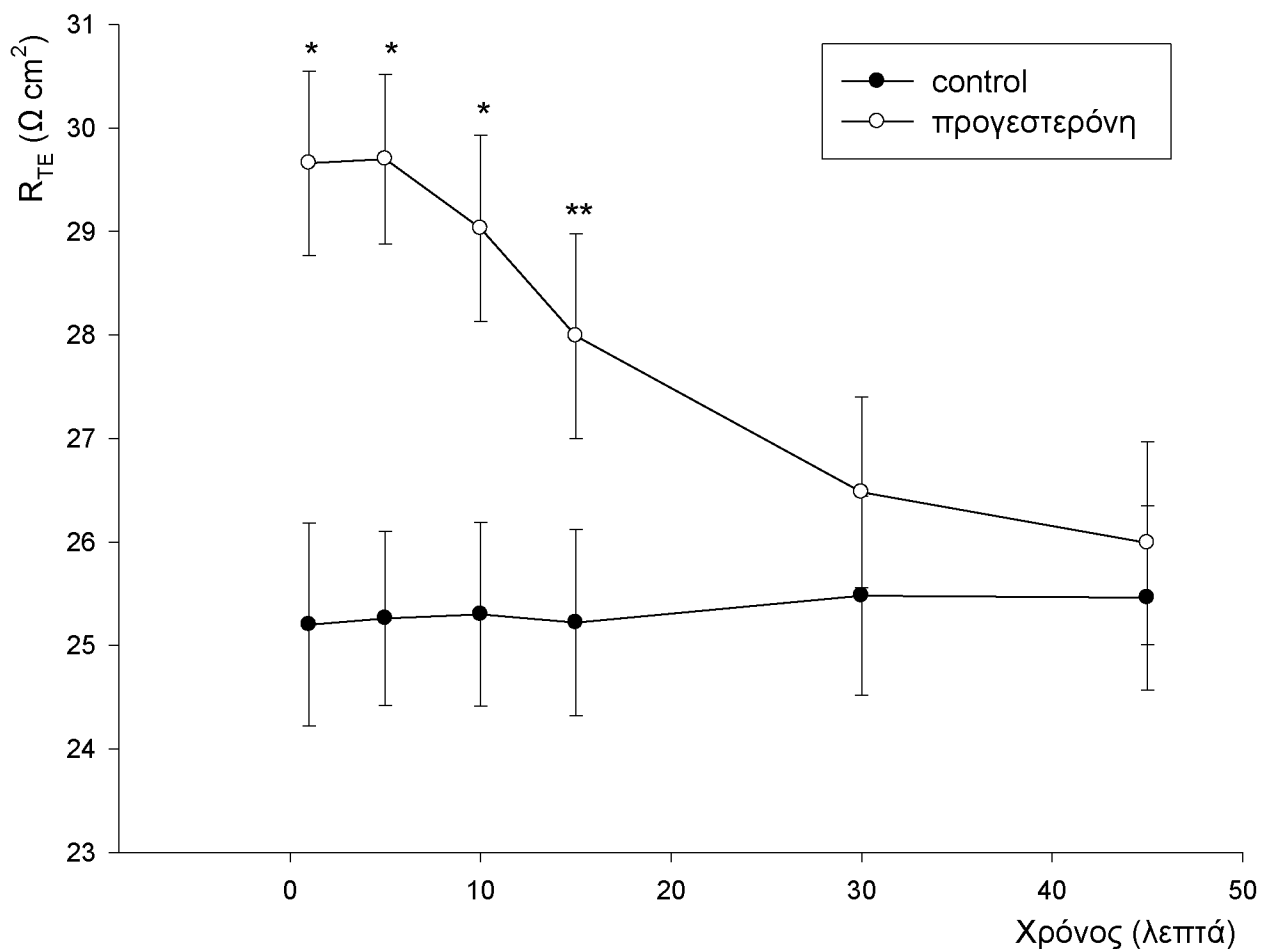


Διάγραμμα 12. Χρονοεξαρτώμενες επιδράσεις 17β οιστραδιόλης ( $10^{-6}M$ ) στην  $R_{TE}$  του πνευμονικού υπεζωκότα κατά την πρώτη ώρα της έκθεσης. \* $P \leq 0,01$ , \*\* $P \leq 0,05$  σε σχέση με τον ιστό αναφοράς.

Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και με την προσθήκη  $10^{-6}M$  προγεστερόνης, τόσο στον τοιχωματικό (διάγραμμα 13) όσο και στον πνευμονικό υπεζωκότα (διάγραμμα 14). Η επίδραση ήταν γρήγορη μέσα σε ένα λεπτό, διαρκούσε περίπου 15 λεπτά και επέστρεφε στα αρχικά επίπεδα σε 30-45 λεπτά.



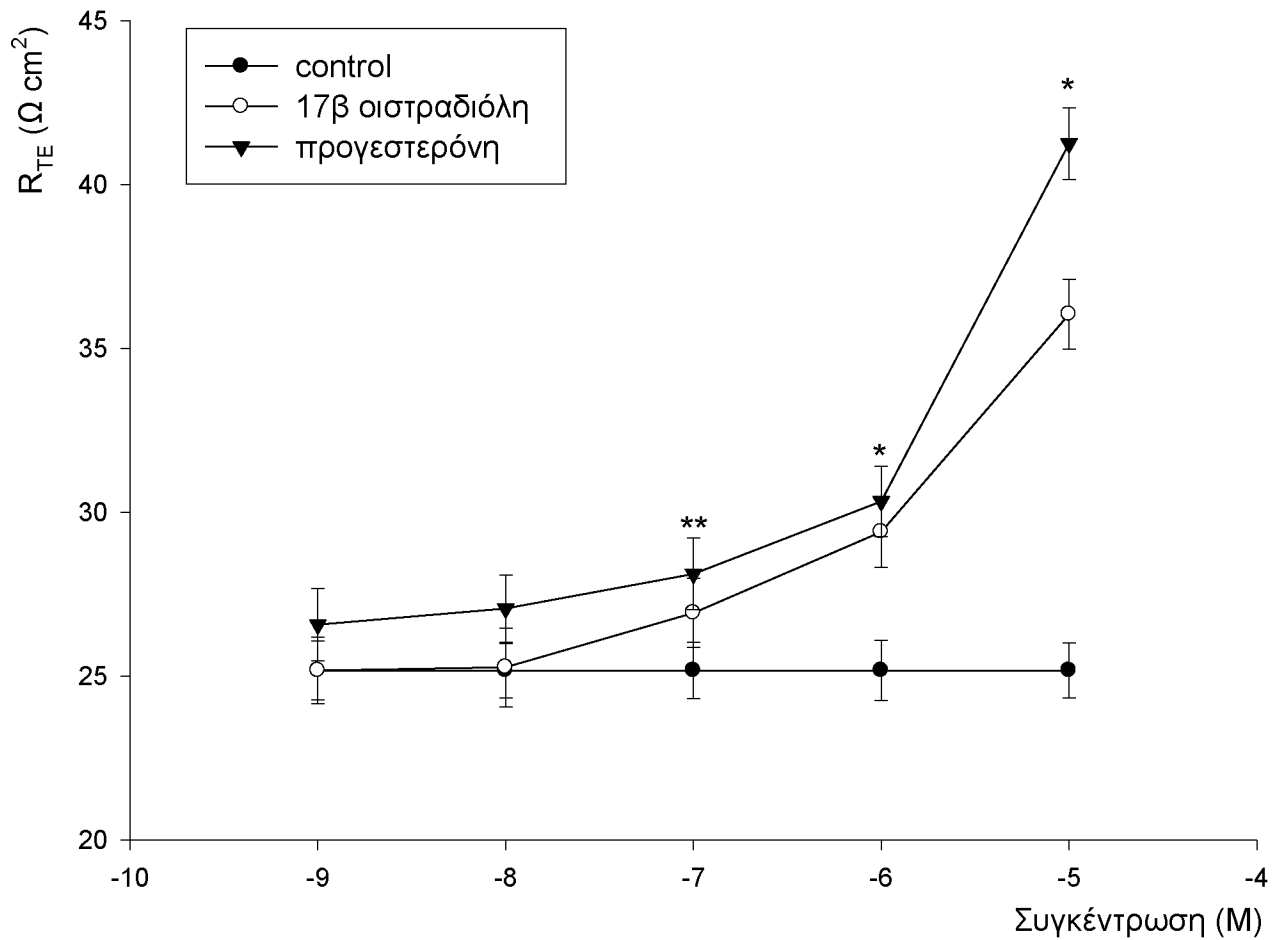
Διάγραμμα 13. Χρονοεξαρτώμενες επιδράσεις προγεστερόνης ( $10^{-6}M$ ) στην  $R_{TE}$  του τοιχωματικού υπεζωκότα κατά την πρώτη ώρα της έκθεσης. \* $P \leq 0,01$ , \*\* $P \leq 0,05$  σε σχέση με τον ιστό αναφοράς.



Διάγραμμα 14. Χρονοεξαρτώμενες επιδράσεις προγεστερόνης ( $10^{-6}M$ ) στην  $R_{TE}$  του πνευμονικού υπεζωκότα κατά την πρώτη ώρα της έκθεσης. \* $P \leq 0,01$ , \*\* $P \leq 0,05$  σε σχέση με τον ιστό αναφοράς.

Οι στεροειδείς ορμόνες αύξησαν την  $R_{TE}$  με δόσοεξαρτώμενο τρόπο. Στα διαγράμματα 15 και 16 φαίνεται η δράση της  $17\beta$  οιστραδιόλης και της προγεστερόνης σε συγκεντρώσεις από  $10^{-9}M$  μέχρι  $10^{-5}M$ . Παρατηρήθηκε αύξηση της  $R_{TE}$  για συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από  $10^{-8}M$ . Η μέγιστη

αύξηση της  $R_{TE}$  στον τοιχωματικό υπεζωκότα ήταν 43% για την 17β οιστραδιόλη ( $10^{-5}M$ ) και 55% για την προγεστερόνη ( $10^{-5}M$ ). Στον πνευμονικό υπεζωκότα ήταν 43% και για τις δύο ορμόνες σε συγκέντρωση  $10^{-5}M$ .

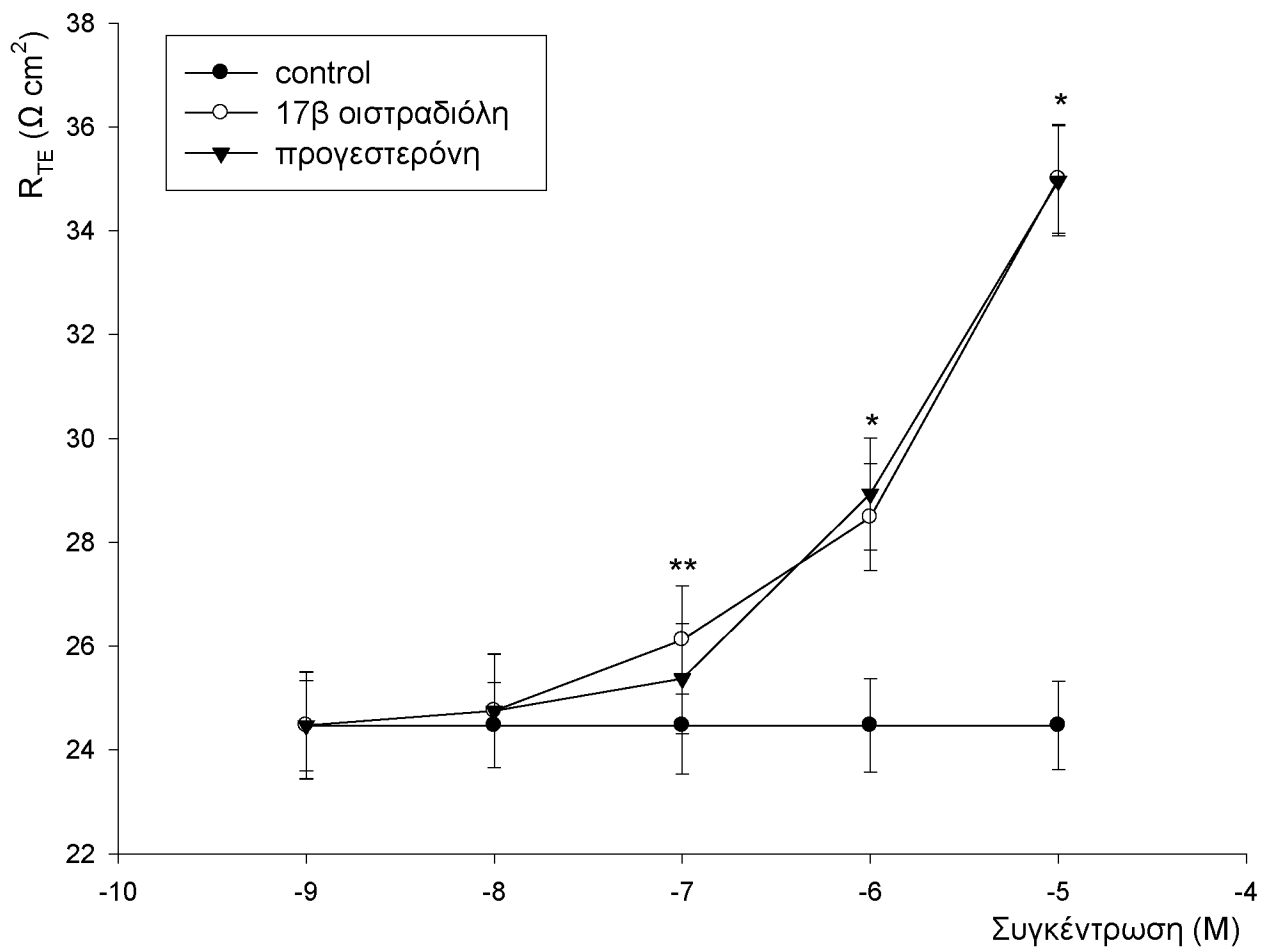


Διάγραμμα 15. Καμπύλη δόσης-απάντησης 17β οιστραδιόλης και προγεστερόνης σε συγκεντρώσεις από  $10^{-9}M$  μέχρι  $10^{-5}M$ , στην  $R_{TE}$  του τοιχωματικού υπεζωκότα.

Μετρήσεις της  $R_{TE}$  έγιναν 1 λεπτό μετά την έκθεση της μεμβράνης στις ουσίες.

\* $P \leq 0,01$ , \*\* $P \leq 0,05$  σε σχέση με τον ιστό αναφοράς.

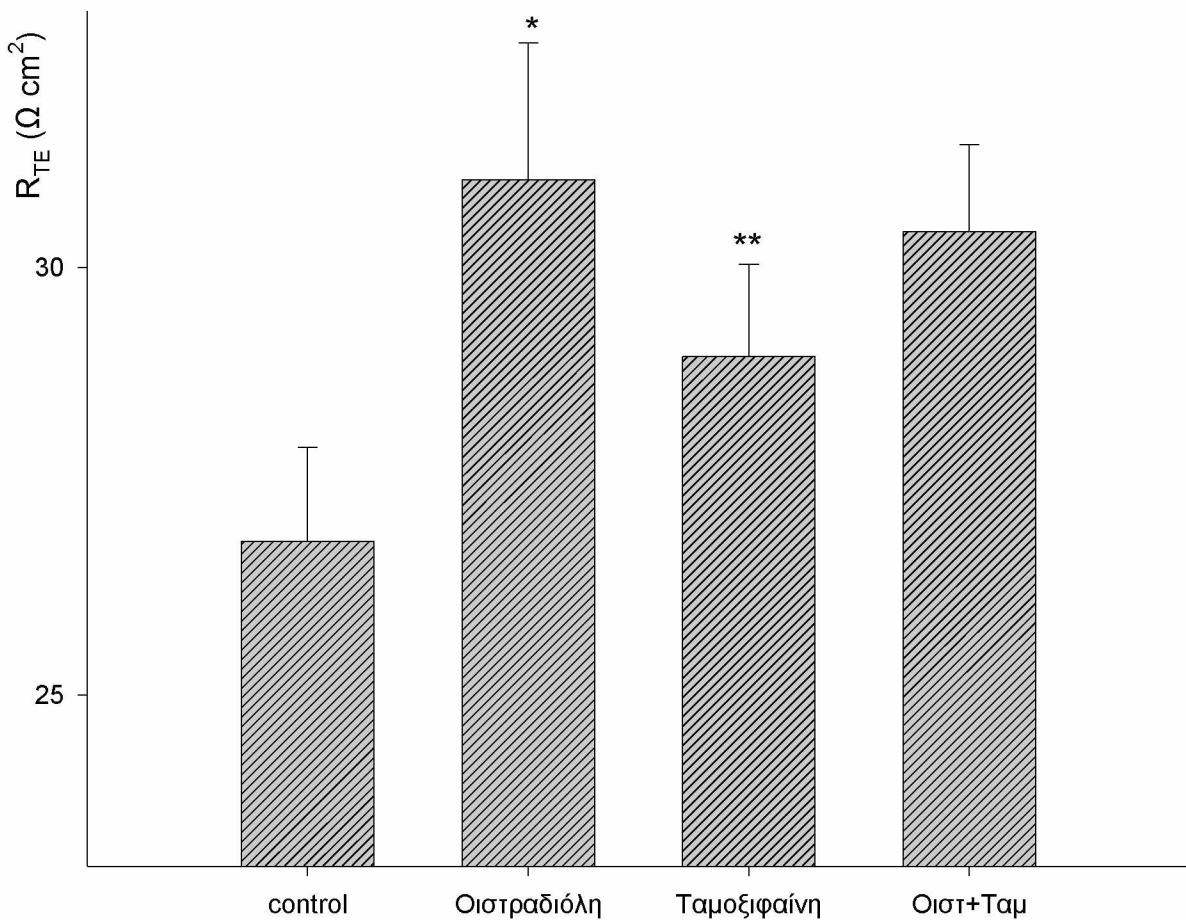




Διάγραμμα 16. Καμπύλη δόσης-απάντησης 17β οιστραδιόλης και προγεστερόνης σε συγκεντρώσεις από 10<sup>-9</sup>M μέχρι 10<sup>-5</sup>M, στην R<sub>TE</sub> του πνευμονικού υπεζωκότα. Μετρήσεις της R<sub>TE</sub> έγιναν 1 λεπτό μετά την έκθεση της μεμβράνης στις ουσίες. \*P ≤ 0,01, \*\*P ≤ 0,05 σε σχέση με τον ιστό αναφοράς.

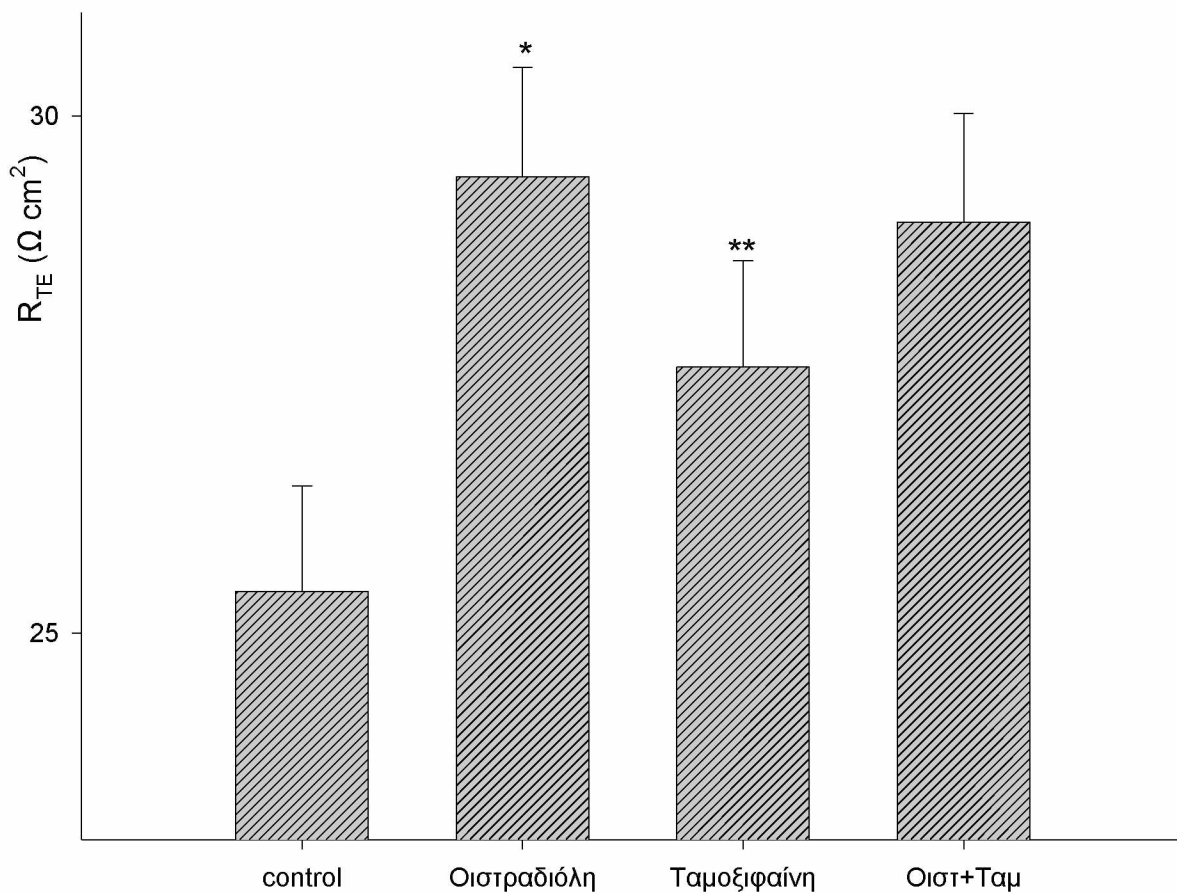
Αν ο κλασικός κυτταροπλασματικός υποδοχέας των οιστρογόνων ήταν υπεύθυνος για την εξαρτώμενη από τη 17β οιστραδιόλη αύξηση της R<sub>TE</sub>, τότε αυτό το αποτέλεσμα θα έπρεπε να αναστέλλεται με τη χρήση αντιοιστρογόνων. Η ταμοξιφαίνη είναι ο πιο ευρέως διαδεδομένος

ανταγωνιστής των κυτταροπλασματικών υποδοχέων των οιστρογόνων. Για να εξετάσουμε εάν η δράση της ορμόνης είναι διαμέσου κλασικών υποδοχέων προσθέσαμε ταμοξιφαίνη σε συγκέντρωση  $10^{-5}\text{M}$  μαζί με  $17\beta$  οιστραδιόλη ( $10^{-6}\text{M}$ ) στον τοιχωματικό (διάγραμμα 17) και στον



Διάγραμμα 17. Αύξηση της  $R_{TE}$  στον τοιχωματικό υπεζωκότα από τη  $17\beta$  οιστραδιόλη ( $10^{-6}\text{M}$ ), παρουσία και απουσία ταμοξιφαίνης ( $10^{-5}\text{M}$ ). Οι αλλαγές στην  $R_{TE}$  καθορίστηκαν 1 λεπτό μετά την προσθήκη των ουσιών. \* $P \leq 0,01$ , \*\* $P \leq 0,05$  σε σχέση με τον ιστό αναφοράς.

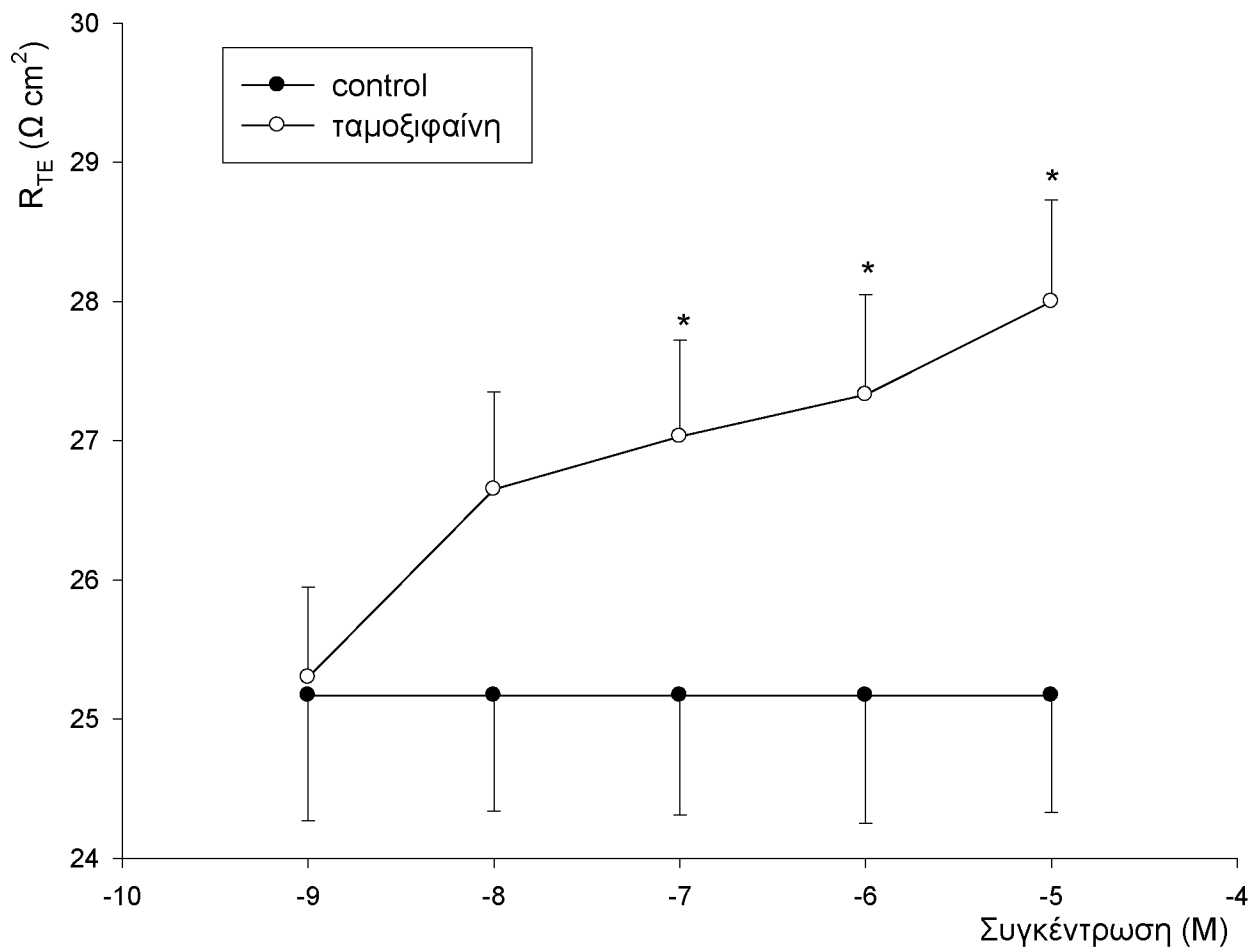
πνευμονικό (διάγραμμα 18) υπεζωκότα. Η εξαρτώμενη από την 17β οιστραδιόλη αύξηση της  $R_{TE}$  δεν επηρεάστηκε σημαντικά σε κανένα από τα δύο πέταλα του υπεζωκότα. Με την ταμοξιφαίνη παρατηρήθηκε μόνο μερική αναστολή της δράσης της 17β οιστραδιόλης. Επιπλέον η ταμοξιφαίνη μόνη της σε συγκέντρωση  $10^{-6}M$  είχε παρόμοια αποτελέσματα



Διάγραμμα 18. Αύξηση της  $R_{TE}$  στον πνευμονικό υπεζωκότα από τη 17β οιστραδιόλη ( $10^{-6}M$ ), παρουσία και απουσία ταμοξιφαίνης ( $10^{-5}M$ ). Οι αλλαγές στην  $R_{TE}$  καθορίστηκαν 1 λεπτό μετά την προσθήκη των ουσιών. \* $P \leq 0,01$ , \*\* $P \leq 0,05$  σε σχέση με τον ιστό αναφοράς.

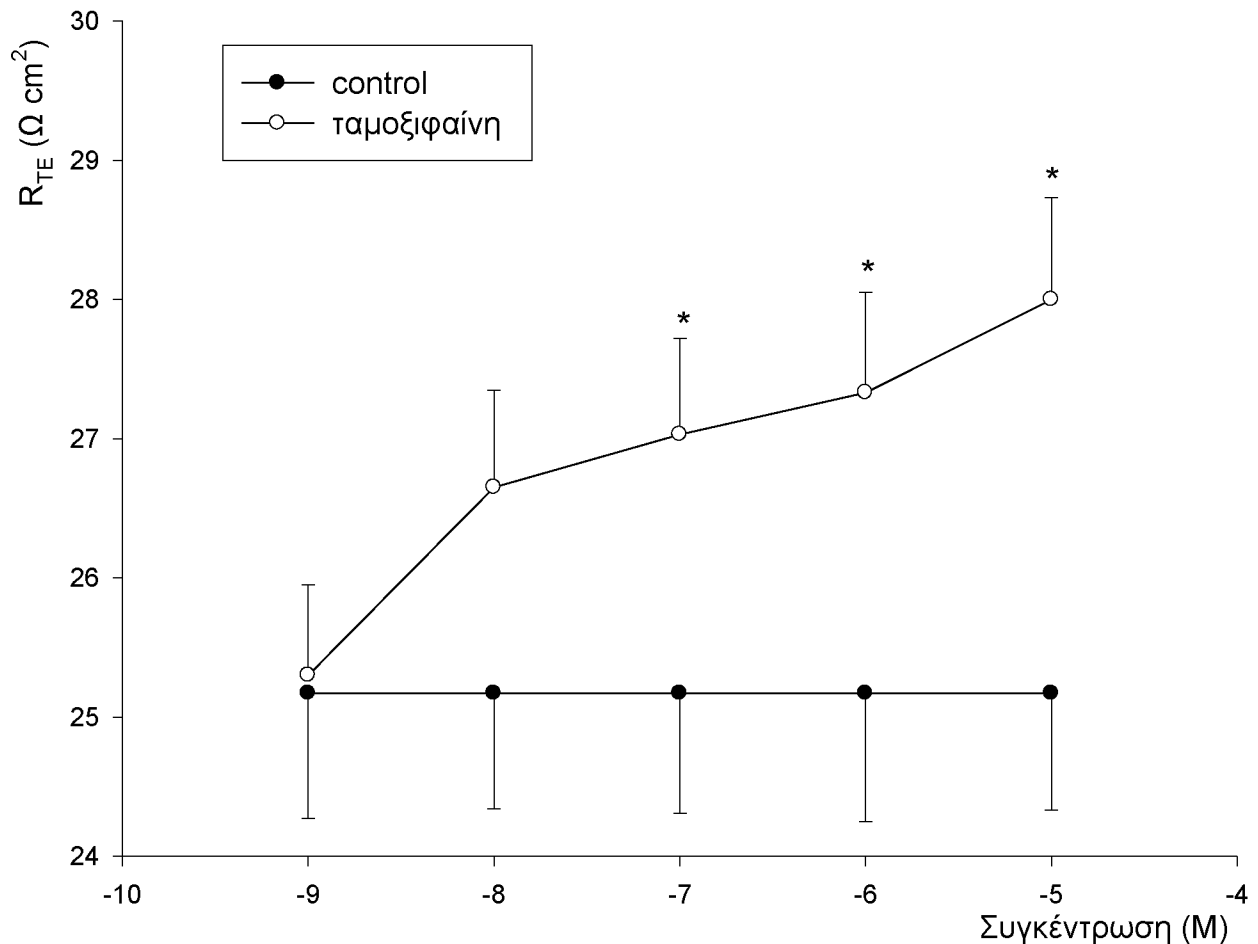
με την 17β οιστραδιόλη και την προγεστερόνη και στα δύο πέταλα του υπεζωκότα (διαγράμματα 17 και 18).

Η καμπύλη δόσης-απάντησης της ταμοξιφαίνης στον τοιχωματικό και στον πνευμονικό υπεζωκότα φαίνεται στα διαγράμματα 19 και 20. Η μεγαλύτερη αύξηση της  $R_{TE}$  παρατηρήθηκε στη συγκέντρωση  $10^{-5}$  M και στα δύο πέταλα του υπεζωκότα.



Διάγραμμα 19. Καμπύλη δόσης-απάντησης ταμοξιφαίνης σε συγκεντρώσεις από  $10^{-9}$  M μέχρι  $10^{-5}$  M, στην  $R_{TE}$  του τοιχωματικού υπεζωκότα. Μετρήσεις της  $R_{TE}$  έγιναν 1 λεπτό μετά την έκθεση της μεμβράνης στην ουσία. \* $P \leq 0,05$  σε σχέση με τον ιστό αναφοράς.

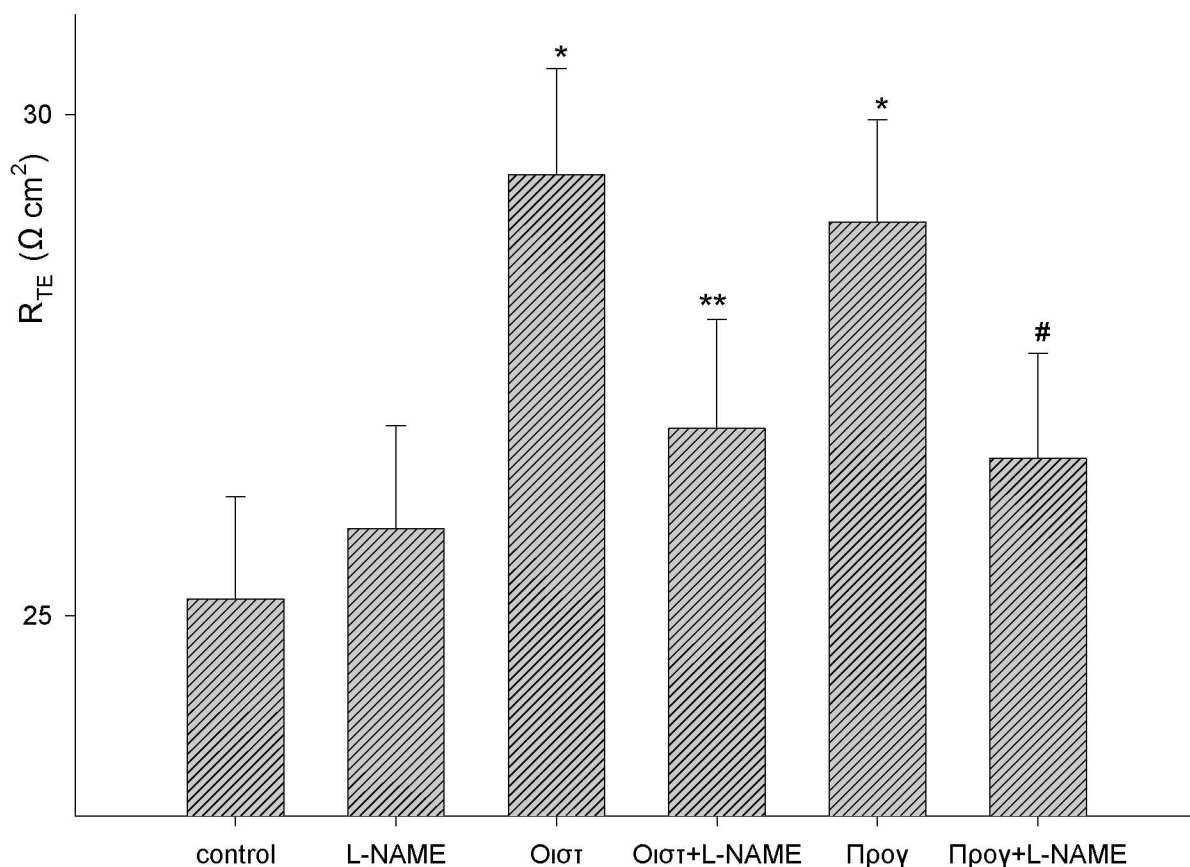
Για να διερευνήσουμε την παρουσία υποδοχέων στεροειδών (οιστρογόνων και προγεστερόνης), τοιχωματικός και πνευμονικός υπεζωκότας αναλύθηκαν για την ύπαρξη κυτταροπλασματικών στεροειδών υποδοχέων με τη μέθοδο κορεσμού με ραδιενεργά ανάλογα. Τα αποτελέσματά έδειξαν ότι δεν υπάρχουν ειδικές θέσεις σύνδεσης ή



Διάγραμμα 20. Καμπύλη δόσης-απάντησης ταμοξιφαίνης σε συγκεντρώσεις από 10<sup>-9</sup>M μέχρι 10<sup>-5</sup>M, στην  $R_{TE}$  του πνευμονικού υπεζωκότα. Μετρήσεις της  $R_{TE}$  έγιναν 1 λεπτό μετά την έκθεση της μεμβράνης στην ουσία. \*P ≤ 0,05 σε σχέση με τον ιστό αναφοράς.

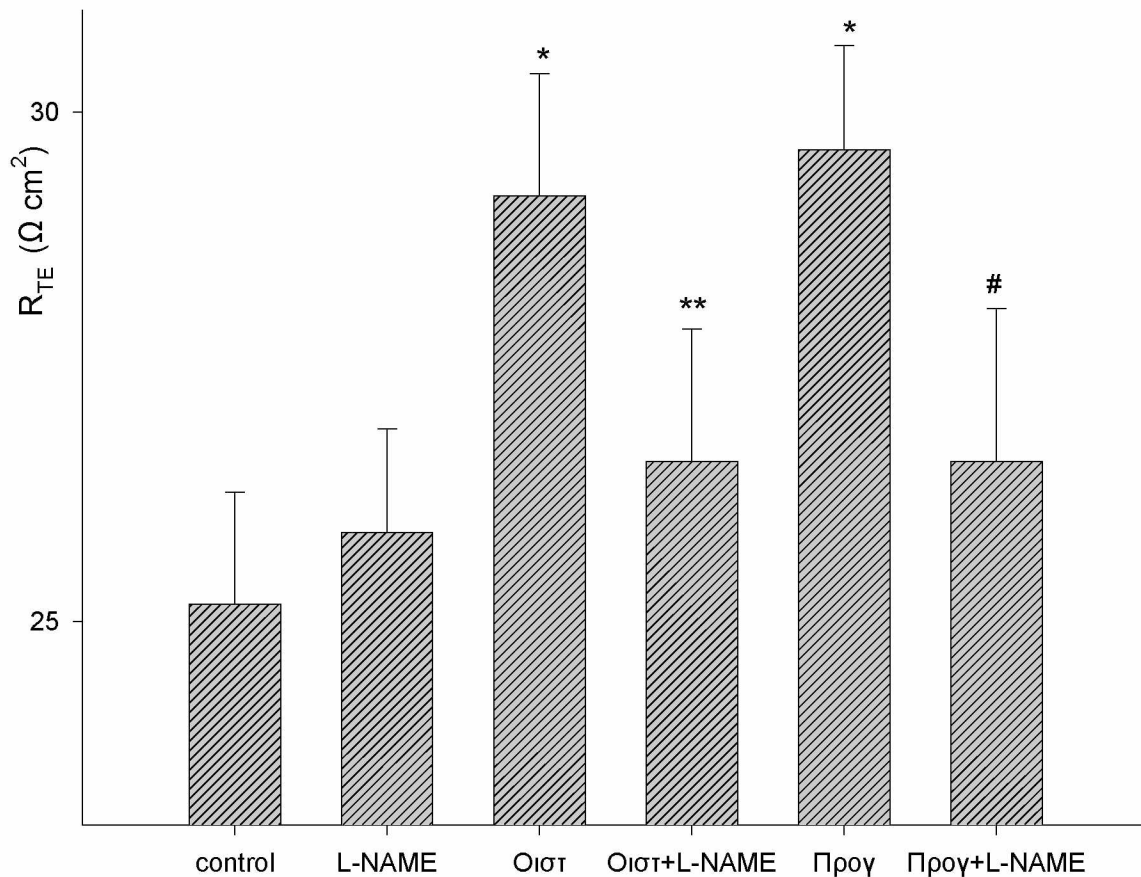
υποδοχείς στεροειδών, ούτε στον τοιχωματικό ούτε στον πνευμονικό υπεζωκότα.

Σε ανασκόπηση της πρόσφατης βιβλιογραφίας φαίνεται ότι πολλές δράσεις των στεροειδών ορμονών συντελούνται μέσω διέγερσης της παραγωγής NO. Για να εξετάσουμε αυτή την πιθανότητα εκθέσαμε τον



Διάγραμμα 21. Επιδράσεις 17β οιστραδιόλης ( $10^{-6}\text{M}$ ), προγεστερόνης ( $10^{-6}\text{M}$ ), L-NAME ( $10^{-5}\text{M}$ ) και συνδυασμού 17β οιστραδιόλης ή προγεστερόνης με L-NAME στην  $R_{TE}$  του τοιχωματικού υπεζωκότα. Οι αλλαγές στην  $R_{TE}$  καθορίστηκαν 1 λεπτό μετά την προσθήκη των ουσιών. \* $P \leq 0,01$  σε σχέση με τον ιστό αναφοράς, \*\* $P \leq 0,05$  σε σχέση με τη 17β οιστραδιόλη και # $P \leq 0,05$  σε σχέση με την προγεστερόνη.

υπεζωκότα σε ένα αναστολέα της συνθάσης του NO (L-NAME). Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι L-NAME σε συγκέντρωση  $10^{-5}$ M αναστέλλει τις επιδράσεις της 17β οιστραδιόλης και της προγεστερόνης τόσο στον τοιχωματικό (διάγραμμα 21) όσο και στον πνευμονικό (διάγραμμα 22) υπεζωκότα. Επιπλέον ο αναστολέας (L-NAME) μόνος του δεν είχε καμία δράση στην  $R_{TE}$ .



Διάγραμμα 22. Επιδράσεις 17β οιστραδιόλης ( $10^{-6}$ M), προγεστερόνης ( $10^{-6}$ M), L-NAME ( $10^{-5}$ M) και συνδυασμού 17β οιστραδιόλης ή προγεστερόνης με L-NAME στην  $R_{TE}$  του πνευμονικού υπεζωκότα. Οι αλλαγές στην  $R_{TE}$  καθορίστηκαν 1 λεπτό μετά την προσθήκη των ουσιών. \* $P \leq 0,01$  σε σχέση με τον ιστό αναφοράς, \*\* $P \leq 0,05$  σε σχέση με τη 17β οιστραδιόλη και # $P \leq 0,05$  σε σχέση με την προγεστερόνη.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα αποτελέσματα έδειξαν πως τόσο ο τοιχωματικός όσο και ο πνευμονικός υπεζωκότας δεν ανέπτυξαν διαφορά δυναμικού όταν και από τις δύο πλευρές της μεμβράνης υπήρχε Krebs. Αύξηση της αντίστασης στα πέταλα του υπεζωκότα παρατηρήθηκε μετά από έκθεση σε ουαμπαΐνη, αμιλορίδη, νιτροπρωσσικό νάτριο, 17β οιστραδιόλη ή προγεστερόνη.

Πιο συγκεκριμένα αυτή η αύξηση παρατηρήθηκε όταν:

1. Η ουαμπαΐνη προστέθηκε στην πλευρά προς τον ενδιάμεσο ιστό του πνευμονικού υπεζωκότα και στις δύο πλευρές τοιχωματικού υπεζωκότα.
2. Η αμιλορίδη προστέθηκε στην πλευρά προς την υπεζωκοτική κοιλότητα του τοιχωματικού υπεζωκότα.
3. Το νιτροπρωσσικό νάτριο προστέθηκε στην πλευρά προς την υπεζωκοτική κοιλότητα του τοιχωματικού υπεζωκότα και από τις δύο πλευρές του πνευμονικού υπεζωκότα.

Οι Engelberg και Radin βρήκαν την ύπαρξη διαφοράς δυναμικού (-5mV) μεταξύ πνευμονικού αγγείου και υπεζωκότα. Αυτή η διαφορά δυναμικού εξαφανίζονταν όταν κυανιούχο άλας ή ουαμπαΐνη προστίθονταν από την πλευρά του πνευμονικού παρεγχύματος υποδηλώνοντας, ότι η γένεση του δυναμικού οφείλονταν στην ενεργητική μεταφορά ιόντων. Το δυναμικό εξαφανίζονταν επίσης όταν το νάτριο αντικαθίσταντο από χολίνη



και το χλώριο από θειικό άλας, υποδεικνύοντας πως τόσο το νάτριο όσο και το χλώριο ήταν απαραίτητα για τη δημιουργία αυτού του δυναμικού (44).

Στην παρούσα μελέτη δεν βρήκαμε μετρήσιμη διαφορά δυναμικού κατά πλάτος του τοιχωματικού και πνευμονικού υπεζωκότα. Τα ευρήματα μας συμφωνούν με αυτά σε τοιχωματικό και πνευμονικό υπεζωκότα σκύλου (131) και σε πνευμονικό υπεζωκότα προβάτου (88) όπως επίσης και σε άλλους μεσοθηλιακούς ιστούς όπως το περιτόναιο βατράχου (50).

Η αντίσταση του υπεζωκότα ήταν πολύ χαμηλή, κυμαινόμενη μεταξύ των τιμών που αναφέρονται για εξαιρετικά διαπερατούς ( $4 - 400 \Omega \text{ cm}^2$ ) επιθηλιακούς ιστούς όπως το εγγύς εσπειραμένο σωληνάριο και η χοληδόχος κύστη του κουνελιού (52). Η αντίσταση του τοιχωματικού και του πνευμονικού ιστού που βρέθηκε ήταν  $22,02 \Omega \text{ cm}^2$  και είναι παρόμοια με αυτή που βρέθηκε σε πνευμονικό υπεζωκότα προβάτου  $27,1 \Omega \text{ cm}^2$  (88) και σε πνευμονικό και τοιχωματικό υπεζωκότα σκύλου  $20,2 \Omega \text{ cm}^2$  και  $22,2 \Omega \text{ cm}^2$  αντίστοιχα (131). Τα παραπάνω χαρακτηριστικά δείχνουν πως ο υπεζωκότας είναι εξαιρετικά διαπερατός σε ρεύματα ιόντων, όμως δεν μπορούν από μόνα τους να αποκλείσουν την πιθανότητα ενεργητικής μεταφοράς στον υπεζωκότα (37). Παραμένει επομένως πιθανό ότι η ενεργητική μεταφορά υπάρχει στον υπεζωκότα κατά τέτοιο τρόπο ώστε καμία διαφορά δυναμικού να μην παρατηρείται.

Μεγάλο μέρος των ερευνών υποστηρίζει πως το υπεζωκοτικό υγρό παράγεται με τους μηχανισμούς του Starling από τα τριχοειδή του τοιχωματικού υπεζωκότα και απάγεται από τα υπεζωκοτικά λεμφαγγεία. Ο πνευμονικός υπεζωκότας δεν συνεισφέρει ουσιαστικά στην παθητική μετακίνηση του υγρού και των ουσιών κάτω από φυσιολογικές συνθήκες. Πρόσφατα μελέτες υποστηρίζουν την ύπαρξη ενεργητικής μεταφοράς ηλεκτρολυτών από τα μεσοθηλιακά κύτταρα (177,178). Η αναμενόμενη διακίνηση υγρού και ουσιών δεν έχει καθοριστεί μέχρι τώρα, αν και αποτελέσματα από απομονωμένα τμήματα τοιχωματικού και πνευμονικού υπεζωκότα τείνουν να εξαιρέσουν οποιοδήποτε ουσιαστικό ρόλο (88,131). Η διαπερατότητα του υπεζωκότα στους ηλεκτρολύτες με τη μέθοδο Ussing System βρέθηκε υψηλή (88,131) αλλά θα μπορούσε να ήταν μικρότερη κάτω από φυσιολογικές συνθήκες. Απόδειξη για μικρή ενεργητική μεταφορά  $\text{Na}^+$  και διττανθρακικών ( $\text{HCO}_3^-$ ) σε τοιχωματικό υπεζωκότα σκύλου βρέθηκε από τον D'Angelo και συνεργάτες (33).

Τα αποτελέσματα του πρώτου μέρους της μελέτης δείχνουν κάποια μεταφορά ηλεκτρολυτών από τον υπεζωκότα. Η αύξηση της αντίστασης της μεμβράνης όταν ουαμπαΐνη προστέθηκε στην πλευρά προς τον ενδιάμεσο ιστό πνευμονικού υπεζωκότα υποδεικνύει την ύπαρξη αντλίας  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  σ' αυτή την πλευρά της μεμβράνης, η οποία μεταφέρει  $\text{Na}^+$  έξω από τα κύτταρα και έτσι έξω από την υπεζωκοτική κοιλότητα. Προσθήκη

ουαμπαίνης στην πλευρά προς την υπεζωκοτική κοιλότητα του τοιχωματικού υπεζωκότα οδήγησε σε αύξηση της  $R_{TE}$  και υποδηλώνει την ύπαρξη αντλίας  $Na^+ - K^+$  σ' αυτή την πλευρά της μεμβράνης η οποία μεταφέρει  $K^+$  μέσα στα κύτταρα.

Δέκα λεπτά μετά την προσθήκη της αμιλορίδης στην πλευρά προς την υπεζωκοτική κοιλότητα του τοιχωματικού υπεζωκότα η  $R_{TE}$  αυξήθηκε. Αφού η αμιλορίδη αναστέλλει τους διαύλους  $Na^+$  και την ανταλλαγή  $Na^+ - H^+$  το αποτέλεσμα αυτό υποδεικνύει την ύπαρξη διαύλων  $Na^+$  ή ανταλλαγής  $Na^+ - H^+$  σε αυτή την πλευρά του υπεζωκότα. Η αδυναμία αύξησης της  $R_{TE}$  στον πνευμονικό υπεζωκότα και στην πλευρά προς τον διάμεσο ιστό του τοιχωματικού υπεζωκότα θα μπορούσε να εξηγηθεί από την υπόθεση ότι, η αμιλορίδη δρα στο ενδοθήλιο των στομίων των λεμφαγγείων, τα οποία βρίσκονται μόνο στην πλευρά προς την υπεζωκοτική κοιλότητα του τοιχωματικού υπεζωκότα (166).

Σύμφωνα με τα παραπάνω αποτελέσματα προτείνουμε την ύπαρξη δύο ειδών κυττάρων στο μεσοθήλιο του υπεζωκότα. Αυτά στα οποία υπάρχουν διάυλοι  $Na^+$  ή ανταλλαγή  $Na^+ - H^+$  στην πλευρά προς την υπεζωκοτική κοιλότητα και αντλία  $Na^+ - K^+$  στην πλευρά προς το διάμεσο ιστό. Είναι τα κύτταρα τα οποία μεταφέρουν  $Na^+$  (και έτσι υγρό) έξω από την υπεζωκοτική κοιλότητα. Στο δεύτερο είδος κυττάρων υπάρχει αντλία  $Na^+ - K^+$  στην πλευρά προς την υπεζωκοτική κοιλότητα και σχετίζονται με

την ανακύκλωση του  $K^+$  και ίσως άλλες λειτουργίες. Οι παραπάνω μηχανισμοί πιθανόν σχετίζονται με τη διατήρηση του όγκου και της σύστασης όχι μόνο του υπεζωκοτικού υγρού αλλά και των μεσοθηλιακών κυττάρων. Η ύπαρξη δύο ειδών κυττάρων με αντλία  $Na^+ - K^+$  στην αντίθετη πλευρά έχει προταθεί και από άλλους ερευνητές για τα μεσοθηλιακά κύτταρα του υπεζωκότα (177) όπως επίσης και για το επιθήλιο των κυψελίδων (10). Μορφολογικά έχουν περιγραφεί δύο ειδών μεσοθηλιακά κύτταρα στον υπεζωκότα, τα επίπεδα κύτταρα τα οποία είναι περισσότερα σε αριθμό, έχουν καλά αναπτυγμένες στενές συνδέσεις και μακριές μικρολάχνες και τα κυβοειδή κύτταρα τα οποία είναι λιγότερα σε αριθμό, έχουν λιγότερο αναπτυγμένες στενές συνδέσεις και κοντές μικρολάχνες (110).

Το οξείδιο του αζώτου έχει βρεθεί να αναστέλλει τους διαύλους  $Na^+$  την αντλία  $Na^+ - K^+$  και την διευκολυνόμενη διάχυση  $Na^+$  στα κυψελιδικά κύτταρα τύπου II (69,106) όπως επίσης και σε καλλιέργειες επιθηλιακών κυττάρων πνεύμονα (38). Η αύξηση της  $R_{TE}$  όταν δότης του οξειδίου του αζώτου, το νιτροπρωσσικό νάτριο, προστέθηκε στην πλευρά προς την υπεζωκοτική κοιλότητα του τοιχωματικού υπεζωκότα υποθέτει την αναστολή ενός ή περισσότερων από τους παραπάνω μηχανισμούς. Αυτή η αύξηση της  $R_{TE}$  επέστρεψε στα επίπεδα αναφοράς με την προσθήκη L-NAME, ενός αναστολέα της σύνθεσης του NO. Η μεταφορά των

ηλεκτρολυτών μπορεί να αφορά το μεσοθήλιο του υπεζωκότα ή το ενδοθήλιο των στομίων των λεμφαγγείων ή και τα δύο.

Τα αποτελέσματα των πειραμάτων του δεύτερου μέρους δείχνουν ότι η 17β οιστραδιόλη και η προγεστερόνη προκαλούν σημαντικές αλλαγές στις ηλεκτρικές ιδιότητες του υπεζωκότα. Οδηγούν σε αύξηση της  $R_{TE}$  και έτσι σε μείωση της διαπερατότητας και στα δύο πέταλα του υπεζωκότα. Οι επιδράσεις των ορμονών δεν φαίνεται να εμπλέκουν τους κλασικούς ενδοκυττάριους υποδοχείς των στεροειδών ορμονών, βάση των τριών παρακάτω ευρημάτων: (α) της αμεσότητας του αποτελέσματος, (β) της μη πλήρους αναστολής της γρήγορης επίδρασης της 17β οιστραδιόλης με την προσθήκη ταμοξιφαίνης, ενός ανταγωνιστή των ενδοκυττάριων υποδοχέων των οιστρογόνων και (γ) της αδυναμίας μέτρησης κλασικών, ενδοκυττάριων υποδοχέων οιστρογόνων και προγεστερόνης στον τοιχωματικό και στον πνευμονικό υπεζωκότα με τη μέθοδο κορεσμού με ραδιενεργά ανάλογα. Επίσης φαίνεται να υπάρχει πιθανή συμμετοχή του NO, στην εξαρτώμενη από τις στεροειδείς ορμόνες αύξηση της  $R_{TE}$ , αφού προηγούμενη προσθήκη ενός αναστολέα της συνθάσης του NO (L-NAME) απέτρεψε την αύξηση της  $R_{TE}$ .

Η επίδραση της 17β οιστραδιόλης ήταν φανερή στο πρώτο λεπτό της έκθεσης, η διάρκειά της ήταν περίπου 15 λεπτά και δεν επηρεαζόταν σημαντικά από την προηγούμενη προσθήκη ταμοξιφαίνης. Οι άμεσες

δράσεις των οιστρογόνων είναι μικρής διάρκειας, από δευτερόλεπτα μέχρι μερικά λεπτά και έχουν περιγραφεί σε μια ποικιλία ιστών στόχων. Για παράδειγμα, γρήγορη ανταπόκριση στα οιστρογόνα είναι τα δυναμικά ενέργειας που βρέθηκαν σε κύτταρα υπόφυσης (κυτταρική σειρά C<sub>1</sub>H<sub>3</sub>/B<sub>6</sub>) (43), μικρής διάρκειας ενεργοποίηση νευρικών κυττάρων (42) και αλλαγές στη μορφολογία των κυττάρων του ενδομητρίου (138). Οι Pietras και Szego (132) έχουν αναφέρει ότι η 17β οιστραδιόλη γρήγορα απελευθερώνει Ca<sup>2+</sup> από τα κύτταρα του ενδομητρίου. Οι πιθανοί μηχανισμοί αυτών των άμεσων δράσεων είναι: (α) σύνδεση με ειδικό υποδοχέα στεροειδών ορμονών στην κυτταρική μεμβράνη, (β) σύνδεση και ρύθμιση (ενεργοποίηση) ενός υποδοχέα νευροδιβιαστών όπως είναι ο υποδοχέας του γ-άμινο-βουτυρικού οξέως (GABA<sub>A</sub>), (γ) σύνδεση με τους κλασικούς ενδοκυττάριους υποδοχείς, (δ) αλλαγές στη ρευστότητα της μεμβράνης και (ε) άμεση ενεργοποίηση του συστήματος των δευτερευόντων διαβιβαστών (16,46,146).

Αυτοί οι διαφορετικοί μηχανισμοί δράσης μπορούν να εξηγήσουν τις ορμονικές επιδράσεις που είναι γρήγορες και μικρής διάρκειας. Η επίδραση της προγεστερόνης στη R<sub>TE</sub> ήταν παρόμοια με αυτή της 17β οιστραδιόλης στον τοιχωματικό και στον πνευμονικό υπεζωκότα. Άμεσες επιδράσεις είναι γνωστό ότι υπάρχουν σε διάφορους τύπους κυττάρων. Ο Ramirez και συνεργάτες (84) έδειξαν ότι η προγεστερόνη είναι υπεύθυνη για την γρήγορη απελευθέρωση της εκλυτικής ορμόνης των γοναδοτροπινών

(LHRH) από τον υποθάλαμο *in vitro*. Η προγεστερόνη και οι μεταβολίτες της έχουν επίσης αποδειχθεί ισχυροί αναστολείς της σύσπασης των λείων μυικών ινών της μήτρας (137).

Η αδυναμία της ταμοξιφαίνης να ανατρέψει πλήρως τη δράση των οιστρογόνων, όπως επίσης και η απουσία υποδοχέων στεροειδών στον υπεζωκότα, υποθέτει την ύπαρξη ενός μη ενδοκυττάριου υποδοχέα ή υποδοχέα άλλου συστήματος ή κάποιον άλλο από τους προτεινόμενους μηχανισμούς. Διασταυρούμενη αντίδραση (cross-talking) μεταξύ διαφορετικών μεμβρανικών υποδοχέων έχει προηγουμένα περιγραφεί σε διάφορους ιστούς (72).

Η ταμοξιφαίνη μόνη της προκάλεσε μια αύξηση της  $R_{TE}$  και στα δύο πέταλα του υπεζωκότα. Η αύξηση ήταν γρήγορη, με την ίδια διάρκεια αλλά μικρότερη σε σχέση με αυτή των οιστρογόνων και της προγεστερόνης. Η ταμοξιφαίνη έχει βρεθεί να αναστέλλει την ανάπτυξη μη ορμονοευαίσθητων κυττάρων καρκίνου του μαστού, τα οποία δεν εκφράζουν υποδοχείς οιστρογόνων. Επίσης το φάρμακο αυτό βρέθηκε να είναι αποτελεσματικό στη θεραπεία όγκων αρνητικών για υποδοχείς οιστρογόνων, όπως ο καρκίνος πνεύμονα, ο καρκίνος εγκεφάλου και το μελάνωμα (101). Επιπρόσθετα έχει μια γρήγορη και ουσιαστική ανασταλτική επίδραση στο δυναμικό ενέργειας και στα ρεύματα  $Ca^{2+}$  σε κύτταρα υπόφυσης (κυτταρική σειρά CH3/B6) (145). Αυτό δείχνει ότι η ταμοξιφαίνη εκτός από τη δράση

της σαν αντιοιστρογόνο, έχει επιδράσεις και σε άλλα κρίσιμα συστατικά των ενδοκυττάρων οδών επικοινωνίας. Ο μοριακός μηχανισμός όμως αυτής της μη εξαρτώμενης από τους υποδοχείς οιστρογόνων δράσης δεν είναι γνωστός μέχρι σήμερα. Επιπλέον η ταμοξιφαίνη παρουσίασε μερική ανταγωνιστική δράση. Έτσι, η ταμοξιφαίνη έχει ταυτόχρονα μερική ανταγωνιστική και αγωνιστική δράση στον ίδιο ιστό. Οι E. Castro-Rivera και S. Safe έδειξαν παρόμοια αποτελέσματα σε κύτταρα από αδenoκαρκίνωμα ενδομητρίου (24).

Τα οιστρογόνα μειώνουν τη διαπερατότητα του υπεζωκότα αυξάνοντας την  $R_{TE}$ . Οι μηχανισμοί με τους οποίους τα οιστρογόνα αυξάνουν την  $R_{TE}$  δεν είναι γνωστοί. Ένας πιθανός μηχανισμός είναι να προκαλούν άμεσες αλλαγές στο μέγεθος των κυττάρων του υπεζωκότα και αυτές οι αλλαγές να επηρεάζουν την  $R_{TE}$ . Γρήγορες αλλαγές στο μέγεθος των κυττάρων μπορεί να είναι αποτέλεσμα δύο κυρίως μηχανισμών: οξεία μετακίνηση ύδατος, η οποία συνήθως είναι δευτεροπαθής σε οξείες αλλαγές στη διακίνηση  $Na^+$  ή  $Cl^-$ , ή αναδιάταξη των πρωτεϊνών του κυτταροσκελετού. Άλλοι μηχανισμοί με τους οποίους τα οιστρογόνα ρυθμίζουν το μέγεθος των υπεζωκοτικών κυττάρων, είναι αλλαγές στη διαπερατότητα της μεμβράνης (174), ρύθμιση της διακυττάριας κίνησης ύδατος (22) και ρύθμιση μηχανισμών μεταφοράς ιόντων όπως η  $Na^+ - K^+$  ATPάση (35), οι διάλυτοι  $K^+$  (135) ή  $Ca^{2+}$  (163). Το οξείδιο του



αζώτου έχει βρεθεί να αναστέλλει τους διαύλους  $\text{Na}^+$  την αντλία  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  και την διευκολυνόμενη διάχυση  $\text{Na}^+$  στα κυψελιδικά κύτταρα τύπου II (69,106) όπως επίσης και σε καλλιέργειες επιθηλιακών κυττάρων πνεύμονα (38). Έτσι το οξείδιο του αζώτου μπορεί να τροποποιεί τη διαπερατότητα με έναν ή περισσότερους από τους παραπάνω μηχανισμούς. Τα βιοχημικά βήματα με τα οποία η 17β οιστραδιόλη και η προγεστερόνη αυξάνουν την  $R_{TE}$  στον τοιχωματικό και στον πνευμονικό υπεζωκότα δεν έχουν ξεκαθαριστεί, αλλά η παραγωγή του οξειδίου του αζώτου μπορεί να είναι ένας από τους τρόπους με τους οποίους διαμεσολαβείτε το άμεσο αποτέλεσμα αυτών των ορμονών.

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα είναι ένας από τους στόχους των ορμονών του φύλου, των οιστρογόνων και της προγεστερόνης. Στα ενδοθήλια μερικές από τις δράσεις των οιστρογόνων γίνονται διαμέσου του συστήματος του NO. Το οξείδιο του αζώτου μπορεί να ρυθμίσει τη διαπερατότητα επιθηλιακών και ενδοθηλιακών ιστών, αλλά υπάρχει μια σημαντική συζήτηση που αφορά το ρόλο του NO σαν μεσολαβητή της διαπερατότητας. Η δόσοεξαρτώμενη επίδραση της 17β οιστραδιόλης και της προγεστερόνης στη μείωση της διαπερατότητας συνδέεται με την επίδραση αυτών των ορμονών στην αύξηση του οξειδίου του αζώτου. Αυτή η σχέση υποθέτει ότι το NO μεσολαβεί τη μείωση της διαπερατότητας. Οι έρευνες σε σχέση με την επίδραση του NO στη διαπερατότητα δεν είναι σε πλήρη συμφωνία. Το NO βρέθηκε να μειώνει τη διαπερατότητα σε ανθρώπινα ενδοθηλιακά

κύτταρα ομφαλικής και πνευμονικής αρτηρίας (173), όπως επίσης και στη στεφανιαία κυκλοφορία του ποντικού (48), ενώ προκαλεί αύξηση της διαπερατότητας σε ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα ομφαλικής φλέβας (29). Όπως έχει αναφερθεί και από άλλους ερευνητές (121,139), στην παρούσα μελέτη το L-NAME δεν απέτρεψε πλήρως την αύξηση της  $R_{TE}$ . Μία πιθανή εξήγηση για την αδυναμία της πλήρους αναστολής θα μπορούσε να είναι η συγκέντρωση του L-NAME που χρησιμοποιήθηκε, να μην είναι επαρκής ώστε να αναστείλει όλη τη συνθάση του οξειδίου του αζώτου. Εναλλακτικά, το οξείδιο του αζώτου μπορεί να δρα σε συνδυασμό με άλλους παράγοντες που προκαλούν χάλαση ή υπερπόλωση ή να τροποποιεί την απάντηση του ιστού σε αυτούς τους παράγοντες (45,112).

Η επίδραση των ορμονών στις ηλεκτρικές ιδιότητες της μεμβράνης είναι εξαιρετικής σημασίας για τις αλλαγές των λειτουργιών του κυττάρου. Ένα σταθερό ορμονικό επίπεδο ή αλλαγές σ' αυτό όπως συμβαίνει σε διάφορες καταστάσεις, επιδρά στις διαδικασίες της μεμβράνης και με πολλούς τρόπους καθορίζει τα βασικά επίπεδα της κυτταρικής διαπερατότητας όπως και αλλαγές της διαπερατότητας κάτω από την επίδραση ποικίλων καταστάσεων στον οργανισμό. Η αύξηση της  $R_{TE}$  απαιτούσε υψηλές συγκεντρώσεις  $17\beta$  οιστραδιόλης και προγεστερόνης, που είναι υπερφυσιολογικές για μία γυναίκα. Ωστόσο σε συγκεκριμένες συνθήκες οι ιστοί μπορεί να εκτεθούν σε υψηλά επίπεδα στεροειδών

ορμονών. Η εγκυμοσύνη όπως και το σύνδρομο υπερδιέγερσης ωθηκών είναι δύο καταστάσεις, στις οποίες παρατηρούνται υψηλά επίπεδα οιστρογόνων και προγεστερόνης. Επιπρόσθετα η ορμονική διέγερση εμπλέκεται στην παθογένεια του συνδρόμου Meigs. Κατά τη διάρκεια αυτών των τριών καταστάσεων η διαπερατότητα των μεμβρανών τροποποιείται, και οι στεροειδείς ορμόνες μπορεί να έχουν ένα σημαντικό ρόλο σ' αυτό. Επειδή οι αλλαγές της  $R_{TE}$  αντανακλούν τη διακίνηση των ιόντων και έτσι και του ύδατος, είναι πιθανό η προκαλούμενη από τα στεροειδή μείωση της διαπερατότητας να οδηγεί σε αυξανόμενη συγκέντρωση υπεζωκοτικού υγρού και στη συνέχεια σε μείωση της ικανότητας του υγρού να εξέλθει από την υπεζωκοτική κοιλότητα.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα της μελέτης συνηγορούν υπέρ των ακόλουθων συμπερασμάτων:

1. Ο υπεζωκότας συμμετέχει ενεργητικά στη μετακίνηση υγρού και διαλυτών ουσιών. Φαίνεται πως υπάρχει μετακίνηση  $\text{Na}^+$  και  $\text{K}^+$  και στα δύο πέταλα του υπεζωκότα γιατί παρατηρήθηκε αύξηση της αντίστασης της μεμβράνης όταν:
  - Ουαμπαΐνη προστέθηκε στην πλευρά προς τον ενδιάμεσο ιστό του πνευμονικού υπεζωκότα και στις δύο πλευρές τοιχωματικού υπεζωκότα.
  - Αμιλορίδη προστέθηκε στην πλευρά προς την υπεζωκοτική κοιλότητα του τοιχωματικού υπεζωκότα.
  - Νιτροπρωσσικό νάτριο προστέθηκε στην πλευρά προς την υπεζωκοτική κοιλότητα του τοιχωματικού υπεζωκότα και από τις δύο πλευρές του πνευμονικού υπεζωκότα.
2. Τόσο ο τοιχωματικός όσο και ο πνευμονικός υπεζωκότας παρουσιάζουν μείωση της διαπερατότητας μετά από έκθεσή τους σε  $17\beta$  οιστραδιόλη και προγεστερόνη.
3. Οι επιδράσεις και των δύο ορμονών είναι άμεσες (είναι εμφανείς στο πρώτο λεπτό της έκθεσης και διαρκούν περίπου 15 λεπτά).

4. Δεν φαίνεται να διαμεσολαβούνται μέσω των κλασικών κυτταροπλασματικών υποδοχέων γιατί:
- Η ταμοξιφαίνη δεν αναστέλλει πλήρως τη δράση της 17β οιστραδιόλης.
  - Δεν βρέθηκαν κυτταροπλασματικοί υποδοχείς οιστρογόνων και προγεστερόνης στον υπεζωκότα.
5. Η μείωση της διαπερατότητας πιθανόν να οφείλεται σε αύξηση της παραγωγής οξειδίου του αζώτου.
6. Αυτή η αύξηση μπορεί να έχει σημαντικό ρόλο στην τροποποίηση της διαπερατότητα των επιθηλίων σε καταστάσεις όπως η εγκυμοσύνη, το σύνδρομο υπερδιέγερσης ωθηκών και το σύνδρομο Meigs.
7. Το μοντέλο διακίνησης του υπεζωκοτικού υγρού περιλαμβάνει την ύπαρξη αντλίας  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  και από τις δύο πλευρές του υπεζωκότα, όπως και τη μετακίνηση  $\text{Na}^+$  και την ανταλλαγή ιόντων  $\text{Na}^+ - \text{H}^+$  από τα πέταλα του υπεζωκότα

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η υπεζωκοτική κοιλότητα είναι ένας πραγματικός χώρος μεταξύ των πνευμόνων και του θωρακικού τοιχώματος. Περιέχει μια μικρή ποσότητα υπεζωκοτικού υγρού και διευκολύνει τις κινήσεις των πνευμόνων μέσα στη θωρακική κοιλότητα. Παρόλο που αυτή είναι η κύρια λειτουργία της υπεζωκοτικής κοιλότητας, εξάλειψη της κοιλότητας είτε χειρουργικά είτε χημικά δεν εμποδίζει σημαντικά την ικανότητα των ατόμων να αναπνέουν. Από την άλλη πλευρά νοσήματα των πετάλων του υπεζωκότα ή συλλογή υγρού στην υπεζωκοτική κοιλότητα μπορεί να επηρεάσει σημαντικά την αναπνοή.

Έχει προταθεί ότι η υπεζωκοτική κοιλότητα προσφέρει επίσης μια ασφαλή οδό απομάκρυνσης του υγρού του πνευμονικού οιδήματος. Αν και μεγάλη ποσότητα υγρού στην υπεζωκοτική κοιλότητα προκαλεί συμπτώματα, έχει λιγότερο αρνητική επίδραση στην αναπνοή από ότι ο ίδιος όγκος υγρού στο πνευμονικό παρέγχυμα. Ο τοιχωματικός υπεζωκότας έχει σημαντικό ρόλο στην απομάκρυνση του υπεζωκοτικού υγρού.

Σύμφωνα με την επικρατούσα θεωρία η διακίνηση του υπεζωκοτικού υγρού στηρίζεται στις διαφορές των πιέσεων μεταξύ των δύο πετάλων του υπεζωκότα. Η ύπαρξη ενεργητικής μεταφοράς και διάχυσης ουσιών έχει γίνει αντικείμενο έρευνας με αντικρουόμενα αποτελέσματα. Υπάρχουν ακόμη αναπάντητα ερωτήματα και σημαντικές διαφωνίες για τη

φυσιολογική σημασία του υπεζωκοτικού υγρού και για τη φύση των δυνάμεων που κατευθύνουν τη διακίνηση του προς τα μέσα και έξω από την υπεζωκοτική κοιλότητα.

Η διακίνηση ηλεκτρολυτών και η επίδραση στεροειδών ορμονών εξετάστηκε σε υπεζωκότα προβάτου. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν ακέραια τμήματα τοιχωματικού και πνευμονικού υπεζωκότα από 80 ενήλικα πρόβατα (θηλυκά και αρσενικά). Τα δείγματα μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο σε οξυγονωμένο διάλυμα Krebs στους 4° C εντός μισής ώρας από το θάνατο του ζώου. Στη συνέχεια ο υπεζωκότας τοποθετήθηκε σε μια αντλία τύπου Ussing, με διάλυμα Krebs και από τις δύο πλευρές, οξυγονώνονταν συνεχώς και διατηρούνταν σε θερμοκρασία 37° C. Μελετήθηκαν η ανάπτυξη διαφοράς δυναμικού και οι επιδράσεις του νιτροπρωσσικού νατρίου, της ουαμπαίνης, της αμιλορίδης, της 17β οιστραδιόλης και της προγεστερόνης στην ηλεκτρική αντίσταση ( $R_{TE}$ ) της μεμβράνης.

Η διαφορά δυναμικού που αναπτύχθηκε στον τοιχωματικό υπεζωκότα ήταν  $0,5 \pm 0,1$  mV ενώ στον πνευμονικό ήταν  $0,4 \pm 0,1$  mV. Η αντίσταση και για τα δύο πέταλα του υπεζωκότα ήταν χαμηλή,  $22,02 \pm 4,1$   $\Omega$  cm<sup>2</sup> για τον πνευμονικό υπεζωκότα και  $22,03 \pm 3,5$   $\Omega$  cm<sup>2</sup> για τον τοιχωματικό υπεζωκότα. Αύξηση της  $R_{TE}$  παρατηρήθηκε όταν νιτροπρωσσικό νάτριο προστέθηκε στην πλευρά προς την υπεζωκοτική κοιλότητα του

τοιχωματικού υπεζωκότα και στην έσω ή έξω πλευρά του πνευμονικού υπεζωκότα. Το ίδιο παρατηρήθηκε και όταν ουαμπαίνη προστέθηκε στην πλευρά προς τον ενδιάμεσο ιστό του πνευμονικού υπεζωκότα και στον τοιχωματικό υπεζωκότα και από τις δύο πλευρές. Επιπλέον υπήρξε αύξηση της  $R_{TE}$  όταν αμιλορίδη προστέθηκε στην πλευρά προς την υπεζωκοτική κοιλότητα του τοιχωματικού υπεζωκότα.

Αύξηση της  $R_{TE}$  υπήρξε σε όλα τα δείγματα που εξετάστηκαν μετά τη προσθήκη 17β οιστραδιόλης και προγεστερόνης σε τοιχωματικό και πνευμονικό υπεζωκότα. Η αύξηση ήταν άμεση, στο πρώτο λεπτό της έκθεσης, διαρκούσε περίπου 15 λεπτά, επέστρεφε στα αρχικά επίπεδα σε 30-45 λεπτά και ήταν δοσοεξαρτώμενη. Η ταμοξιφαίνη, ένας ανταγωνιστής των υποδοχέων της οιστραδιόλης, δεν ανέστειλε πλήρως την επίδραση της οιστραδιόλης. Επιπλέον υποδοχείς οιστρογόνων και προγεστερόνης δεν αναγνωρίστηκαν στα πέταλα του υπεζωκότα. Η εξαρτώμενη από τα οιστρογόνα και την προγεστερόνη αύξηση της  $R_{TE}$  επηρεάστηκε από την προσθήκη ενός αναστολέα της συνθάσης του οξειδίου του αζώτου. Πράγματι η προσθήκη του αναστολέα απέτρεψε τη αύξηση της  $R_{TE}$ .

Συμπερασματικά φαίνεται πως υπάρχει μετακίνηση ιόντων και στα δύο πέταλα του υπεζωκότα. Τα μεσοθηλιακά κύτταρα συμμετέχουν ενεργά στην ανταλλαγή νερού και ηλεκτρολυτών μεταξύ των τριχοειδών του υπεζωκότα και της υπεζωκοτικής κοιλότητας. Επιπρόσθετα τα οιστρογόνα



και η προγεστερόνη τροποποιούν τη διαπερατότητα του υπεζωκότα. Στην τροποποίηση της διαπερατότητας μπορεί να συμμετέχει η γρήγορη απελευθέρωση οξειδίου του αζώτου στον υπεζωκότα.

## SUMMARY

The pleural space is a real space between the lungs and the chest wall. It contains a small amount of fluid and facilitates smooth movement of the lungs within the thoracic cavity. Although this is a major function of the pleural space, obliteration of the space either surgically or chemically does not interfere significantly with an individual's ability to breathe. On the other hand, disease of the pleural membranes or excess fluid in the pleural space can have a significant effect on breathing.

It has been suggested that the pleural space also offers a safe route of egress for pulmonary edema fluid. Although a large amount of fluid in the pleural space can cause symptoms, it has a less negative impact on breathing than does the same volume of fluid within lung parenchyma. The parietal pleura plays a major role in the removal of pleural fluid.

By general consent, pleural liquid was entered from the parietal (high-pressure) pleura and was absorbed in the visceral (low-pressure) pleura. The occurrence of an active electrolyte transport and diffusion by mesothelial cells has become content of research with contradictory results. However, there are still unanswered questions and considerable controversies about the physiologic importance of pleural liquid and about the nature of the forces governing its movement into, within, and out of the pleural cavity.

The fluid and solute transport properties of pleura tissue were studied using specimens of intact visceral and parietal pleura from adult sheeps. The samples were transferred to the laboratory within 1 hour from the death of the animal in a Krebs-Ringer solution at 4°C. The pleura was then mounted as a planar sheet in Ussing-type chamber. The spontaneous potential difference and the inhibitory effects of nitroprusside sodium, ouabain, amiloride, 17β estradiol and progesterone on transepithelial electrical resistance ( $R_{TE}$ ) were measured.

The spontaneous potential difference across parietal pleura was  $0.5 \pm 0.1$  mV whereas that across visceral pleura was  $0.4 \pm 0.1$  mV. Electrical resistance of both pleura was very low  $22.02 \pm 4.1 \Omega \text{ cm}^2$  for visceral pleura and  $22.02 \pm 3.5 \Omega \text{ cm}^2$  for parietal pleura. There was increase in the  $R_{TE}$  when sodium nitroprusside was added to the serosal bathing solution of parietal pleura and to the serosal or mucosal bathing solution in visceral pleura. The same was observed when ouabain was added in mucosal surface of visceral pleura and either to the mucosal or serosal surface of parietal pleura. Furthermore, there was increase in  $R_{TE}$  when amiloride was added to the serosal bathing solution of parietal pleura.

There was an increase in  $R_{TE}$  in all of the samples examined after addition of 17β estradiol and progesterone in visceral and parietal pleura. This increase was rapid within 1 min, lasted for about 15 min, returned to

the basal level within 30-45 min, and was dose dependent. Tamoxifen, an estrogen receptor antagonist, did not completely inhibit the effect of  $17\beta$  estradiol; furthermore no steroid receptors were identified in cytosolic preparations of visceral and parietal pleura, with ligand binding assays. The estrogen and progesterone induced increase in  $R_{TE}$  was affected by addition of an inhibitor of the nitric oxide synthase in both visceral and parietal pleura. Indeed, previous administration of  $N^{\omega}$ -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) prevented the increase in  $R_{TE}$  by of  $17\beta$  estradiol and progesterone.

Consequently, the sheep pleura appear to play a role in the fluid and solute transport between the pleural capillaries and the pleural space. Their results suggest that there was a  $Na^+$  and  $K^+$  transport across either visceral or parietal pleura. Furthermore  $17\beta$  estradiol and progesterone induce an increase in  $R_{TE}$  in both visceral and parietal pleura and thus alter the transepithelial permeability. The effect of steroids may be accounted by rapid release of nitric oxide in pleura.

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

1. Agostoni E, and D'Angelo E. Pleural liquid pressure. *J. Appl. Physiol.* 71: 393-403, 1991.
2. Agostoni E, and Zocchi L. Solute-coupled liquid absorption from the pleural space. *Respir. Physiol.* 81: 19-27, 1990.
3. Agostoni E, and Zocchi L. Starling forces and lymphatic drainage in pleural liquid and protein exchanges. *Respir. Physiol.* 86: 271-281, 1977.
4. Aiba M, Inatomi K, and Homma H. Lymphatic system or hydro-oncotic forces. Which is more significant in drainage of pleural fluid? *Jap. J. Med.* 23: 27-33, 1984.
5. Albertine KH, Wiener-Kronish JP, and Staub NC. The structure of the parietal pleura and its relationship to pleural liquid dynamics in sheep. *Am. J. Anat.* 208: 401-409, 1984.
6. Albertine KH, Wiener-Kronish JP, Roos PJ, and Staub NC. Structure, blood supply, and lymphatic vessels of the sheep's visceral pleura. *Am. J. Anat.* 165: 277-294, 1982.
7. Armstrong W. The cell membrane and biological transport. *Physiology.* 1: 1-37, 1985.
8. Balabann RS, Mandel LJ, and Benos DJ. On the cross-reactivity of amiloride and 2,4,6 triaminopyrimidine (TAP) for the cellular entry and tight junctional cation permeation pathways in epithelia. *J. Membrane Biol.* 49: 363-390, 1979.
9. Barajas-Lopez C, and Huizinga JD. Ouabain-induced excitation of colonic smooth muscle due to block of  $K^+$  conductance by intracellular  $Na^+$  ions. *Eur. J. Pharmacol.* 221: 51-58, 1992.

10. Basset G, Bouchonnet F, Crone C, and Sammon G. Potassium transport across rat alveolar epithelium: evidence for an apical  $\text{Na}^+\text{-K}^+$  pump. *J. Physiol. (Lond.)* 400: 529-543, 1988.
11. Bassil S, DaCosta S, Toussaint-Demyelle D, Lampert M, Gordts S, and Donnez J. A unilateral hydrothorax as the only manifestation of ovarian hyperstimulation syndrome: a case report. *Fertil. Steril.* 66: 1023-1025, 1996.
12. Bassil S, Godin PA, Stallaert S, Nisolle M, DeCooman S, Donnez J, and Gordts S. Ovarian hyperstimulation syndrome: a review. *Assist. Reprod. Rev.* 5: 90-96, 1995.
13. Benos DJ. Introduction to physiology: Cellular membranes and transmembrane transport of solutes and water. *Am. J. Physiol.* 271: S2-S9, 1996.
14. Bhattacharya J, Gropper MA, and Staub NC. Interstitial fluid pressure gradient measured by micropuncture in excised dog lung. *J. Appl. Physiol.* 56: 271-277, 1984.
15. Bohlen HG, and Lash JM. Intestinal lymphatic vessels release endothelial-dependent vasodilators. *Am. J. Physiol.* 262: H813-H818, 1992.
16. Brann DW, Hendry LB, and Mahesh VB. Emerging diversities in the mechanism of action of steroid hormones. *J. Steroid. Biochem. Molec. Biol.* 52: 113-133, 1995.
17. Bression D, Michard M, Le Dafniet M, Pagesy P, and Peillon F. Evidence for a specific estradiol binding site on rat pituitary membranes. *Endocrinology.* 119: 1048-1051, 1986.
18. Broaddus VC, and Araya M. Liquid and protein dynamics using a new minimally invasive pleural catheter in rabbits. *J. Appl. Physiol.* 72: 851-857, 1992.
19. Broaddus VC, Araya M, Carlton DP, and Bland RD. Developmental changes in pleural liquid protein concentration in sheep. *Am. Rev. Respir. Dis.* 143: 38-41, 1991.
20. Broaddus VC, Kronish-Wiener JP, Berthiaume Y, and Staub NC. Removal of pleural liquid and protein by lymphatics in awake sheep. *J. Appl. Physiol.* 64: 384-390, 1988.

21. Butler JP, Huang SH, Lai-Fook SJ, Wang PM, and Wilson TA. Model for a pump that drives circulation of pleural fluid. *J. Appl. Physiol.* 78: 23-29, 1995.
22. Calamita G, Guevel Y LE, and Bourguet J. ADH-induced water permeability and particle aggregates: alteration by a synthetic estrogen. *Am. J. Physiol.* 261: F144-F152, 1991.
23. Carson-Jurica MA, Schrader WT, and O'Malley B. Steroid receptor family: structure and functions. *Endocr. Rev.* 11: 201-220, 1990.
24. Castro-Rivera E, and Safe S. Estrogen- and antiestrogen-responsiveness of HEC1A endometrial adenocarcinoma cells in culture. *J. Steroid. Biochem. Molec. Biol.* 64: 287-295, 1998.
25. Celermajer DS. Endothelial dysfunction: does it matter? Is it reversible? *J. Am. Coll. Cardiol.* 30: 325-333, 1997.
26. Chen Z, Yuhanna IS, Galcheva-Gargova Z, Karas RH, Mendelsohn ME, and Shaul PW. Estrogen receptor  $\alpha$  mediates the nongenomic of activation of endothelial nitric oxide synthase by estrogen. *J. Clin. Invest.* 103: 401-406, 1999.
27. Cho MM, Ziatas NP, Pal D, Utian WH, and Gorodeski GI. Estrogen modulates paracellular permeability of human endothelial cells by eNOS- and iNOS-related mechanisms. *Am. J. Physiol.* 276: C337-C349, 1999.
28. Cho MM, Ziats NP, Abdul-Karim FW, Pal D, Goldfarb J, Utian WH, and Gorodeski GI. Effects of estrogen on tight junctional resistance in cultured human umbilical vein endothelial cells. *J. Soc. Gynecol. Investig.* 5: 260-270, 1998.
29. Cho MM, Ziats NP, Pal D, Utian WH, and Corodeski GI. Estrogen modulates paracellular permeability of human endothelial cells by eNOS- and iNOS- related mechanisms. *Am. J. Physiol.* 276: C337-C349, 1999.

30. Coleman R, and Kan K. Oestradiol 17 $\beta$ -glucuronide and tight junctional permeability increase. *Biochem. J.* 226: 620-622, 1990.
31. Conhaim RB, McGrath AM, and Harms BA. Does plasma protein depletion increase lung liquid conductance? *Am. Respir. Crit. Care Med.* 153: 677-683, 1996.
32. Courtney Broaddus V, and Light RW. Disorders of the pleura: General principles and diagnostic approach. 100: 621-623, 1990.
33. D'Angelo E, Heisler N, and Agostoni E. Acid-base balance of pleural liquid in dogs. *Respir. Physiol.* 37: 137-149, 1979.
34. Daniel Y, Yaron Y, Oren M, Peyser MR, and Lessing JB. Ovarian hyperstimulation syndrome manifests as acute unilateral hydrothorax. *Hum. Reprod.* 10: 1684-1685, 1995.
35. Davis RA, Kern F, Showalter Jr R, Sutherland E, Sinensky M, and Simon FR. Alterations of hepatic Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase and bile flow by estrogen: Effects on liver surface membrane lipid structure and function. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 75:4130-4134, 1978.
36. Dawson DC. Permeability and conductance of ion channels. *Molecular Biology of Membrane Transport Disorders.* 5: 87-110, 1996.
37. Diamond J.M. Transport of salt and water in rabbit and guinea pig gall bladder. *J. Gen. Physiol.* 48: 1-14, 1964.
38. Ding JW, Dickie J, O'Brodivich H, Shintani V, Rafii B, Hacham D, Marunaka Y, and Rotstein OD. Inhibition of amiloride-sensitive sodium- channel activity in distal lung epithelial cells by nitric oxide. *Am. J. Physiol.* 274: L378-L387, 1998.
39. Drake R, Giesler M, Laine G, Gabel J, and Hansen T. Effect of outflow pressure on lung lymph flow in unanesthetized sheep. *J. Appl. Physiol.* 58: 70-76, 1985.



40. Drake RE, and Gabel JC. Pulmonary edema fluid clearance pathways. *NIPS* 10: 107-111, 1995.
41. Dubinsky WP, and Mayorga-Wark O. Methods of reconstitution of ion channels. *Molecular Biology of Membrane Transport Disorders*. 4: 73-86, 1996.
42. Dufy B, Partouche C, Poulain D, Dufy-Barde L, and Vincent J.D. Effects of estrogen on the electrical activity of identified and unidentified hypothalamic units. *Neuroendocrinology* 22: 38-47, 1976.
43. Dufy B, Vincent JD, Fleury H, Du Pasquier P, Gourdji D, and Tixier-Vidal A. Membrane effect of thyrotropin-releasing hormone and estrogen shown by, intracellular recording from pituitary cells. *Science* 204: 509-511, 1979.
44. Engelberg J, and Radin J. Tracheal-vascular and vascular-pleural potential in the rat lung. *Respir. Physiol.* 34: 253-263, 1977.
45. Faleton M, and Vanhoutte PM. Endothelium-dependent hyperpolarization of the canine coronary artery smooth muscle. *Br. J. Pharmacol.* 93: 515-524, 1988.
46. Falkenstein E, Norman AW, and Wehling M. Mannheim classification of nongenomically initiated (rapid) steroid action(s). *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85: 2072-2075, 2000.
47. Ferguson MK, and DeFilippi VJ. Nitric oxide and endothelium-dependent relaxation in tracheobronchial lymph vessels. *Microvas. Res.* 47: 308-317, 1994.
48. Filep JG, Foldes-Filep E, and Sirois P. Nitric oxide modulates vascular permeability in rat coronary circulation. *Br. J. Pharmacol.* 108: 323-326, 1993.
49. Fiorelli G, Gori F, Frediani U, Franceschelli F, Tanini A, Tosti-Guerra C, Benvenuti S, Gennari L, Becherini L, and Brandi ML. Membrane binding sites and non-genomic effects of estrogen in cultured human preosteoclastic cells. *J. Steroid. Molec. Biol.* 59: 233-240, 1996.

50. Frazier H.S. The electrical potential profile of the isolated toad bladder. *J. Gen. Physiol.* 45: 515-528, 1962.
51. Frol'kis VV. Hormonal regulation of electrical properties of cell membrane. *Neurosci. Behav. Physiol.* 10: 92-98, 1980.
52. Fromter I, and Diamond J.M. Route of passive ion permeation in epithelia. *Nature New Biol.* 235: 9-13, 1972.
53. Galletta LJ, Musante L, Romio L, Caruso U, Fantasia A, Gazzolo A, Romano L, Sacco O, Rossi GA, Varesio L, and Zegarra-Moran O. An electrogenic amino acid transporter in the apical membrane of cultured human bronchial epithelial cells. *Am. J. Physiol.* 275: L917-L923, 1998.
54. Garty H, and Benos DJ. Characteristics and regulatory mechanisms of amiloride-blockable Na<sup>+</sup> channel. *Physiol. Rev.* 68: 309-373, 1988.
55. Giannacopoulos K, Giannacopoulou C, Mataliotakis I, Neonaki M, Papanikolaou N, and Koumantakis E. Pseudo-Meigs' syndrome caused by papovarian fibroma. *Eur. J. Gynecol. Oncol.* 19: 389-390, 1998.
56. Gorodeski GI, and Goldfarb J. Extracellular ATP regulate transcervical permeability by modulating two distinct paracellular pathways. *Am. J. Physiol.* 272: C1602-C1610, 1997.
57. Gorodeski GI, Desantis BJ, Goldfarb J, Utian WH, and Hopfer U. Osmolar changes regulate the paracellular permeability of cultured human cervical epithelium. *Am. J. Physiol.* 269: C870-C877, 1995.
58. Gorodeski GI, Jin W, and Hopfer U. Extracellular Ca<sup>2+</sup> directly regulates tight junctional permeability in the human cervical cell line CaSki. *Am. J. Physiol.* 272: C511-C524, 1997.

59. Gorodeski GI, Peterson DE, Desantis BJ, and Hopfer U. Nucleotide receptor-mediated decrease of tight junctional permeability in cultured human cervical epithelium. *Am. J. Physiol.* 270: C1715-C1725, 1996.
60. Gorodeski GI, Yang T, Levy MN, Goldfarb J, and Utian WH. Effects of estrogen in vivo on coronary vascular resistance in perfused rabbit hearts. *Am. J. Physiol.* 269: R1333-R1338, 1995.
61. Gorodeski GI. Estrogen increases the permeability of the cultured human cervical epithelium by modulating cell deformability. *Am. J. Physiol.* 275: C888-C899, 1998.
62. Gorodeski GI. The cultured human cervical epithelium: A new model for studying paracellular transport. *J. Soc. Gynecol. Investig.* 3: 267-280, 1996.
63. Gourgoulianis KI, Karantanas AH, Diminikou G, and Molyvdas PA. Benign postpartum pleural effusion. *Eur. Respir. J.* 8: 1748-1750, 1995.
64. Gourgoulianis KI, Karantanas and Molyvdas PA. Peripartum pleural effusion. *Chest* 111: 1467-1468, 1997.
65. Gourgoulianis KI. Diagnostic value of adenosine deaminase activity in tuberculous effusions. *Eur. Respir. J.* 3: 1098, 1990.
66. Grichois ML, Franck D, Brossard M, and De Mendonca M. Irreversible changes in rat erythrocyte Na<sup>+</sup> transport systems with progesterone and estradiol administration. *Clin. Exp. Hypertens.* 8: 1295-1311, 1986.
67. Gu Q, and Moss RL. Novel mechanism for non-genomic action of 17 $\beta$ -oestradiol on kainite-induced currents in isolated rat CA1 hippocampal neurons. *J. Physiol (Lond).* 506: 745-754, 1998.
68. Gumbiner BM. Structure, biochemistry, and assembly of epithelial tight junctions. *Am. J. Physiol.* 253: C749-C758, 1987.

69. Guo V, Duvall MD, Crow JP, and Matalon S. Nitric oxide inhibits Na<sup>+</sup> absorption across cultured alveolar type II monolayers *Am. J. Physiol.* 274: L369-L377, 1998.
70. Haning RV, Strawn EY, and Nolten WE. Pathophysiology of the ovarian hyperstimulation syndrome. *Obstet. Gynecol.* 66: 220-224, 1985.
71. Harris BJ, Chatton JY, Tran PH, Bungay PM, and Spring KR. pH, morphology, and diffusion in lateral intercellular spaces of epithelial cell monolayers. *Am. J. Physiol.* 266: C73-C80, 1994.
72. Hatzoglou A, Ouafik L, Bakogeorgou E, Thermos K, and Castanas E. Morphine cross-peaks peaks with somatostatin receptor SSTR2 in the T47D human breast cancer cell line and decreases cell growth. *Cancer Res.* 55: 5632-5635, 1995.
73. Hayashi T, Yamada K, Esaki T, Kuzuya M, Satake S, Ishikawa T, and Igushi A. Estrogen increases endothelial nitric oxide by receptor-mediated system. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 214: 847-855, 1995.
74. Hayashi T, Yamada K, Esaki T, Muto E, Chaudhuri G, and Igushi A. Physiological concentrations of 17 $\beta$ - estradiol inhibit the synthesis of nitric oxide synthase in macrophages via a receptor-mediated system. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 31: 292-298, 1998.
75. Heffner JE, and Sahn SA. Pleural disease in pregnancy. *Clin. Chest Med.* 13: 667-678, 1992.
76. Ho Yuen B, McComb P, Sy L, Lewis J, and Cannon W. Plasma prolactin, human chorionic gonadotropin, estradiol, testosterone, and progesterone in the ovarian hyperstimulation syndrome. *Am. J. Obst. Gynecol.* 133: 316-320, 1979.
77. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, and Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 84: 9265-9269, 1987.

78. Jaurand MC, Fleury-Feith J, Bernaudin JF, and Bignon J. Pleural mesothelial cells. *The Lung*. 65: 961-969, 1997.
79. Jewelewitz R, and Van de Wiele RI. Acute hydrothorax as the only symptom of ovarian hyperstimulation syndrome. *Am. J. Obst. Gynecol.* 121: 1121-1122, 1975.
80. Jicheng LI. Ultrastructural study on the pleural stomata in human. *Funct. Dev. Morphol.* 3: 277-280, 1993.
81. Jordan VC. The strategic use of antiestrogens to control the development and growth of breast cancer. *Cancer*. 70: 977-982, 1992.
82. Kan KS, Monte MJ, Parslow RA, and Coleman R. Oestradiol 17 $\beta$ -glucuronide increases tight junctional permeability in rat liver. *Biochem. J.* 221: 297-300, 1989.
83. Kazanov L, Ander DS, Enriquez E, and Jaggi FM. Pseudo-Meigs' syndrome. *Am. J. Emerg. Med.* 16: 404-405, 1998.
84. Ke FC, and Ramirez VD. Membrane mechanism mediates progesterone stimulatory effect on LHRH release from superfused rat hypothalami in vitro. *Neuroendocrinology*. 45:514-517, 1987.
85. Kedar RP, Bourne TH, Powles TJ, Collins WP, Ashley SE, Cosgrove DO, and Campbell S. Effects of tamoxifen on uterus and ovaries of postmenopausal women in a randomized breast cancer prevention. *Lancet* 343: 1318-1321, 1994.
86. Kelley TJ, Cotton CU, and Drumm ML. Regulation of amiloride-sensitive sodium absorption in murine airway epithelium by C-type natriuretic peptide. *Am. J. Physiol.* 274: L990-L996, 1998.
87. Kim HP, Lee JY, Jeong JK, Bae SW, Lee HK, and Jo I. Nongenomic stimulation of nitric oxide release by estrogen is mediated by estrogen  $\alpha$  localized in caveolae. *Biochem. Biophys. Rec. Commun.* 263: 257-262, 1999.

88. Kim KJ, McElroy-Critz A, and Crandall ED. Transport of water and solutes across sheep visceral pleura. *Am. Rev. Respir. Dis.* 120: 883-892, 1979.
89. Kinasewitz GT, Groome LJ, Marshall RP, and Diana JN. Permeability of the canine visceral pleura. *J. Appl. Physiol.* 55: 121-130, 1983.
90. Kinasewitz GT, Groome LJ, Marshall RP, Leslie WK, and Diana JD. Effect of hypoxia on permeability of pulmonary endothelium of canine visceral pleura. *J. Appl. Physiol.* 61: 554-560, 1986.
91. Kinasewitz, GT, and Fishman AP. Influence of alterations in starling forces on visceral pleural fluid movement. *J. Appl. Physiol.* 51: 671-677, 1981.
92. Krambovitis E, Hatzidakis G, Hatzoglou A, Romain S, Durand A, Stefanakis A, and Castanas E. Estrogen and progesterone receptors in breast cancer microsamples simultaneously quantified by enzyme-ligand immunoassay. *Clin Chem* 41:48-53, 1995.
93. Kronish-Wiener JP, Albertine KH, Licko V, and Staub NC. Protein egress and entry rates in pleural fluid and plasma in sheep. *J. Appl. Physiol.* 56: 459-463, 1984.
94. Kronish-Wiener JP, and Broaddus VC. Interrelationship of pleural and pulmonary interstitial liquid. *Annu. Rev. Physiol.* 55: 209-226, 1993.
95. Kubes P, and Granger N. Nitric oxide modulates microvascular permeability. *Am. J. Physiol.* 262: H611-H615, 1992.
96. Kubes P. Nitric oxide-induced microvascular permeability alterations: a regulatory role for cGMP. *Am. J. Physiol.* 265: H1909-H1915, 1993.
97. Kutchai HC. Φυσιολογία του κυττάρου. *Αρχές Φυσιολογίας.* 1: 3-23, 1999.
98. Lai-Fook SJ, and Rodarte JR. Pleural pressure distribution and its relationship to lung volume and interstitial pressure. *J. Appl. Physiol.* 70: 967-978, 1991.

99. Lantin-Hermoso RL, Rosenfeld CR, Yuhanna IS, German Z, Chen Z, and Shaul PW. Estrogen acutely stimulates nitric oxide synthase activity in fetal pulmonary artery endothelium. *Am. J. Physiol.* 273: L119-L126, 1997.
100. Leak LV, and Rahil K. Permeability of the diaphragmatic mesothelium: The ultrastructural basis for “stomata”. *Am. J. Anat.* 151: 557-594, 1978.
101. Lee TH, Chuang LY, and Hung WC. Tamoxifen induces p21<sup>WAF1</sup> and p27<sup>KIP1</sup> expression in estrogen receptor-negative lung cancer cells. *Oncogene.* 18: 4269-4274, 1999.
102. Lewis SA, and Diamond JM. Na<sup>+</sup> transport by rabbit urinary bladder, a tight epithelium. *J. Membr. Biol.* 28: 1-40, 1976.
103. Li KX, and Sperelakis N. Electrogenic Na-K pump current in rat skeletal myoballs. *J. Cell. Physiol.* 159: 181-186, 1994.
104. Liaw YS, Yang PC, Yu CJ, Kuo SH, Luh KT, Lin YJ, and Wu ML. PKC activation is required by EGF-stimulated Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> exchanger in human pleural mesothelial cells. *Am. J. Physiol.* 274: L665-L672, 1998.
105. Love RR, Mazess RB, Barden HS, Epstein S, Newcomb PA, Jordan VC, Carbone PP, and DeMets DL. Effects of tamoxifen on bone mineral density in postmenopausal women with breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 326: 852-856, 1992.
106. Lucky J, Chen XJ, Brown LA, and Eaton DC. Nitric oxide inhibits lung sodium transport through a cGMP-mediated inhibition of epithelial cation channels. *Am. J. Physiol.* 274: L475-L484, 1998.
107. Man A, Schwarz Y, and Greif J. Pleural effusion as a presenting symptom of ovarian hyperstimulation syndrome. *Eur. Respir. J.* 10: 2425-2426, 1997.
108. Manalis RS, and Hastings L. Electrical gradients across an ion-exchange membrane in student's artificial cell. *J. Appl. Physiol.* 36: 769-770, 1974.

109. Marel M, Stastny B, Melinova L, Svandova E, and Light RW. Diagnosis of pleural effusions. *Chest* 107: 1598-1603, 1995.
110. Mariassy AT, and Wheeldon EB. The pleura: A combined light microscopic, scanning, and transmission electron microscopic study in the sheep. *Exp. Lung Res.* 4: 293-313, 1983.
111. Mehta S, Boudreau J, Lilly CM, and Drazen JM. Endogenous pulmonary nitric oxide in regulation of airway microvascular leak. *Am. J. Physiol.* 275: L968-L998, 1998.
112. Miller VM, and Vanhoutte PM.  $17\beta$  Estradiol augments endothelium-dependent contractions to arachidonic acid in rabbit aorta. *Am. J. Physiol.* 258: R1502-R1507, 1988.
113. Miserocchi G, and Negrini D. Pleural space: Pressure and fluid dynamics. *The Lung.* 88: 1217-1225, 1997.
114. Miserocchi G, Hxhia-Poskurica B, and Del Fabbro M. Pulmonary interstitial pressure in anesthetized newborn rabbits. *J. Appl. Physiol.* 77: 2260-2268, 1994.
115. Miserocchi G, Venturoli D, and Nergini D. Model of pleura fluid turnover. *J. Appl. Physiol.* 75: 1798-1806, 1993.
116. Miserocchi G. Physiology and pathophysiology of pleural fluid turnover. *Eur. Respir. J.* 10: 219-225, 1997.
117. Moncada S, Palmer RMG, and Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol. Rev.* 43: 109-142, 1991.
118. Moohan JM, Curcio K, Leoni M, Healy D, and Hurley V. Low intraovarian vascular resistance: a marker for severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil. Steril.* 67: 728-732, 1997.



119. Morley P, Whitfield JF, Vanderhyden BC, Tsang BK, and Schwartz JL. A new, nongenomic estrogen action: The rapid release of intracellular calcium. *Endocrinology*. 131: 1305-1312, 1992.
120. Moss RL, GuO, and Wong M. Estrogen: nontranscriptional signaling pathway. *Recent. Prog. Horm. Res.* 52: 33-69, 1999.
121. Naess PA, Kirkeboen KA, Christence G, and Kiil F. Inhibition of renal nitric oxide synthesis with N<sup>G</sup>-monomethyl-L-arginine and N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine. *Am. J. Physiol.* 262:F939-F942, 1992.
122. Nathanson MH, Gautam A, NGOC, Bruck R, and Boyer JL. Hormonal regulation of paracellular permeability in isolated rat hepatocyte couplets. *Am. J. Physiol.* 262: G1079-G1086, 1992.
123. Negrini D, Ballard ST, and Benoit JN. Contribution of lymphatic myogenic activity and respiratory movements to pleural lymph flow. *J. Appl. Physiol.* 76: 2267-2274, 1994.
124. Negrini D, Del Fabbro M, and Venturoli D. Fluid exchanges across the parietal peritoneal and pleural mesothelia. *J. Appl. Physiol.* 74: 1779-1784, 1993.
125. Negrini D, Mukenge S, Del Fabbro M, Gonano C, and Miserocchi G. Distribution of diaphragmatic lymphatic stomata. *J. Appl. Physiol.* 90: 1544-1549, 1991.
126. Negrini D, Townsley MI, and Taylor AE. Hydraulic conductivity of the canine parietal pleura in vivo. *J. Appl. Physiol.* 69: 438-442, 1990.
127. Nemere I, and Farach-Carson MC. Membrane receptors for steroid hormones: A case for specific cell surface binding sites for vitamin D metabolites and estrogens. *Biochem. Biophys. Rec. Commun.* 248: 443-449, 1998.

128. Nordeen SK, Moyer ML, and Bona BJ. The coupling of multiple signal transduction pathways with steroid response mechanisms. *Endocrinology*. 134: 1723-1732, 1994.
129. Palmer LG. Sodium transport by epithelial cells. *Molecular Biology of Membrane Transport Disorders*. 22: 447-468, 1996.
130. Palmer RMG, Ferrige AG, and Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 327: 524-526, 1987.
131. Payne DK, Kinasewitz GT, and Gonzales E. Comparative permeability of canine visceral and parietal pleura. *J. Appl. Physiol*. 65: 2558-2564, 1988.
132. Pietras RJ, and Szego CM. Endometrial cell calcium and estrogen action. *Nature* 253: 357-359, 1975.
133. Pietras RJ, Szego CM. Specific binding sites for oestrogen at outer surfaces of isolated endometrial cells. *Nature*. 265: 69-72, 1977.
134. Pistolesi M, Miniati M, and Giuntini C. Pleural liquid and solute exchange. *Am. Rev. Respir. Dis*. 140: 825-847, 1989.
135. Pragnell M, Snay KJ, Trimmer JS, Maclusky NJ, Naftolin F, Kaczmarrek LK, and Boyle MB. Estrogen induction of a small, putative K<sup>+</sup> channel mRNA in rat uterus. *Neuron*. 4: 807-812, 1990.
136. Prevot V, Croix D, Rialas CM, Poylain P, Fricchione GL, Stefano GB, and Beauvillain JC. Estradiol coupling to endothelial nitric oxide stimulates gonadotropin-releasing hormone release from rat median eminence via a membrane receptor. *Endocrinology*. 140: 652-659, 1999.
137. Putman CD, Brann DW, Kolbeck RC, and Machesh VB. Inhibition of uterine contractility by progesterone and progesterone metabolites: mediation by

- progesterone and gamma amino butyric acid<sub>A</sub> receptor systems. *Biol. Reprod.* 43: 266-272, 1991.
138. Rambo CO, and Szero CM. Estrogen action at endometrial membranes: alterations in luminal surface detectable within seconds. *J Cell Biol* 97:679-685, 1983.
139. Rees DD, Palmer RMJ, Hodson HF, and Moncada S. A specific inhibitor of nitric oxide formation From L-arginine attenuates endothelium-dependent relaxation. *Br. J. Pharmacol.* 96:418-424, 1989.
140. Robertson JA, Zhang Y, and Ing NH. ICI 182,780 acts as a partial agonist and antagonist of estradiol effects in specific cells of the sheep uterus. *J. Steroid. Biochem. Molec. Biol.* 77: 281-287, 2001.
141. Rolf LL, and Travis DM. Pleural fluid-plasma bicarbonate gradients in oxygen-toxic and normal rats. *Am. J. Physiol.* 224: 857-861, 1973.
142. Rossi GA, and Sacco O. Cells of the mesothelial space. *The Lung* 66: 971-980, 1997.
143. Rubanyi GM, Romero JC, and Vanhoutte PM. Flow-induced release of endothelium-derived relaxing factor. *Am. J. Physiol.* 250: H1145-H1149, 1986.
144. Sahn SA. The pathophysiology of pleural effusions. *Annu. Rev. Med.* 41: 7-13, 1990.
145. Sartor P, Vacher P, Mollard P, and Dufy B. Tamoxifen reduces calcium currents in a clonal pituitary cell line. *Endocrinology.* 123:534-540, 1998.
146. Schmidt BM, Gerdes D, Feuring M, Falkenstein E, Christ M, and Wehling M. Rapid, nongenomic steroid actions: A new age? *Neuroendocrinol.* 21: 57-94, 2000.
147. Schultz SG. A century of (epithelial) transport physiology: from vitalism to molecular cloning. *Am. J. Physiol.* 43: C13-C23, 1998.

148. Schust DJ, Anderson DJ, and Hill JA. Progesterone-induced immunosuppression is not mediated through the progesterone receptor. *Hum. Reprod.* 11: 980-985, 1996.
149. Shibagaki T, Hasegawa Y, Saito H, and Shimokata K. Adenosine deaminase isozymes in tuberculous pleural effusion. *J. Lab. Clin. Med.* 127: 348-352, 1996.
150. Shinohara H. Distribution of lymphatic stomata on the pleural surface of the thoracic cavity and surface topography of the pleural mesothelium in the golden hamster. *Anat. Rec.* 249: 16-23, 1997.
151. Shughrue PJ, and Merchenthaler I. Estrogen is more than just a 'Sex Hormone': Novel sites for estrogen action in the hippocampus and cerebral cortex. *Neuroendoc.* 21: 95-101, 2000.
152. Sperelakis N. Origin of resting membrane potentials. *Cell Physiology Source Book.* 6: 67-90, 1995.
153. Spring KR. Epithelial fluid transport- A century of investigation. *News Physiol. Sci.* 14: 92-100, 1999.
154. Stefano GB, Prevot V, Beauvillain JC, Fimiani C, Welters I, Gadet P, Breton C, Pestel J, Salzet M, and Bilfinger TV. Estradiol coupling to human nitric oxide release is dependent on intracellular calcium transients: Evidence for an estrogen surface receptor. *J. Immunol.* 163: 3758-3763, 1999.
155. Tack CJ, Lutterman JA, Vervoort G, Thien T, Smits P. Activation of the sodium-potassium pump contributes to insulin-induced vasodilation in humans. *Hypertention.* 28: 426-432, 1996.
156. Takahashi N, Kawai Y, and Ohhashi T. Effects of vasoconstrictive and vasodilative agents on lymphatic smooth muscles in isolated canine thoracic ducts. *J. Pharmacol.* 254: 165-170, 1990.

157. Thornborough JR, and Passo SS. The effects of estrogens on sodium and potassium metabolism in rats. *Endocrinology*. 97: 1528-1536, 1975.
158. Twchugguel W, Zhegu Z, Gajdzik L, Maier M, Binder BR, and Graf J. High precision measurement of electrical resistance across endothelial cell monolayers. *Pflügers Arch*. 430: 145-147, 1995.
159. Udeshi UL, McHugo JM, and Selwyn Crawford J. Postpartum pleural effusion. *Brit. J. Obst. Gynecol*. 95: 894-897, 1988.
160. Unno N, Menconi MJ, Smith M, Aguirre DE, and Fink M. Hyperpermeability of intestinal epithelial monolayers is induced by NO: effect of low extracellular pH. *Am. J. Physiol*. 272: G923-G934, 1997.
161. Urbach V, Kerkhove E, Maguire D, and Harvey BJ. Cross-talk between ATP-regulated K<sup>+</sup> channels and Na<sup>+</sup> transport via cellular metabolism in frog skin principal cells. *J. Physiol*. 491: 99-109, 1996.
162. Ussing HH, and Zerahn K. Active transport of sodium as the source of electric current in short-circuit isolated frog skin. *Acta Phy. Scandinav*. 23: 110-127, 1951.
163. Vamamoto T. Effects of estrogens on Ca channels in myometrial cells isolated from pregnant rats. *Am. J. Physiol*. 268: C64-C69, 1995.
164. Veille JC, Li P, Eisenach JC, Massmann AG, and Figueroa JP. Effects of estrogen on nitric oxide biosynthesis and vasorelaxant activity in sheep uterine and renal arteries in vitro. *Am. J. Obstet. Gynecol*. 174: 1043-1049, 1996.
165. Wang NS. Anatomy and physiology of the pleura space. *Clinics in chest medicine*. 6: 3-16, 1985.
166. Wang NS. The performed stomas connecting the pleural cavity and the lymphatics in the parietal pleura. *Am. Rev. Respir. Dis*. 111: 12-20, 1975.

167. Watson CS, Campell CH, and Gametchu B. Membrane oestrogen receptors on rat pituitary tumour cells: immuno-identification and responses to oestradiol and xenoestrogens. *Exp. Physiol.* 84: 1013-1022, 1999.
168. Wehling M. Looking beyond the dogma of genomic steroid action: insights and facts of 1990s. *J. Mol. Med.* 73: 439-447, 1995.
169. Weinaker A. Pleural disease. *Pulmonary pathophysiology.* 11: 239-267, 1999.
170. Weinstein SP, Kostellow AB, Ziegler DH, and Morrill GA. Progesterone-induced down-regulation of an electrogenic  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase during the first meiotic division in amphibian oocytes. *J. Membr. Biol.* 69: 41-48, 1982.
171. Weiss D, and Gurpide E. Non-genomic effects of estrogens and antiestrogens. *J. Steroid. Biochem.* 31: 671-676, 1988.
172. Weissberg PL, Weaver J, Woods KL, West MJ, and Beevers DG. Pregnancy induced hypertension: evidence for increased cell membrane permeability to sodium. *Brit. Med. J.* 287: 709-711, 1983.
173. Westendorp RG, Draijer R, Meinders AE, and van Hinsbergh VW. Cyclin-GMP-mediated decrease in permeability of human umbilical and pulmonary artery endothelial cell monolayers. *J. Vasc. Res.* 31:42-51, 1994.
174. Widmark AK, Grankvist K, Bergh A, Henriksson R, and Damber JE. Effects of estrogen and progesterone on the membrane permeability and growth of human prostatic carcinoma cells (pc-3) in vitro. *Prostate.* 26:5-11, 1995.
175. Wright EM, and Pietras RJ. Routes of nonelectrolyte permeation across epithelial membranes. *J. Membrane Biol.* 17: 293-312, 1974.
176. Yallampalli C, Bayam-Smith M, Nelson SO, and Garfield RE. Steroid hormones modulate the production of nitric oxide and cGMP in rat uterus. *Endocrinology.* 134: 1971-1974, 1994.

177. Zocchi L, Agostoni E, and Cremaschi D. Electrolyte transport across the pleura of rabbits. *Respir. Physiol.* 86: 125-138, 1991.
178. Zocchi L, Agostoni E, and Cremaschi D. Liquid volume, Na<sup>+</sup> and mannitol concentration in hypertonic manitol-ringer hydrothorax. *Respir. Physiol.* 89: 341-315, 1992.
179. Γουργουλιάνης ΚΙ, Ορφανίδου Δ, Χατζησταύρου Κ, Χατζηνικολάου Β, Φύτου Α, Σαμαρά Ι, και Ιορδάνογλου Ι. Η μέτρηση της αδενοσιδιαμινάσης στη διάγνωση των νόσων των πνευμόνων. *Ιατρική* 59: 387-391, 1991.
180. Γουργουλιάνης ΚΙ. Διαγνωστική αξία βιοχημικών εξετάσεων του πλευριτικού υγρού. *Αρχ. Ελλ. Ιατρικής* 10: 15-19, 1993.
181. Γουργουλιάνης ΚΙ. Η υπεζωκοτική συλλογή ως εκδήλωση νόσων εκτός του αναπνευστικού συστήματος. *Ιατρική* 65: 455-462, 1994.
182. Πατάκας ΔΑ. Ε Οι παθήσεις του υπεζωκότα. *Επίτομη Πνευμονολογία.* 19: 275-286, 1994.