

Fibroproliferation: A New Therapeutic Target for Idiopathic Pulmonary Fibrosis

**M.I. Schwarz,
K.K. Brown**

Key words: Pulmonary, fibrosis, idiopathic, therapy, fibroproliferation, interstitial pneumonia

Idiopathic pulmonary fibrosis/usual interstitial pneumonia (IPF/UIP) is a progressive fibroproliferative process characterized by the relentless accumulation of extracellular matrix (ECM) in the lung. The outcome is poor and the median survival is 24 to 36 months following diagnosis. Corticosteroids and immunosuppressive drugs, although still recommended, are generally felt to be ineffective in controlling disease progression and have no apparent impact on survival¹. Prior reports, citing up to a 20% response rate to these therapies, were uncontrolled and therefore failed to appreciate the biologic variability of the disease in which there can be prolonged survival (up to 10 years) in 10-20% of patients. More importantly, previous studies failed to differentiate between IPF/UIP and the other idiopathic interstitial pneumonias, such as non-specific interstitial pneumonia (NSIP) or cryptogenic organizing pneumonia (COP), two disorders known to respond to anti-inflammatory therapy².

The characteristic pathologic feature of IPF/UIP, whether early or late in the disease course, is fibrosis. This fibrosis may or may not be accompanied by chronic inflammatory cell infiltrate, which if present is minimal. Why then, for the past 30 years, has the therapeutic emphasis been placed on anti-inflammatory and immunosuppressive therapies? By the early '50s a response to corticosteroids had been shown in sarcoidosis and berylliosis. Given the lack of distinct histopathologic diagnoses at the time, corticosteroids were then applied to all diffuse lung diseases. Though the results were generally unimpressive, their use continued given anecdotal improvements and the lack of any effective alternative. In the '80s, utilizing bronchoalveolar lavage (BAL), the typical cell profile in IPF/UIP indicated variable numbers of lymphocytes, neutrophils and eosinophils suggesting an acute inflammatory etiology. It is now apparent that the increased numbers of lymphocytes were found primarily in those patients with NSIP and hypersensitivity pneumonitis, while the neutrophils and eosinophils were obtained from areas of end-stage honeycomb lung in which mucostasis occurs and in turn is prone to the accumulation of intraluminal acute inflammatory cells. Therefore, the acute inflammation represents a sec-

ondary response rather than a primary initiating event. Unfortunately available animal models did not help and possibly hindered the search for a therapy. There are no animal models that equate to human IPF/UIP. The commonly used bleomycin model, in which interstitial fibroproliferation follows epithelial injury and an acute inflammatory response, does respond to immunosuppressive therapy, but is more applicable to acute lung injury or drug-induced lung disease, not UIP.

Although the initiating event remains unknown, IPF/UIP is a temporally and spatially heterogeneous disease³. This suggests an ongoing intermittent injury, with a dysregulated reparative response. The fibroproliferative features of IPF/UIP are of different ages and consist of combinations of variable amounts of "normal" lung, end-stage honeycomb lung, mature interstitial collagen, and localized interstitial subepithelial areas of fibroblastic proliferation, known as fibroblastic foci. This is in contrast to the other idiopathic interstitial pneumonias (NSIP, COP and acute interstitial pneumonia), in which all sections of affected lung show similar histopathologic features.

A distinctive histopathologic feature of IPF/UIP are the aforementioned fibroblastic foci. They are located directly beneath the alveolar epithelium and may represent a focal area of dysregulated response to epithelial injury⁴. They are often found at the junction between normal and abnormal lung. Made up primarily of ECM components and fibroblasts, the majority of the fibroblasts stain positively for alpha smooth muscle actin and, therefore, are in fact myofibroblasts. These fibroblasts, under the influence of profibrotic cytokines (e.g. transforming growth factor beta (TGF-beta)) released from either injured epithelial cells, Th2 type lymphocytes or macrophages migrate, proliferate and transform into myofibroblasts and lay down extracellular matrix. Myofibroblasts not only produce collagen, but like their counterparts, the smooth muscle cells, have contractile properties which can distort the lung architecture⁵. We have shown that in contrast to the amount of collagen or inflammatory cell infiltration, the only histologic feature of UIP which determines survival is the number of fibroblastic foci present⁶. The higher the number of fibroblastic foci, the shorter the survival. It is then not unreasonable to suggest that it is the fibroblastic foci and their

myofibroblasts which drive the fibrotic process and should be the therapeutic target for new interventions in this uniformly fatal disease.

One of the most potent pro-proliferative cytokines is TGF-b1 which is readily identified within the fibroblastic foci and the bronchoalveolar lavagates of IPF/UIP subjects⁷. TGF-b1 is a Th2 cytokine which supports fibroblast migration, proliferation, transformation into myofibroblasts and collagen production, as well as inhibiting myofibroblast apoptosis⁸. It is involved in the release of connective tissue growth factor (CTGF) another potent pro-fibrotic cytokine. Other pro-proliferative proteins known to be upregulated in IPF/UIP include tumor necrosis factor a (TNFa), endothelin 1 (ET-1), angiotensin-2 and interleukin 4 (IL-4). One naturally occurring anti-proliferative cytokine is interferon gamma (IFNg). IFNg, a Th1 cytokine, IFNg antagonizes many of the fibroproliferative properties of TGF-b1. Based on this, a promising but limited phase 2 trial was performed which indicated improved pulmonary function after one year of three times weekly subcutaneous IFNg⁹. A large phase 3 trial in the USA involving over 300 patients is now nearing completion.

Other therapeutic trials in IPF/UIP are being considered. Increased amounts of ET-1 are present in the lungs of IPF/IPF patients. ET-1 in addition to its potent pulmonary vasoactive properties, is a potent myofibroblast inducer¹⁶. ET-1 receptor antagonists, now available for the treatment of primary pulmonary hypertension, should also be tested in IPF/UIP and possibly other fibrotic lung diseases such as scleroderma. Antibodies against or soluble receptors for TNFa which have been approved for the treatment of rheumatoid arthritis and inflammatory bowel disease could also be applied to IPF/UIP. Pirfenidone a compound which reduced fibrosis in a bleomycin model due to the down regulation of TGF-b1 gene expression and had encouraging results in an open label human study is currently being tested in Japan¹¹. Other potential anti-TGF-b1 therapies include antibodies, soluble receptors, decorin and SMAD-7^{12,13}. Decorin is a naturally occurring ECM molecule which effectively blocks all actions of TGF-b1. SMAD-7 is an intracellular signaling molecule which inhibits the transmission of the TGF-b1 signal from the surface of the cell to its nucleus.

Therapies such as these are directed at controlling the primary pathologic event in IPF/UIP, namely the dysregulated fibroproliferative response. It is only when this response is controlled will the production of collagen be checked, quality of life improved and extended survival be realized for patients with IPF/UIP.

REFERENCES

1. American Thoracic Society. Idiopathic pulmonary fibrosis: Diagnosis and Treatment. International Consensus Statement. American Thoracic Society and the European Respiratory Society. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:646-664.
2. American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Consensus. Classification of idiopathic interstitial pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165:277-304.
3. Katzenstein AL, Myers JC. Idiopathic pulmonary fibrosis: clinical relevance of pathologic classification. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:1301-1315.
4. Kuhn C, McDonald JA. The roles of the myofibroblast in idiopathic pulmonary fibrosis: ultrastructural and immunohistochemical features of sites of active extracellular matrix synthesis. *Am J Pathol* 1991; 138:1257-1265.
5. Leslie KO, Mitchell J, Low R. Lung myofibroblasts. *Cell Motility and Cytoskeleton* 1992; 22:92-98.
6. King TE, Schwarz MI, Brown K, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis: relationship between histopathologic features and mortality. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164:1025-1032.
7. Broekelmann TJ, Limper AH, Colby TV. Transforming growth factor beta 1 is present at sites of extracellular matrix gene expression in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Proc Nat Acad Sci USA* 1991; 88:6642-6646.
8. Gauldie J, Sime PJ, Xing SZ, et al. Transforming growth factor beta gene transfer to the lung induces myofibroblast presence and pulmonary fibrosis. *Curr Top Pathol* 1999; 93:35-45.
9. Ziesche R, Hofbauer E, Wittmann K, et al. A preliminary study of the long-term treatment with interferon γ 1b on low dose prednisolone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *N. Engl J Med* 1999; 341:1264-1269.
10. Teder P, Nobel PW. A cytokine reborn? endothelin 1 in pulmonary inflammation and fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000; 23:7-10.
11. Raghu G, Johnson WC, Lockhart et al. Treatment of idiopathic pulmonary fibrosis with a new anti-fibrotic agent, pirfenidone: results of a prospective, open label phase II study. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 158:1061-1069.
12. Zhao J, et al. Adenovirus mediated decorin gene transfer prevents TGF- β induced inhibition of lung morphogenesis. *Am J Physiol* 1999; 277:412-422.
13. Nakao A, et al. Transient gene transfer and expression of Smad 7 prevents bleomycin induced lung fibrosis in mice. *J Clin Invest* 1999; 104:5-11.

Στρατηγικές γονιδιακής θεραπείας του καρκίνου του πνεύμονα

K.J. Harrington, FRCR, PhD¹,
K.N. Συρίγος, MD, PhD²

¹Molecular Oncology Program, Department of Clinical Oncology, Mayo Clinic Medical School, Rochester, USA, ²Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας-Ογκολογίας, Ογκολογική Μονάδα, Γ' Παθολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, ΠΓΝΝΘΑ "Η Σωτηρία", Αθήνα, Ελλάδα

Λέξεις Κλειδιά: Γονιδιακή Θεραπεία, καρκίνος πνεύμονα, απόπτωση, μοριακή βιολογία, κυτοκίτες, ογκοκατασταλτικά γονίδια

Αλληλογραφία:

Κωνσταντίνος Ν. Συρίγος, MD, PhD, Ογκολογική Μονάδα, Γ' Παθολογική Κλινική Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών, Κτίριο Ζ, ΠΓΝΝΘΑ "Η Σωτηρία", Λ. Μεσογείων 152, 115 27 Αθήνα, Τηλ: 010 7781 035/010 7719 975, Fax: 010 7719 981/010 7778 838, E-mail: knsyrigos@usa.net

ΠΕΡΙΛΗΨΗ. Ο καρκίνος του πνεύμονα έχει δυσμενή πρόγνωση και οι υπάρχουσες θεραπείες έχουν αποτύχει να βελτιώσουν την επιβίωση των ατόμων που πάσχουν από τη νόσο αυτή. Τα τελευταία χρόνια, οι πρόοδοι που επιτεύχθηκαν στην κατανόηση της μοριακής βιολογίας του καρκίνου, έδωσαν την ευκαιρία σε κλινικούς γιατρούς και επιστήμονες να αναπτύξουν αρκετές τεχνικές γενετικών θεραπειών για αυτή τη νόσο. Γίνεται λεπτομερής ανασκόπηση των δημοσιευμένων άρθρων που αφορούν στη γονιδιακή θεραπεία του καρκίνου του πνεύμονα. Ιδιαίτερη έμφαση δόθηκε στις πρόσφατες εξελίξεις στο πεδίο των μη-ϊικών και ιικών φορέων των γονιδίων. Οι θεραπευτικές στρατηγικές ταξινομήθηκαν, ανάλογα με τους στόχους τους σε διορθωτική, κυτταροτοξική και ανοσορρυθμιστική γονιδιακή θεραπεία. Τοπική χορήγηση των μη ιικών και ιικών φορέων μπορεί να προκαλέσει ικανοποιητική γονιδιακή έκφραση τοπικά και κάποια θεραπευτικά αποτελέσματα, αλλά, επί του παρόντος, δεν υπάρχει διαθέσιμος κανένας αποτελεσματικός φορέας που να χορηγείται συστηματικά. Η διορθωτική γονιδιακή θεραπεία έχει αποτελεσματικότητα σε μοντέλα ζώων ως προς την αποκατάσταση της φυσιολογικής έκφρασης ογκοκατασταλτικών γονιδίων (p53, Rb, p21, p16) ή την αναστολή της επίδρασης των ογκογονιδίων που προάγουν τη μετάλλαξη του όγκου (ras, myc, erbB2 bcl-2), αλλά αυτή η προσέγγιση πάσχει λόγω του ότι κάθε καρκινικό κύτταρο πρέπει να αποτελέσει στόχο της θεραπείας. Μια μεγάλη ποικιλία κυτταροτοξικών στρατηγικών είναι υπό ανάπτυξη, περιλαμβάνοντας αγγειογενετικές και ραδιοϊσοτοπικές γονιδιακές θεραπείες, καθώς και θεραπείες αυτοκτονίας γονιδίων, ή γονιδιακές θεραπείες που προάγουν την απόπτωση. Καθεμία από αυτές τις προσεγγίσεις έχει πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα και είναι καλύτερο να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό. Η ανοσορρυθμιστική γονιδιακή θεραπεία επιδιώκει να ενεργοποιήσει μια αποτελεσματική τοπική ανοσοαντίδραση η οποία μπορεί να προκαλέσει συστηματική δρα-

στηριότητα κατά του όγκου. Προς το παρόν, οι περισσότερες μελέτες χρησιμοποιούν ανοσοδιεγερτικά γονίδια κυτοκινών. Συμπεράσματα: Μια ποικιλία θεραπευτικών γονιδίων αποδείχθηκαν δραστικά εναντίον του καρκίνου του πνεύμονα τόσο in vitro όσο και in vivo. Παρ' όλα αυτά, η κύρια πρόκληση όσον αφορά στις στρατηγικές γονιδιακής θεραπείας σε κλινικό επίπεδο είναι η έλλειψη αποτελεσματικής γονιδιακής μεταφοράς μέσω τοπικών και συστηματικών οδών και για το άμεσο μέλλον, η δημιουργία φορέων, θα παραμένει το κύριο πρόβλημα στο οποίο θα εστιάζεται η συνεχιζόμενη έρευνα. Καθώς η έρευνα θα συνεχίζεται, αναμένεται ότι οι γονιδιακές θεραπευτικές προσεγγίσεις θα συμβάλλουν στην αντιμετώπιση του καρκίνου του πνεύμονα στο εγγύς μέλλον. Πνεύμων 2002, 15(1)19-37.

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

AAGT (anti-angiogenic gene therapy): γονιδιακή θεραπεία έναντι της νεοαγγειογένεσης
 AAV (adeno-associated virus): αδενο-σχετιζόμενος ιός
 AO (antisense oligonucleotide): συμπληρωματικό ολιγονουκλεοτίδιο
 APC (antigen presenting cell): κύτταρο που παρουσιάζει αντιγόνα
 AV (adenovirus): αδενοϊός
 CAR (coxsackie adenovirus receptor): υποδοχέας Coxsackie-αδενοϊού
 CD (cytosine diaminase): διαμινάση της κυτοσίνης
 CEA: καρκινοεμβρυϊκό αντιγόνο
 CTL (cytotoxic T lymphocytes): κυτταροτοξικά Τ λεμφοκύτταρα
 5-FC (5-fluorocytosine): 5-φθοριοκυτοσίνη
 FGF-b (fibroblast growth factor-basic): ινοβλαστικός αυξητικός παράγοντας
 FIV (feline immunodeficiency virus): ιός ανοσοανεπάρκειας αιλουροειδών
 FMG (fusogenic membrane glycoprotein): μεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη που επάγει τη διάχυση
 GALV (Gibbon ape leukemia retrovirus): ρετροϊός λευχαιμίας πιθήκων Gibbon
 GCV (ganciclovir): γκανκυκλοβίρη
 GDEPT (gene directed enzyme prodrug therapy): θεραπεία μέσω γονιδιακής ενεργοποίησης προφαρμάκου
 HIV (human immunodeficiency virus): ανθρώπινος ιός ανοσοανεπάρκειας
 HSV (herpes simplex virus): ιός απλού έρπητα
 HSVtk (HSV thymidine kinase): θυμιδική κινάση του ερπητοϊού
 MHC: μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας
 MoMLV (Moloney murine leukemia virus): ιός λευχαιμίας ποντικών Moloney
 NIS (sodium iodide symporter): συμεταφορέας μεταφοράς ιωδιούχου νατρίου
 NSCLC: μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα
 PEG (polyethylene glucose): πολυαιθυλενική γλυκόζη
 PV (pox virus): ιός ευλογιάς
 RR (ribonucleotide reductase): ριβονουκλεοτιδική ρεδοκτάση
 RV (retrovirus): ρετροϊός
 SIV (semian immunodeficiency virus): ιός ανοσοανεπάρκειας ανθρωποειδών
 TAA (tumor associated antigens): αντιγόνα σχετιζόμενα με τον όγκο
 TNF (tumor necrosis factor): παράγοντας νέκρωσης του όγκου
 TRAIL (TNF related apoptosis inducing ligand): σύνδεσμος που επάγει απόπτωση μέσω TNF
 TSG (tumor suppressor gene): γονίδιο που καταστέλλει τον όγκο
 VEGF (vascular epithelial growth factor): αυξητικός παράγοντας αγγειακού επιθηλίου

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η επίπτωση και η θνησιμότητα του Καρκίνου του Πνεύμονα (ΚΠ) δεν άλλαξαν σημαντικά την τελευταία δεκαετία, παρ' όλες τις καμπάνιες για τη μείωση του καπνίσματος και την εφαρμογή συνδυασμού επιθετικών θεραπευτικών στρατηγικών, που περιλαμβάνουν τη χειρουργική αφαίρεση, την ακτινοθεραπεία και τη χημειοθεραπεία. Φαίνεται ότι οι κλασικές μορφές θεραπείας του ΚΠ έχουν προσεγγίσει το μέγιστο δυνατό θεραπευτικό αποτέλεσμα τους και γι' αυτό, η ανάπτυξη νέων, διαφορετικών θεραπειών, όπως η γονιδιακή

θεραπεία είναι σε προτεραιότητα.

Η γονιδιακή θεραπεία του καρκίνου περιλαμβάνει τη μεταφορά και έκφραση γενετικού υλικού σε κακοήγη ανθρώπινα κύτταρα για θεραπευτικό σκοπό. Αυτός ο μάλλον περιορισμένος ορισμός μπορεί να επεκταθεί για να συμπεριλάβει τη μεταφορά γονιδίων σε νεοπλασματικά ή/και υγιή κύτταρα, για τη ρύθμιση της ανοσολογικής αντίδρασης του οργανισμού έναντι του όγκου. Εν τέλει έχει επικρατήσει συναίνεση στην επιστημονική κοινότητα, ώστε ο όρος γονιδιακή θεραπεία του καρκίνου να περιλαμβάνει το παρακάτω φάσμα προσεγγίσεων:

- 1) Τη διορθωτική γονιδιακή θεραπεία που αποβλέπει στο να αποκαταστήσει τη φυσιολογική λειτουργία ενός γονιδίου που έχει εξαλειφθεί ή ενός μεταλλαγμένου γονιδίου (συνήθως ενός κατασταλτικού του όγκου γονιδίου-Tumor Suppressor Gene, TSG) ή να αναστείλει τη δράση ενός γονιδίου που προάγει τον όγκο (ογκογονίδιο).
- 2) Την κυτταροκτόνο γονιδιακή θεραπεία που αποβλέπει στη μεταφορά ενός εξωγενούς γονιδίου που προκαλεί κυτταρικό θάνατο.
- 3) Την ανοσορρυθμιστική γονιδιακή θεραπεία, ώστε μέσω επαγωγής της γονιδιακής έκφρασης να προάγεται ανοσοαντίδραση εναντίον των καρκινικών ιστών.

ΦΟΡΕΙΣ ΓΙΑ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η ταυτοποίηση και η εφαρμογή εξελιγμένων συστη-

μάτων γονιδιακής θεραπείας, με ειδικότητα ως προς το κύτταρο-στόχο δεν μπορεί να έχει αποτέλεσμα αν τα γονίδια δεν στοχεύουν σε συγκεκριμένο κλώνο κυττάρων. Οι περισσότερες μελέτες έχουν επικεντρωθεί σε τοπική χορήγηση γονιδίων με άμεση ένεση ή έγχυση, μια τεχνική που δεν μπορεί να εφαρμοσθεί στην κλινική πράξη σε καταστάσεις όπως η μεταστατική νόσος, όπου είναι απαραίτητα συστήματα συστηματικής χορήγησης. Γι' αυτό το λόγο, η ανάπτυξη φορέων γονιδίων αποτελεί ένα ιδιαίτερα ενεργό πεδίο έρευνας¹. Οι φορείς για γονιδιακή θεραπεία διακρίνονται σε μη ιϊκούς και ιϊκούς.

I. Μη ιϊκοί φορείς γονιδιακής θεραπείας

Ατροποποίητο DNA: Η ενδο-ογκική χορήγηση DNA αποτελεί το ευκολότερο σύστημα γονιδιακής χορήγησης². Μετά την ένεση, το DNA εισάγεται στα κύτταρα μέσω αδιευκρίνιστων μηχανισμών και μεταφέρεται στον πυρήνα όπου μπορεί να εκφραστεί παροδικά από μια επισωματική θέση, ή μονιμότερα, αν συμβεί αφομοίωση του ξένου DNA από το γονιδίωμα του ξενιστή. Αυτή η διαδικασία της γονιδιακής μεταφοράς στα κύτταρα είναι γνωστή ως ενδοκυττάρια χορήγηση DNA (transfection-επιμόλυνση).

DNA καλυμένο με χρυσό: Η αποτελεσματικότητα της ενδοκυττάριας χορήγησης DNA σε κύτταρα του όγκου *in vivo* μπορεί να αυξηθεί ενίοντας DNA καλυμένο με χρυσό με ένα "γονιδιακό πιστόλι"³. Ο ακριβής μηχανισμός μέσω του οποίου αυτή η μέθοδος βελτιώνει τη μεταφορά DNA στα κύτταρα είναι άγνωστος, παρ' όλο που έχει το σημαντικό πλεονέκτημα να στοχεύει κύτταρα που δεν βρίσκονται σε διαίρεση. Οι προκλινικές μελέτες είναι ενθαρρυντικές και έχει παρατηρηθεί ανταπόκριση σε όγκους ζώων, μετά από ενδο-ογκική μεταφορά γονιδίων κυττοκινών με "γονιδιακό πιστόλι"⁴.

Λιποσώματα: Τα λιποσώματα είναι κυστίδια αποτελούμενα από μεμβράνες διπλής στιβάδας φωσφολιπιδίων που μπορούν να περιέχουν ποικιλία ουσιών, συμπεριλαμβανομένου και του DNA. Ενώσεις λιπιδίων και DNA σχηματίζουν συμπλέγματα (λιποσυμπλέγματα) που μπορούν να χορηγηθούν σε κύτταρα *in vitro* και *in vivo*⁵⁻⁷.

Μια μεγάλη ποικιλία λιπιδιακών σχηματισμών έχουν περιγραφεί με διάφορες δυνατότητες μεταφοράς DNA

σε κύτταρα. Παρ' όλο που αυτοί οι παράγοντες είναι αποτελεσματικοί *in vitro* σε έναν αριθμό κυτταρικών σειρών, σημαντικά προβλήματα εμφανίζονται όταν χορηγούνται *in vivo*⁸. Τα συνήθη λιποσωμιακά σκευάσματα πάσχουν λόγω του ότι απομακρύνονται από την κυκλοφορία πολύ γρήγορα μετά από μια ενδοφλέβια έγχυση, κυρίως από τους πνεύμονες, το δικτυοενδοθηλιακό σύστημα (σπλήνας, ήπαρ) και την καρδιά. Ως αποτέλεσμα η χρήση τους έχει περιοριστεί σε έγχυση στο σημείο της βλάβης μόνο (ενδο-ογκική έγχυση).

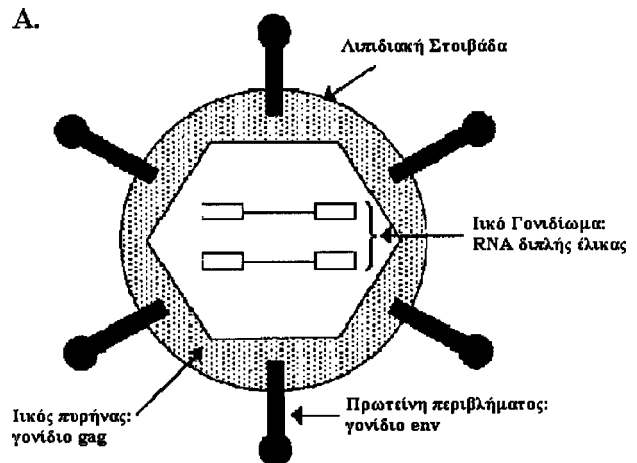
Η εισαγωγή παραγώγων πολυαιθυλενικής γλυκόζης (PEG) στη λιπιδική μεμβράνη (pegylation) φαίνεται να αυξάνει το χρόνο ημίσειας ζωής κυκλοφορίας των λιποσωμάτων μετά από ενδοφλέβια χορήγηση και ως εκ τούτου την ικανότητα να συγκεντρώνονται στους όγκους^{9,10}. Δυστυχώς τα λεγόμενα PEG-λιποσώματα έχουν χαμηλή ικανότητα διάχυσης λόγω της επίστροφής τους με PEG, γεγονός που μειώνει σημαντικά την ικανότητα πρόσληψης DNA¹¹⁻¹⁴.

Συμπλέγματα DNA πολυμερών: Ένας αριθμός από μη λιπιδικά πολυκατιονικά πολυμερή σχηματίζουν συμπλέγματα με το DNA (πολυσυμπλέγματα) και προάγουν τη μεταφορά του στα κύτταρα⁸. Παραδείγματα περιλαμβάνουν τα πολυ-L-λυσίνη, πολυαιθυλενιμίνη, πολυγλυκοξαμίνες και πεπτοειδή. Πολυ-L-λυσίνη-DNA συμπλέγματα αποβάλλονται ταχύτατα από την κυκλοφορία πιθανώς λόγω αλληλεπιδράσεων με τις πρωτεΐνες του πλάσματος όπως η αλβουμίνη¹⁵. Η πολυαιθυλενιμίνη έχει φανεί ότι προστατεύει το σύμπλεγμα DNA από διάσπαση στα λιποσώματα και παρέχει ένα μέσο προώθησης της απελευθέρωσης DNA από τα λιποσωμιακά διαμερίσματα και την επακόλουθη τοποθέτησή του στον πυρήνα^{16,17}. Πρόσφατα φάνηκε ότι τα PEG πολυμερή της πολυαιθυλεναμίνης έχουν λίγες αλληλεπιδράσεις με τις πρωτεΐνες του πλάσματος, παρατεταμένο χρόνο ημίσειας ζωής στην κυκλοφορία και την ικανότητα να μεταφέρουν γονίδια στους όγκους χωρίς σημαντική τοξικότητα¹⁸. Οι Goldman και συν. έδειξαν ότι η μεταφορά γονιδίου μέσω πολυγλυκοξαμινών σε ενδοκρανιακούς όγκους μπορεί να προκαλέσει επίπεδα έκφρασης, συγκρίσιμα με ιϊκά συστήματα. Αυτοί οι φορείς προκαλούν μικρή ή καμιά ανοσολογική αντίδραση και σχετίζονται με περιορισμένη τοξικότητα *in vivo*¹⁹.

II. Ίικοί φορείς γονιδιακής θεραπείας

Οι ιοί είναι σημαντικά μέσα γονιδιακής μεταφοράς αφού μπορούν αποτελεσματικά και με ειδικό τρόπο να διευκολύνουν την είσοδο και έκφραση από ανθρώπινα κύτταρα διαφόρων γονιδίων. Η κύρια πρόκληση από τη χρήση των ιικών φορέων βρίσκεται στην αποτελεσματικότητα στόχευσης από τους ιούς και στην εξάλειψη της ικανότητάς τους να προκαλούν λοίμωξη και νόσο. Αυτοί οι στόχοι επιτυγχάνονται με την τροποποίηση του ιικού γονιδιώματος ώστε να αφαιρεθούν αλληλουχίες που είναι απαραίτητες για τον αναδιπλασιασμό και την παθογένεια του ιού. Οι αφαιρεθείσες ιικές αλληλουχίες μπορεί να αντικατασταθούν από τα εξωγενή θεραπευτικά γονίδια. Τέτοιοι ιοί, προϊόν γενετικής μηχανικής, θεωρητικά διατηρούν τον κυτταρικό τροπισμό του μητρικού ιού και εξασφαλίζουν την έκφραση των γονιδίων που χορηγούνται στον πληθυσμό κυττάρων στόχων, χωρίς να προκαλούν λοίμωξη. Γίνονται επίσης προσπάθειες αλλαγής του φυσιολογικού τροπισμού των ιών, μεταβάλλοντας ιικά συστατικά που μεσολαβούν την κυτταρική σύνδεση και ενδοκύτωση των ιών, ώστε να κατευθυνθούν οι ιοί-φορείς προς επιλεγμένα κύτταρα στόχους²⁰. Το μεγαλύτερο μέρος της ανάπτυξης των ιικών φορέων αφορά τους ρετροϊούς (RV), αδενοϊούς (AV), αδενο-σχετιζόμενους ιούς (AAV), ερπητοϊούς (HSV) και ιούς της ευλογιάς (SPV), ενώ άλλοι ιοί υπό διερεύνηση είναι οι ρεοϊοί²¹, ο ιός της νόσου του Newcastle²², άλφα ιοί²³ και ο ιός της φυσαλιδώδους στοματίτιδας²⁴.

Ρετροϊοί - φορείς (RV): Οι RV ιοί είναι μονής έλικας διπλοειδικού RNA ιοί (Εικόνα 1). Οι C-τύπου RV που βασίζονται στον ιό της λευχαιμίας ποντικών Moloney (MoMLV) έχουν ιδιαίτερα μελετηθεί²⁵. Οι RV εισέρχονται στα κύτταρα μέσω σύνδεσης επιφανειακής πρωτεΐνης (κωδικοποιείται από το *env* γονίδιο) με ειδικούς κυτταρικούς υποδοχείς. Μετά την είσοδο στο κύτταρο, το ιικό ένζυμο ανάστροφη τρανσκριπτάση (κωδικοποιείται από το *pol* γονίδιο) μεταγράφει το ιικό RNA γονιδίωμα σε αντίγραφο διπλής έλικας DNA, το οποίο μπορεί να μπει στον πυρήνα ανθρώπινων διαιρούμενων κυττάρων και να ενσωματωθεί στο γονιδίωμα του ξενιστή σε τυχαίες θέσεις, αν και αυτό το γεγονός φαίνεται να συμβαίνει κατά προτίμηση σε μεταγραφικά ενεργείς θέσεις. Για το μητρικό ρετροϊό, η γονιδιακή έκφραση έχει ως αποτέλεσμα τον αναδιπλασια-



B.



LTR: Long Terminal Repeat, ελέγχει τη μεταγραφή και τη μετάφραση του ιού.

ψ: Μήνυμα για αναδίπλωση (packaging) του ιού.

gag: Κωδικοποιεί τις πρωτεΐνες του ιικού πυρήνα.

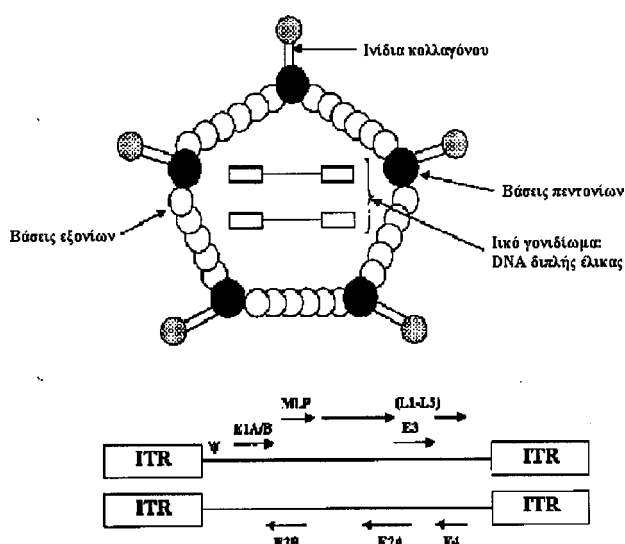
pol: Κωδικοποιεί το ένζυμο ανάστροφης τρανσκριπτάσης του ιού.

env: Κωδικοποιεί τις πρωτεΐνες του ιικού περιβλήματος.

Εικόνα 1. Η μορφολογία (A) και το γονιδίωμα (B) ενός ρετροϊού.

σμό, τη συνάθροιση και το σχηματισμό περιβλήματος, καθώς και την επακόλουθη διάδοση λοίμωξης. Οι RV που χρησιμοποιούνται σε πρωτόκολλα γονιδιακής θεραπείας, έχουν μετατραπεί σε ιούς ανάκανους για αναδιπλασιασμό, με την αφαίρεση των *gag*, *pol* και *env* γονιδίων τους (Εικόνα 1). Έτσι παράγονται λοιμώδη, αλλά μη αναδιπλασιαζόμενα μέρη των RV στις κυτταρικές σειρές, από πλασμίδια που στερούνται γονιδιακής αλληλουχίας για σχηματισμό περιβλήματος²⁶.

Αδενοϊοί - φορείς (AV): Πρόκειται για διπλής έλικας DNA ιούς (Εικόνα 2). Έχουν ταυτοποιηθεί περισσότεροι από 40 ορότυποι AV σε 6 ομάδες (Group A ως F). Οι ιοί ομάδας C (τύπος Ad2 και Ad5) έχουν αξιολογηθεί ως οι πλέον ικανοί υποψήφιοι για τη μεταφορά γονιδίων²⁷. Παρ' όλα αυτά, έως το 70% του γενικού πληθυσμού έχουν ουδετεροποιά αντισώματα έναντι των Ad2 και Ad5, τα οποία επιταχύνουν την κάθαρση των AV μετά την πρώτη χορήγηση. Οι αδε-



- ITR** Inverted Terminal Repeat, ελέγχει τη μεταγραφή του ιού.
Ψ Μήνυμα για αναδίπλωση (packaging) του ιού.
E1A/B Κωδικοποίηση πρωτεϊνών που ρυθμίζουν τη μεταγραφή του ιϊκού γονιδιώματος.
E2A/B Κωδικοποίηση πρωτεϊνών που ρυθμίζουν την αντιγραφή του ιϊκού γονιδιώματος.
E3 Γονίδιο που αποτρέπει την κυτταρόλυση από T λεμφοκύτταρα και κυτταροκίνες του ξενιστή.
E4 Κωδικοποίηση πρωτεϊνών που ρυθμίζουν την αντιγραφή του ιϊκού γονιδιώματος.
L1-L5 Late Genes 1-5, κωδικοποιεί δομικές πρωτεΐνες του ιού.
MLP Major Late Promoter, ρυθμίζει τη λειτουργία των γονιδίων L1-L5.

Εικόνα 2. Η δομή (μορφολογία και γονιδίωμα) ενός αδενοϊού.

νοϊοί εισέρχονται στα κύτταρα μέσω σύνδεσης στον υποδοχέα Coxsackie και αδενοϊού (Coxsackie Adenovirus Receptor-CAR), γεγονός που διευκολύνει την αλληλεπίδραση των ιϊκών αλληλουχιών αργινίνης-γλυκίνης-ασπαρτάσης με τις κυτταρικές ιντεγκρίνες. Μετά την ενδοκυττάρια είσοδό του, ο ιός διασπάται μερικώς και μεταφέρεται στον πυρήνα, όπου αρχίζει η έκφραση του ιϊκού γονιδίου. Πρόσφατα διαπιστώθηκε ότι η έκφραση του CAR μειώνεται σε διάφορους τύπους όγκων²⁸. Τέτοια ευρήματα έχουν ιδιαίτερη επίπτωση στην εφαρμογή των αδενοϊικών φορέων σε ασθενείς με εκτεταμένη νόσο και τονίζουν τη σημασία της αλλαγής του φυσιολογικού τροπισμού αυτών των ιών, με τεχνικές γενετικής μηχανικής²⁰. Ένα επιπλέον

πρόβλημα αφαλείας δημιουργεί η χορήγηση αναδιπλασιαζόμενων αδενοϊών σε ασθενείς με καρκίνο, πολλοί από τους οποίους είναι ανοσοκατασταλμένοι. Για το λόγο αυτό έχουν γίνει προσπάθειες να δημιουργηθούν AV ανίκανοι για πολλαπλασιασμό (replication defective AV, RDAV). Αυτό επιτυγχάνεται με την αφαίρεση ενός ή περισσότερων αρχικών γονιδίων του αδενοϊού (E1, E2, E3 και E4) (Εικόνα 2). Πρόσφατα, αυτή η διαδικασία έχει επεκταθεί ώστε να αφαιρείται όλη η κωδική αλληλουχία του γονιδιώματος του AV δημιουργώντας τα λεγόμενα ελάχιστης αλληλουχίας AV ή "αδύναμα" AV²⁹⁻³².

Αδενοσχετιζόμενοι ιϊκοί φορείς (AAV): Οι αδενοσχετιζόμενοι ιοί (Adeno Associated Viruses-AAV) είναι ανθρώπινοι ιοί με μονή έλικα DNA, οι οποίοι δεν είναι γνωστό εάν προκαλούν νόσο³³. Εισέρχονται στα κύτταρα μετά από σύνδεση με θειϊκή ηπαρίνη, αλλά απαιτείται συν-λοίμωξη από έναν βοηθητικό ιό (AV ή ερπητοϊό) προκειμένου να αναδιπλασιαστούν. Απουσία του βοηθητικού ιού και λοίμωξη μόνο από AAV οδηγεί σε μια λανθάνουσα κατάσταση στην οποία το ιϊκό γονιδίωμα παραμένει είτε σε ενδοκάψια μορφή, είτε ως επισωματικό DNA και επακόλουθη λοίμωξη του κυττάρου από έναν βοηθητικό ιό επιτρέπει τη συνέχιση του αναδιπλασιασμού. Οι φορείς AAV έχουν πιθανά πλεονεκτήματα έναντι των RV και AV φορέων: α) μολύνουν μη διαιρούμενα κύτταρα και ενσωματώνονται σταθερά στο γονιδίωμα του ξενιστή, αν και αυτό είναι λιγότερο σημαντικό στη γονιδιακή θεραπεία του καρκίνου, όπου παροδική έκφραση χορηγούμενου γονιδίου μπορεί να είναι επαρκής και β) σε αντίθεση με τον RV, η ενσωμάτωση συμβαίνει συνήθως σε συγκεκριμένη θέση (στο χρωμόσωμα 19), μειώνοντας τον κίνδυνο της καρκινογένεσης από εισαγωγή (insertional mutagenesis). Παρόλα αυτά, στους AAV φορείς αυτή η χαρακτηριστική ικανότητα ενσωμάτωσης χάνεται λόγω της αφαίρεσης των *rep* πρωτεϊνών, σε μια προσπάθεια μείωσης του κινδύνου εμφάνισης ικανών για αναδιπλασιασμό AAV.

Φορείς απλού ερπητοϊού (HSV): Οι ιοί απλού έρπητα (HSV) είναι μεγάλοι ιοί με ένα γραμμικό διπλής έλικας DNA γονιδίωμα περί των 150 kbp που κωδικοποιεί πάνω από 70 ιϊκές πρωτεΐνες³⁴. Ο HSV εισέρχεται στα κύτταρα μετά από σύνδεση των ιϊκών gB και gD γλυκοπρωτεϊνών με εξωκυττάρια τμήματα της μεμ-

βρανικής πρωτεΐνης θειϊκής ηπαράνης. Είναι παθογόνοι ιοί για τους ανθρώπους και έχουν την ικανότητα να εγκαθιστούν λανθάνουσες λοιμώξεις, γεγονός που έχει περιορισμένη θεραπευτική σπουδαιότητα, αλλά θέτει σοβαρά θέματα ασφάλειας όσον αφορά στη γονιδιακή θεραπεία του καρκίνου. Με ανάλογο τρόπο με αυτόν της παραγωγής AV φορέων, ο HSV μπορεί να μετατραπεί σε ανίκανο για αναδιπλασιασμό ιό με την απενεργοποίηση ενός μικρού αριθμού αρχικών γονιδίων κλειδιών (ICP6, ICP4, ICP22 και ICP27), τα οποία είναι απαραίτητα για την έκφραση άλλων γονιδίων του HSV. Διαγραφή των σημαντικότερων ιικών γονιδίων μπορεί να παράγει ογκολυτικούς HSV, οι οποίοι είναι τοξικοί στα κύτταρα του όγκου με ειδικό τρόπο, ενώ σέβεται τα υγιή κύτταρα. Επιπρόσθετα, μιας και ένας μεγάλος αριθμός HSV γονιδίων μπορεί να αφαιρεθεί χωρίς να επηρεαστεί η ικανότητα παραγωγής ιικών φορέων, μεγάλες DNA αλληλουχίες που περιέχουν πολλαπλά γονίδια και τα ρυθμιστικά τους συστατικά μπορούν να συσσωρευτούν μέσα σε φορείς HSV. Μέχρι τώρα υπάρχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την ανάπτυξη των λεγόμενων HSV amplicon φορέων οι οποίοι περιέχουν πολλαπλές επαναλήψεις μερικών HSV αλληλουχιών, οι οποίες αποτελούνται από μια αλληλουχία αναδιπλασιασμού και μια αλληλουχία σχηματισμού περιβλήματος³⁵. Τέτοιοι φορείς είναι λοιμώδεις αλλά μη αναδιπλασιαζόμενοι και έχουν τεράστια χωρητικότητα. Η χρήση τους παρακάμπτει την κυτταροτοξικότητα και την ανοσολογική ενεργοποίηση που σχετίζεται με την ιική γονιδιακή έκφραση.

Ομοίως, στο πλαίσιο της γονιδιακής θεραπείας του καρκίνου, τέτοιες μελέτες έχουν περιορισμένη σημασία και αυτοί οι φορείς είναι πιο πιθανό να χρησιμεύσουν στην αντιμετώπιση των μη κακόηθων καταστάσεων. Στη σφαίρα της γονιδιακής θεραπείας του καρκίνου, μεγαλύτερη προσοχή έχει δοθεί στην παραγωγή ογκολυτικών φορέων HSV. Μεταλλαγμένοι HSV με μη δραστηκή κινάση της θυμιδίνης (HSVtk) πολλαπλασιάζονται σε μιτωτικά μόνο κύτταρα³⁶. Όμως, η χρήση τέτοιων ιών έχει το μειονέκτημα ότι αυτοί δεν είναι πλέον ευαίσθητοι στη γκανκυκλοβίρη. Μεταλλαγμένοι HSV με ελαττωματικό ICP6 γονίδιο, το οποίο κωδικοποιεί την ιική ριβονουκλεοτιδική αναγωγή αναδιπλασιάζονται σε διαιρούμενα κύτταρα του όγκου χωρίς να προκαλούν σημαντική τοξικότητα στα φυσιο-

λογικά κύτταρα³⁷. Ένας τέτοιος ιός, ο hrR3 φάνηκε να έχει αντικαρκινική δράση στο γλοίωμα και στον καρκίνο του ορθού σε μοντέλα τρωκτικών^{37,38}, ενώ ο μεταλλαγμένος HSV-1716 περιέχει ένα διασπασμένο ICP34.5 γονίδιο και έχει εισαχθεί σε κλινικές μελέτες ασθενών με γλοίωμα⁴⁰. Ο G207 ιός περιέχει μεταλλάξεις στα ICP6 και ICP34.5 γονίδια και έχει παρατηρηθεί ότι καθυστερεί την αύξηση του όγκου σε προκλινικά μοντέλα τρωκτικών με γλοίωμα, καρκίνο ουροδόχου κύστης, καρκίνο του προστάτη και καρκίνο του πνεύμονα, μετά από έγχυση στη βλάβη ή ενδοφλέβια χορήγηση⁴¹⁻⁴⁴.

Φορείς ιού ευλογιάς (PV): Οι PV είναι ιοί διπλής έλικας DNA οι οποίοι περιλαμβάνουν τους ιούς vaccinia και canarypox (ALVAC). Ανασυνδυασμένοι PV που περιέχουν θεραπευτικά γονίδια έχουν χρησιμοποιηθεί σε προκλινικά μοντέλα διαφόρων καρκίνων⁴⁵⁻⁴⁷. Επιπλέον, σε μια κλινική μελέτη ασθενών με μεσοθελίωμα παρατηρήθηκε γονιδιακή έκφραση μετά από πολλαπλές ενέσεις για περισσότερο από 3 μήνες, παρ' όλη την ανάπτυξη αντισωμιακής απάντησης⁴⁸. Αρχικές θεραπευτικές μελέτες με φορείς PV επικεντρώθηκαν στην ικανότητά τους να μεταφέρουν γονίδια ανοσοδιεγερτικών κυτοκινών^{49,50}. Τέτοιες μελέτες οδήγησαν σε φάσης I κλινικές μελέτες σε ασθενείς με μελάνωμα και διάφορα αδενοκαρκινώματα, συμπεριλαμβανομένου και του πνεύμονα⁵¹⁻⁵³.

ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΕΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ

Η παθογένεια του καρκίνου του πνεύμονα είναι μια διαδικασία πολλών σταδίων, η οποία επιτυγχάνεται με διαδοχική συσσώρευση γενετικών βλαβών. Καθεμία από αυτές τις ανωμαλίες (μεταλλάξεις απώλειας ή/και απόκτησης νέων λειτουργιών) μπορεί να αποτελέσει πιθανό στόχο για γονιδιακές θεραπευτικές προσεγγίσεις.

I. Διορθωτική γονιδιακή θεραπεία

Οι γενετικές αλλαγές που συναντώνται στα καρκινικά κύτταρα είναι δυνατόν να παρέχουν σε αυτά ένα πλεονέκτημα επιβίωσης. Τέτοιες αλλαγές μπορούν να διαχωριστούν σχετικά απλοποιημένα, σε αυτές που επιδρούν σε ογκοκατασταλτικά γονίδια (πρωτοογκογο-

νίδια - TSG) και σε αυτές που επιδρούν σε γονίδια που προάγουν την αύξηση του όγκου (ογκογονίδια). Γι' αυτό, οι προσπάθειες διόρθωσης των μη φυσιολογικών γονιδιακών λειτουργιών μπορούν να πάρουν δύο μορφές : α) την απόπειρα αποκατάστασης της φυσιολογικής λειτουργίας ενός μεταλλαγμένου κυτταρικού TSG ή ενός TSG που έχει εξαλειφθεί και β) την προσπάθεια να εξουδετερωθεί η αυξητική επίδραση του ογκογονιδίου στον όγκο. Δυστυχώς, καθώς τα καρκινικά κύτταρα έχουν πολλαπλές μεταλλάξεις σε διάφορες οδούς, η διόρθωση ενός γονιδίου μπορεί να μην είναι επαρκής για να επιτευχθεί το επιθυμητό θεραπευτικό αποτέλεσμα.

Αποκατάσταση της λειτουργίας των φυσιολογικών ογκοκατασταλτικών γονιδίων

Στόχος για την *in vivo* διορθωτική γονιδιακή θεραπεία του καρκίνου του πνεύμονα, αποτελούν τα γονίδια p53, Rb και τα ρυθμιστικά του κυτταρικού κύκλου γονίδια p16 και p21. Παρ' όλο που προκαταρκτικές μελέτες έχουν επιβεβαιώσει ότι η μεταφορά του TSG μπορεί να αλλάξει τον κακοήγη φαινότυπο τόσο *in vivo*, όσο και *in vitro*, η κύρια αδυναμία σε αυτήν τη στρατηγική είναι ότι κάθε κύτταρο ξεχωριστά πρέπει να αποτελεί στόχο, έτσι ώστε να εκριζωθεί ο όγκος. Όμως, η στρατηγική αυτή μπορεί να είναι πολύτιμη ως μέρος μιας πολυπαραγοντικής προσέγγισης, για παράδειγμα, σε συνδυασμό με κυτταροτοξική χημειοθεραπεία ή/και ακτινοθεραπεία.

p53: Το γονίδιο p53 προφυλάσσει από καταστροφή γενετικού υλικού ως ένας "φύλακας του γονιδιώματος"⁵⁴. Ο φυσιολογικός, ατροποποιητός τύπος της p53 πρωτεΐνης επιτρέπει την παρατεταμένη παραμονή του κυττάρου στην G1/S φάση του κυτταρικού κύκλου που παρατηρείται, ώστε το κύτταρο να προσπαθήσει να διορθώσει το DNA, πριν την είσοδο στη φάση S του κυτταρικού κύκλου. Εάν η βλάβη υπερβαίνει τη διορθωτική ικανότητα του κυττάρου, το p53 ωθεί το κύτταρο στη διαδικασία της απόπτωσης⁵⁵. Η έκφραση μεταλλαγμένης p53 πρωτεΐνης δίνει κύτταρα ανίκανα να προκαλέσουν αυτή τη λειτουργία. Συνεπώς, το κύτταρο συνεχίζει στον κυτταρικό κύκλο παρουσία της μη διορθωμένης βλάβης του DNA, η οποία, αν δεν είναι θανατηφόρα, θα μεταβιβαστεί στους απογόνους. Μια πρόσφατη μετα-ανάλυση επιβεβαίωσε την προγνωστι-

κή σημασία του μεταλλαγμένου p53 στα αδеноκαρκινώματα του καρκίνου του πνεύμονα, αλλά όχι στους καρκίνους του πνεύμονα πλακώδους ιστολογικού τύπου⁵⁶. Οι προσπάθειες να διορθωθεί η έκφραση μη φυσιολογικού p53 *in vitro* και *in vivo*, εστιάστηκαν στη χρήση ιικών φορέων για τη μεταφορά ενός ατροποποιητού τύπου p53 γονιδίου.

Προκλινικές μελέτες έδειξαν μειωμένη αύξηση των καρκινικών κυττάρων του πνεύμονα *in vivo* και *in vitro*, μετά από μεταφορά του ατροποποιητού τύπου p53, από αδενοϊούς^{57,58}, ρετροϊούς⁵⁹ και κατιονικά λιποσώματα⁶⁰. Επιπροσθέτως, το Ad-p53 φάνηκε να ευαισθητοποιεί τα καρκινικά κύτταρα του πνεύμονα στις επιδράσεις της κυτταροτοξικής χημειοθεραπείας τόσο *in vivo* όσο και *in vitro*^{58,61}. Ως αποτέλεσμα, αρχικές μελέτες φάσης I έχουν διεξαχθεί σε ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα. Οι Roth και συνεργάτες χορήγησαν σε 9 ασθενείς έναν ρετροϊικό φορέα που εξέφραζε τον ατροποποιητό τύπο p53. Ειδικές αλληλουχίες του φορέα του p53, ανιχνεύθηκαν σε βιοψίες μετά θεραπεία. Δεν τεκμηριώθηκε τοξικότητα σχετιζόμενη με τη θεραπεία, ενώ σε 3 ασθενείς παρατηρήθηκε μείωση του μεγέθους του όγκου⁶³. Μελέτες με Ad-p53 παρουσίασαν παρόμοια δεδομένα όσον αφορά στην ασφάλεια, καθώς και ενδείξεις σταθεροποίησης της νόσου και μερικής ανταπόκρισης σε μερικούς ασθενείς⁶³⁻⁶⁵.

Rb: Το προϊόν του γονιδίου του ρετινοβλαστώματος Rb ρυθμίζει τη μετάβαση των κυττάρων από το όριο της φάσης G1/S του κυτταρικού κύκλου. Απώλεια της φυσιολογικής λειτουργίας του Rb μεταφέρει αυτό το σημείο και παρέχει στα κύτταρα ένα πλεονέκτημα ανάπτυξης. Υπάρχουν αναφορές, που δείχνουν ότι η μεταφορά του άγριου τύπου Rb σε όγκους πνεύμονα, ουροδόχου κύστης, υπόφυσης και σε νευροενδοκρινικούς όγκους προκαλεί ανταπόκριση σε μοντέλα όγκων τρωκτικών⁶⁶⁻⁶⁸, αλλά δεν έχει ακόμη δοκιμασθεί σε κλινικές μελέτες καρκίνου του πνεύμονα.

p21: Η πρωτεΐνη p21(waf1/cip1) είναι ένας αναστολέας της κυκλο-εξαρωμένης κινάσης, ικανός να σταματήσει τον κυτταρικό κύκλο στη φάση G1, μέσω της αναστολής του αναδιπλασιασμού του DNA. Η έκφρασή της επάγεται από το γονίδιο p53 παρουσία βλάβης του DNA. Οι Joshi και συνεργάτες⁶⁹ ανέφεραν ότι η μεταφορά του Ad-p21 προκάλεσε σημαντική καθυστέρηση αύξησης όγκου NSCLC τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*.

Έχει επίσης αναφερθεί, αύξηση του p21 σε ασθενείς με NSCLC που υποβλήθηκαν σε γονιδιακή θεραπεία με Ad-p53, και αυτή η αύξηση σχετίζεται με σταθεροποίηση ή υποχώρηση της νόσου⁷⁰.

p16: Η πρωτεΐνη του γονιδίου p16 (MTS1/INK4A) δρα ως ένας σημαντικός ανασταλτικός ρυθμιστής της πορείας του κυτταρικού κύκλου. Μη φυσιολογική λειτουργία του p16 σχετίζεται με κακοήγη φαινότυπο. Απεδείχθη ότι οι αδενοϊικοί φορείς που μεταφέρουν το p16 γονίδιο είναι ικανοί να μειώσουν in vitro τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων σε NSCLC και SCLC⁷¹. Δεν έχει χρησιμοποιηθεί ως στόχος γονιδιακής θεραπείας σε κλινικές μελέτες ΚΠ.

Καταστολή της λειτουργίας των ογκογονιδίων

Ένας αριθμός από μεταλλάξεις μπορεί να οδηγήσει σε άμεση ενεργοποίηση των ογκογονιδίων, τα οποία παρέχουν στον όγκο ένα πλεονέκτημα αύξησης και πολλαπλασιασμού ή την ικανότητα να αποφεύγει τις φυσιολογικές διαδικασίες απόπτωσης. Παραδείγματα τέτοιων ογκογονιδίων, τα οποία συχνά μεταλλάσσονται στους καρκίνους, συμπεριλαμβανομένου και του καρκίνου του πνεύμονα, είναι τα γονίδια *ras*, *myc*, *c-erbB2* και *bcl-2*⁷²⁻⁷⁵. Η γονιδιακή θεραπεία στοχεύει στο να καταστείλει τη λειτουργία αυτών των μεταλλαγμένων γονιδίων. Για να είναι επιτυχής, πρέπει να στοχεύεται κάθε κύτταρο του όγκου ξεχωριστά. Παρόλα αυτά, μια χρήσιμη στρατηγική μπορεί να είναι ο συνδυασμός τέτοιας γονιδιακής θεραπείας με άλλους, συνήθεις κυτταροτοξικούς παράγοντες. Δύο κύριες στρατηγικές για αυτή την προσέγγιση έχουν περιγραφεί: τα συμπληρωματικά ολιγονουκλεοτίδια και τα καταλυτικά ριβοσωμακά ένζυμα.

Τα συμπληρωματικά ολιγονουκλεοτίδια (Antisense Oligonucleotides-AO) είναι αλληλουχίες νουκλεϊκών οξέων συμπληρωματικές στις αλληλουχίες των γονιδίων, που καλούνται να αναστείλουν. Μέχρι τώρα, οι ακριβείς μηχανισμοί μέσω των οποίων δρουν τα AO δεν έχουν προσδιοριστεί. Θεωρείται ότι αναστέλλουν ειδικώς τις δραστηριότητες των ογκογονιδίων, είτε με το να συνδέονται με αλληλουχίες DNA και να εμποδίζουν τη μεταγραφή, είτε με το να συνδέονται με αντίγραφα mRNA και να εμποδίζουν τη μετάφραση.

Οι Schrupp και συνεργάτες⁷⁶ απέδειξαν ότι η "επιμόλυνση" των καρκινικών κυττάρων του πνεύμονα (NS-

CLC) με ένα συμπληρωματικό κυκλικό D1 παράγωγο μείωσε τον in vitro πολλαπλασιασμό και την καρκινογόνο ικανότητα σε ποντίκια. Οι Gao και συνεργάτες⁷⁷ χρησιμοποίησαν in vitro συμπληρωματικό RNA έναντι των γονιδίων MDR1 και MRP, που ευθύνονται για την αντοχή στα κυτταροστατικά, σε κυτταρικές σειρές NSCLC. Μετά την ενδοκυττάρια χορήγηση DNA, με φορέα ιούς RV, η έκφραση των MDR1 και MRP μειώθηκε σημαντικά και τα κύτταρα έγιναν πιο ευαίσθητα σε κυτταροτοξική χημειοθεραπεία. Τέλος, η επίδραση των AO σε υποδοχείς επιδερμικού αυξητικού παράγοντα έδειξε να μειώνει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό in vitro σε κύτταρα NSCLC⁷⁸.

Τα ριβοσωμακά ένζυμα (Ribozymes) είναι RNA μόρια με ενζυμική δράση, ώστε να καταλύουν τον κατακερματισμό μορίων mRNA⁷⁹. Τα λεγόμενα σφυροκέφαλα ριβοσωμακά ένζυμα (λόγω του σχήματος του μορίου τους) είναι τα πιο καλά μελετημένα μόρια αυτής της ομάδας.

Οι Cai και συνεργάτες⁸⁰ ανέφεραν την ικανότητα ενός καταλυτικού RNA να διασπά το προ-αγγελιοφόρο RNA του p53 και ως συνέπεια, τα κύτταρα του NSCLC να παρουσιάζουν σημαντική μείωση του ρυθμού πολλαπλασιασμού τους. Μια διαφορετική προσέγγιση χρησιμοποιήθηκε από τους Watanabe και συν.⁸¹, οι οποίοι απέδειξαν ότι ένα ριβοσωμακό ένζυμο είναι ικανό να διορθώσει μεταλλαγμένα p53 mRNA και έτσι να αυξήσει το κυτταρικό περιεχόμενο σε ατροποποιημένο p53. Ένα σφυροκέφαλο ριβοσωμακό ένζυμο εναντίον ενός K-ras φάνηκε να έχει δράση ενάντια κυτταρικών σειρών στον καρκίνο του πνεύμονα σε in vitro και in vivo μελέτες⁸².

II. Κυτταροτοξική γονιδιακή θεραπεία

Η κυτταροτοξική γονιδιακή θεραπεία αποσκοπεί στη μεταφορά γονιδίων, τα οποία είναι ικανά να θανατώσουν τα καρκινικά κύτταρα άμεσα ή έμμεσα (με το να τα καθιστούν ευαίσθητα στη χημειοθεραπεία ή στην ακτινοβολία). Για την επίτευξη του σκοπού αυτού έχουν αναπτυχθεί αρκετές στρατηγικές:

Gene Directed Enzyme Prodrug Therapy (GDEPT)

Σύμφωνα με την ανωτέρω στρατηγική, ένα γονίδιο, που δεν εκφράζεται στα φυσιολογικά ανθρώπινα κύτταρα και κωδικοποιεί ένα ένζυμο το οποίο μετατρέπει

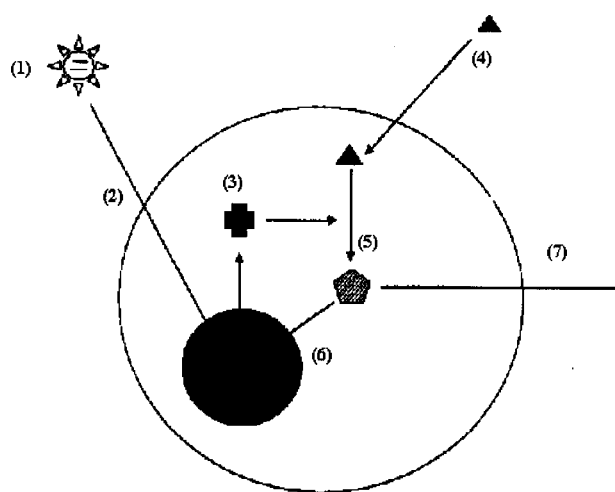
ένα προφάρμακο σε έναν ενεργό κυτταροτοξικό παράγοντα, εισάγεται στο νεοπλασματικό κύτταρο. Το ένζυμο πρέπει να προκαλεί την ελάχιστη ανοσολογική αντίδραση του ξενιστή (αν και για την ανοσορρυθμιστική γονιδιακή θεραπεία, μια ανοσολογική αντίδραση μπορεί να είναι ωφέλιμη). Το προφάρμακο πρέπει να έχει ελάχιστη τοξικότητα και καλά μελετημένη φαρμακοκινητική, ενώ το ενεργό φάρμακο είναι ικανό να θανατώνει τα νεοπλασματικά κύτταρα, σε διάφορες φάσεις του κυτταρικού κύκλου⁸³ (Εικόνα 3). Ένα επιπλέον πλεονέκτημα της στρατηγικής αυτής είναι η δυνατότητα να καταστρέφονται όχι μόνο τα νεοπλασματικά κύτταρα που προσλαμβάνουν και εκφράζουν το νέο γονίδιο, αλλά και τα γειτονικά τους (το λεγόμενο "bystander effect"), αφού το ένζυμο που παράγεται αποδεδειγμένα στο μικροπεριβάλλον του όγκου⁸⁴.

Από έναν μεγάλο αριθμό θανατηφόρων γονιδίων που έχουν προταθεί ως στόχοι GDEPT, οι δύο πιο μελετημένες εφαρμογές της GDEPT είναι το σύστημα της κινάσης της θυμιδίνης των ιών του απλού έρπητα (HSVtk) και της γκανκυκλοβίρης (GCV) και το σύστημα της βακτηριακής διαμινάσης της κυτοσίνης του *E. coli* (CD) και της 5-φθοριοκυτοσίνης (5-FC). Όσον αφορά στις εφαρμογές τους στον καρκίνο του πνεύμονα, οι Osaki και συνεργάτες⁸⁵ ανέφεραν τη δράση του HSVtk, κάτω από τον έλεγχο ενός CEA προωθητή, στην NSCLC κυτταρική σειρά A549, *in vitro* αλλά και *in vivo*. Σημαντική δράση του συστήματος HSVtk/GCV έχει επίσης αποδειχθεί *in vivo* σε υπεζωκοτικές μεταστάσεις⁸⁶. Μια άμεση, *in vitro* σύγκριση του HSVtk και CD σε διάφορες κυτταρικές σειρές καρκίνου του πνεύμονα (NSCLC) αποκάλυψε ότι το CD έχει πιο σημαντική δράση, τόσο σε μεταλλαγμένα, όσο και σε μη μεταλλαγμένα κύτταρα⁸⁷.

Γονιδιακή Θεραπεία Έναντι της Νεοαγγειογένεσης (AAGT)

Για να αυξηθεί σε μέγεθος ένας όγκος πέραν των 1-2 mm, είναι απαραίτητη η εξασφάλιση της αιμάτωσής του με τη δημιουργία νεόπλαστων αγγείων^{88,89}. Σε φυσιολογικές συνθήκες, αυτή η διαδικασία είναι καλά ρυθμιζόμενη από διάφορους αγγειογενετικούς παράγοντες πιο σημαντικοί των οποίων είναι ο ινοβλαστικός αυξητικός παράγοντας (FGF-b) και ο αυξητικός παράγοντας αγγειακού επιθηλίου (VEGF), έτσι ώστε η αγγειογένεση να περιορίζεται κατά τη διάρκεια του γυναικείου αναπαραγωγικού κύκλου, στην εγκυμοσύνη και στην επούλωση τραυμάτων⁹⁰. Σε ασθενείς με καρκίνο, ο περιορισμός της νεοαγγειογένεσης στον καρκινικό ιστό προσφέρει την προοπτική μιας επιλεκτικής επίδρασης της αντι-αγγειογενετικής γονιδιακής θεραπείας (AAGT) με ελάχιστη τοξικότητα στους υγιείς ιστούς. Ο σχηματισμός νέων αγγείων απαιτεί μια σειρά σταδίων, περιλαμβάνοντας μετανάστευση ενδοθηλιακών κυττάρων, πολλαπλασιασμό και ωρίμανση, καθένα από τα οποία προ-

γειογένεση να περιορίζεται κατά τη διάρκεια του γυναικείου αναπαραγωγικού κύκλου, στην εγκυμοσύνη και στην επούλωση τραυμάτων⁹⁰. Σε ασθενείς με καρκίνο, ο περιορισμός της νεοαγγειογένεσης στον καρκινικό ιστό προσφέρει την προοπτική μιας επιλεκτικής επίδρασης της αντι-αγγειογενετικής γονιδιακής θεραπείας (AAGT) με ελάχιστη τοξικότητα στους υγιείς ιστούς. Ο σχηματισμός νέων αγγείων απαιτεί μια σειρά σταδίων, περιλαμβάνοντας μετανάστευση ενδοθηλιακών κυττάρων, πολλαπλασιασμό και ωρίμανση, καθένα από τα οποία προ-



- (1) Χορήγηση ιού που μεταφέρει το γονίδιο έκφρασης ενός εξωγενούς ενζύμου.
- (2) Το γονίδιο μεταφέρεται μέσα στο κύτταρο και εγκαθίσταται στον πυρήνα του.
- (3) Το γονίδιο εκφράζεται και παράγει ποσότητες του ενζύμου.
- (4) Χορήγηση του προφαρμάκου, το οποίο είναι μη τοξικό και μη δραστικό.
- (5) Το προφάρμακο εισέρχεται στο κύτταρο και από το ένζυμο μετατρέπεται στο δραστικό φάρμακο.
- (6) Το φάρμακο εισέρχεται στον πυρήνα του κυττάρου και το σκοτώνει.
- (7) Ποσότητες του φαρμάκου διαχέονται και σκοτώνουν και τα γειτονικά κύτταρα.

Εικόνα 3. Απεικόνιση του συστήματος Gene Directed Enzyme Prodrug Therapy (GDEPT). Η διαδοχική χορήγηση ενός ιού που στο γονιδίωμά του περιλαμβάνει την κωδικοποίηση ενός εξωγενούς ενζύμου και μιας πρόδρομης ουσίας, οδηγεί στην τοπική ενεργοποίηση ενός κυτταροτοξικού φαρμάκου, το οποίο σκοτώνει το ίδιο το κύτταρο, αλλά και τα γειτονικά κύτταρα (παρατυχούσα δράση-bystander effect).

σφέρει ένα πιθανό στόχο για θεραπευτική παρέμβαση⁹¹⁻⁹³.

Η αποτελεσματικότητα των αναστολέων της αγγειογένεσης, αγγειοστατίνη και ενδοστατίνη⁹⁴⁻⁹⁷, αποδείχθηκε σε μοντέλα όγκων σε πειραματόζωα. Λόγω του ότι αυτοί οι παράγοντες είναι πρωτεΐνες, είναι ακατάλληλοι για επαναλαμβανόμενη ή συνεχή χορήγηση. Γι' αυτό, είναι κατάλληλοι για προσπάθειες μεταφοράς τους μέσω τεχνικών γονιδιακής θεραπείας. Η έκφραση της ενδοστατίνης από έναν ανασυνδυασμένο αδενοϊό που μεταφέρθηκε συστηματικά σε ποντίκια προκάλεσε υψηλά, σταθερά επίπεδα πλάσματος τα οποία ήταν επαρκή για να καθυστερήσουν την εμφάνιση ή εμφύτευση του όγκου, να μειώσουν την ανάπτυξη των εγκαταστημένων όγκων και να αποτρέψουν την ανάπτυξη μεταστάσεων στο μοντέλο Lewis του καρκίνου του πνεύμονα⁹⁸⁻⁹⁹.

Σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του πνεύμονα ανεστάλη η δράση του VEGF, με τη χρησιμοποίηση ενός διαλυτού τμήματος του υποδοχέα VEGF, του sFLT-1. Τα κύτταρα εκείνα τα οποία έχουν επιμολυνθεί με το sFLT-1 αναπτύχθηκαν αρκετά πιο αργά και είχαν μειωμένη ικανότητα να σχηματίζουν όζους στον πνεύμονα σε ένα πειραματικό μοντέλο μετάστασης¹⁰⁰. Με παρόμοια προσέγγιση, φάνηκε ότι η ενδοογκική χορήγηση ενός AV φορέα που φέρει το γονίδιο του διαλυτού Tie2 (έναν υποδοχέα ειδικό για το ενδοθήλιο των αγγείων της κινάσης της τυροσίνης για την αγγειοποιητίνη-1) καθυστερεί την ανάπτυξη του όγκου με το να μπλοκάρει την αγγειοποιητίνη-1. Επιπλέον, χορήγηση του ίδιου AV φορέα μειώνει την εμφάνιση μεταστάσεων στον πνεύμονα¹⁰¹.

Γενετική επαγωγή της απόπτωσης

Ο κυτταρικός μηχανισμός απόπτωσης έχει αποτελέσει στόχο θεραπείας του καρκίνου του πνεύμονα σε, *in vitro* και *in vivo* μελέτες. Οι Coll και συνεργάτες¹⁰² απέδειξαν τη δράση του bax γονιδίου που προκαλεί απόπτωση, σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του πνεύμονα *in vitro*. Επιπλέον, μετά από επαναλαμβανόμενες ενέσεις ατροποποιήτου DNA σε όγκους καρκίνου του πνεύμονα υπήρξε σημαντική καθυστέρηση της ανάπτυξης του όγκου, αλλά όχι πλήρης εξάλειψή του. Παρόμοια στοιχεία για την επίδραση του bax έχουν αναφερθεί, χρησιμοποιώντας ένα ρυθμιζόμενο δυαδικό

σύστημα AV¹⁰³. Επιπλέον, μεταφορά ενός AV φορέα που περιέχει το γονίδιο Fas φαίνεται ότι κατευθύνει τα καρκινικά πνευμονικά κύτταρα σε απόπτωση μεσολαβούμενη από το γονίδιο p53¹⁰⁴. Οι Griffith και συνεργάτες¹⁰⁵ πρόσφατα περιέγραψαν τη χρήση ενός AV φορέα για την άμεση, *in vitro* επαγωγή της απόπτωσης μέσω του παράγοντα TNF, σε μια ποικιλία από καρκινικές κυτταρικές σειρές, περιλαμβανομένου και του καρκίνου του πνεύμονα. Η ίδια τεχνική ήταν αποτελεσματική και στην επαγωγή της απόπτωσης, μέσω ενεργοποίησης της κασπάσης.

Άλλες κυτταροτοξικές προσεγγίσεις γονιδιακής θεραπείας

Οι Spitzweg και συν. (1999) πρότειναν μια στρατηγική για τη θεραπεία του καρκίνου, βασισμένη στην επιτυχή θεραπεία του καρκίνου του θυρεοειδούς με ραδιενεργό ιώδιο^{106,107}. Η ικανότητα των φυσιολογικών και κακόηθων θυρεοειδικών κυττάρων να συγκεντρώνουν ιώδιο οφείλεται στην έκφραση του συνμεταφορέα ιωδιούχου νατρίου (sodium iodide symporter, NIS), το οποίο έχει κλωνοποιηθεί και ταυτοποιηθεί τα τελευταία χρόνια. Ένα πρωτότυπο σχήμα γονιδιακής θεραπείας που χρησιμοποιεί τη μεταφορά NIS γονιδίου για να προάγει τη συσσώρευση ιωδίου σε καρκινικά κύτταρα του πνεύμονα, ίσως να επεκτείνει τη χρησιμότητα της θεραπείας με ραδιενεργό ιώδιο.

Οι Boland και συν.¹⁰⁸ προκάλεσαν την έκφραση του NIS ποντικών σε κυτταρικές σειρές καρκινικών κυττάρων του πνεύμονα, με γονιδιακή μεταφορά μεσολαβούμενη από αδενοϊούς και μπόρεσαν να αποδείξουν την πρόσληψη ραδιοϊωδίου καθώς και μια επιλεκτική κυτταροτοξική επίδραση του εγκλωβισμένου ραδιοϊωδίου *in vitro*. Ενώ μέχρι το 11% του εγχυόμενου ραδιοϊσοτόπου εντοπίστηκε ανά γραμμάριο ιστού όγκου σε προκλινικά μοντέλα καρκίνου του πνεύμονα, παραμένει να αποδειχθεί το θεραπευτικό αποτέλεσμα της εκλεκτικής αυτής συγκέντρωσης^{108,109}.

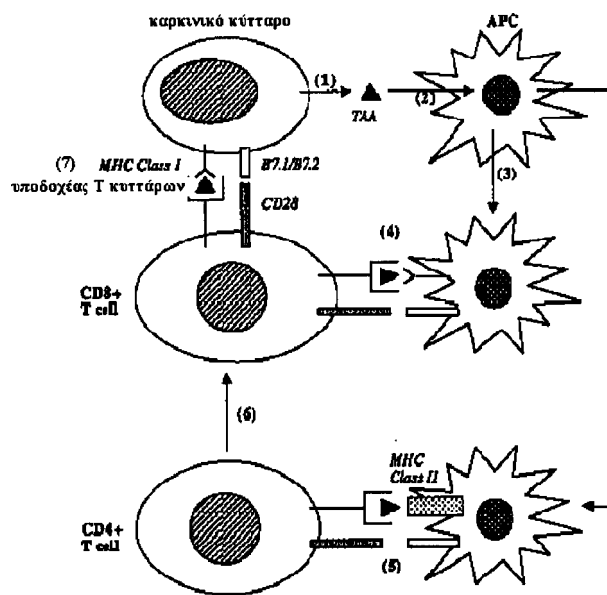
III. Ανοσορυθμιστική γονιδιακή θεραπεία

Παρά το γεγονός ότι πολλοί όγκοι εκφράζουν τα λεγόμενα αντιγόνα που σχετίζονται με τον όγκο (tumor-associated antigens, TAA), τα οποία μπορούν να αναγνωριστούν από το ανοσολογικό σύστημα, η πρόκληση τεκμηριωμένων αντικαρκινικών ανοσολογικών αντιδρά-

σεων είναι ιδιαίτερα σπάνιες. Αυτή η προφανής παραδοξολογία έρχεται σε αντίθεση με την υπόθεση ότι οι όγκοι αποφεύγουν το ανοσολογικό σύστημα με το να μειώνουν την ικανότητά τους για ανοσογένεση και με το να αμβλύνουν την επίδραση των ανοσολογικών αντιδράσεων που στρέφονται εναντίον τους¹¹⁰. Έχουν αναγνωριστεί μηχανισμοί που συμβάλλουν σε αυτό, όπως η μείωση ή απουσία έκφρασης των μορίων μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC) τάξης I και των επαγωγικών B7.1/B7.2 που συμβαίνει σε πολλούς καρκίνους, συμπεριλαμβανομένου και του καρκίνου του πνεύμονα, και μειώνει την παρουσία των TAA σε κυτταροτοξικά Τ λεμφοκύτταρα (CTL) (Εικόνα 4). Μεταλλάξεις σε οδούς που ρυθμίζουν τη μεταφορά και παρουσίαση των πεπτιδίων στην επιφάνεια των κυττάρων του όγκου, μπορούν επίσης να τα αποκρύψουν από την ανίχνευση από τα CTL. Τα CTL που διεισδύουν στον καρκίνο του πνεύμονα μπορεί να θανατωθούν από την απελευθέρωση του διαλυτού Fas συνδέσμου (Fas ligand, FasL) από τα κύτταρα του όγκου, ενώ τα κακοήγη κύτταρα φαίνεται να είναι σχετικά ανθεκτικά σε αυτού του είδους το θάνατο.

Η παρουσία τέτοιων ανοσολογικών βλαβών ώθησε το ενδιαφέρον σε προσεγγίσεις που στοχεύουν στη μεταφορά γονιδίων, τα οποία προάγουν την ανοσογονικότητα των όγκων και την ανταπόκριση του ανοσολογικού συστήματος^{110,111}. Οι προσπάθειες ενεργοποίησης του ανοσολογικού συστήματος ενάντια στον καρκίνο έχουν τα εξής πιθανά πλεονεκτήματα: 1) η ειδικότητα των ανοσολογικών αντιδράσεων θα μειώσει την τοξικότητα σε φυσιολογικούς ιστούς, 2) οι ανοσολογικές αντιδράσεις που προκαλούνται από τα κύτταρα του πρωτοπαθή όγκου έχουν συστηματική δράση και μπορούν να στοχεύσουν και τα κύτταρα δευτεροπαθών εντοπίσεων, 3) οι ανοσολογικές αντιδράσεις σχετίζονται με σημαντική ενίσχυση του αποτελέσματος, τέτοια ώστε ένα μικρό αρχικό ερέθισμα να προκαλεί μια μεγάλη αντίδραση και 4) από τη στιγμή που θα προκληθεί και εγκατασταθεί η αντι-καρκινική ανοσία, αυτή θα είναι μόνιμη.

Μια λεπτομερής ανάλυση των κυτταρικών και χυμικών συστατικών που σχετίζονται με την παραγωγή αποτελεσματικών ανοσολογικών αντιδράσεων κατά του καρκίνου είναι πέρα από τους σκοπούς αυτής της ανασκόπησης. Το κυτταρικό σκέλος του ανοσολογικού συστήματος έχει περισσότερο μελετηθεί και φαίνεται να



(1) Αποδέσμευση αντιγόνων που σχετίζονται με τον όγκο (TAA), από τα καρκινικά κύτταρα. Η αποδέσμευση μπορεί να είναι "αυθόρμητη" ή μετά από χημειοθεραπεία.

(2) Φαγοκύτωση των TAA από ανώριμα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APC) του ξενιστή.

(3) Ωρίμανση των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων (APC) του ξενιστή.

(4) Παρουσίαση των TAA στα CD8+ λεμφοκύτταρα, από τα διεγερμένα APC, παρουσία των μορίων MHC τάξης I και B7.1/B7.2. Η διαδικασία αυτή ενεργοποιεί τα Cytotoxic Tumor Lysis cells (CTLs).

(5) Παρουσίαση των TAA στα CD4+ λεμφοκύτταρα, από τα διεγερμένα APC, παρουσία των μορίων MHC τάξης II και B7.1/B7.2.

(6) Παραγωγή κυτταροκινών από τα CD4+ κύτταρα, με σκοπό τη διέγερση των CD8+ κυττάρων.

(7) Αναγνώριση των TAA των καρκινικών κυττάρων από τα CTLs, παρουσία των μορίων MHC τάξης I και B7.1/B7.2. Η διαδικασία αυτή καταλήγει σε λύση του καρκινικού κυττάρου.

Εικόνα 4. Απλοποιημένη απεικόνιση των διαδοχικών βημάτων που οδηγούν σε ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή από τα καρκινικά κύτταρα. Πολλά σημεία της διαδικασίας αυτής αποτελούν στόχους της γονιδιακής θεραπείας.

είναι η πιο πρόσφορη οδός για ανάπτυξη ανοσορρυθμιστικής γονιδιακής θεραπείας. Ο ρόλος της χυμικής ανοσίας στην παραγωγή ειδικών αντικαρκινικών αντισωμάτων δεν είναι τελείως ξεκάθαρος. Το κεντρικό σημείο

της πρόκλησης μιας αντικαρκινικής αντίδρασης είναι η ενεργοποίηση των ειδικών CD8+ CTL, ικανών να αναγνωρίζουν τα TAA και να τους κληροδοτούν τη δύναμη να θανατώνουν κύτταρα που εκφράζουν αντιγόνα (Εικόνα 4). Μια σειρά από βήματα σε αυτή τη διαδικασία, έχουν εκπραπεί του φυσιολογικού στο περιβάλλον του όγκου και αποτελούν έτσι στόχο, για την ανοσορρυθμιστική γονιδιακή θεραπεία.

Η εικόνα 4 δείχνει μερικούς από τους τρόπους με τους οποίους η μεταφορά ενός θεραπευτικού γονιδίου μπορεί να χρησιμοποιηθεί, για να παράγει ή να επιτείνει την ανοσολογική αντίδραση κατά των όγκων. Αυτές οι προσεγγίσεις μπορούν να διακριθούν στα παρακάτω: α) μεταφορά γονιδίων κυτοκινών για να αυξηθεί η συσσώρευση και η ανοσοδιέγερση των αντιγονοπαραγωγών κυττάρων (Antigen Presenting Cells, APC) ιδιαιτέρως των δενδριτικών κυττάρων και μακροφάγων και των T-κυττάρων¹¹², β) μεταφορά των γονιδίων που κωδικοποιούν επαγωγικά μόρια για να βελτιωθεί η ικανότητα των CTL να αναγνωρίζουν, να δεσμεύουν και να καταστρέφουν καρκινικά κύτταρα¹¹³, γ) έκφραση εξωγενών ανοσοαντιγόνων (π.χ. αλλογενετικά καρκινικά κύτταρα ή MHC μόρια) για να παραχθούν ισχυρές τοπικές ανοσολογικές και αντιφλεγμονώδεις αντιδράσεις, καθώς και να δημιουργηθεί ένα περιβάλλον που συμβάλλει στην πρόσληψη TAA από τα APC (αποκαλούμενο διασταυρούμενο έναυσμα, cross priming)¹¹⁴, δ) μεταφορά κυτταροτοξικής γονιδιακής θεραπείας (π.χ. HSV-tk/GCV) με σκοπό την απελευθέρωση TAA, το οποίο μπορεί να φαγοκυτταρωθεί από τα APC και να παρουσιαστεί στα ανοσοδραστικά κύτταρα¹¹⁵, ε) μεταφορά κλωνοποιημένου TAA ως ατροποποιητό DNA, με σκοπό να παράγει ανοσοαντιδράσεις με μηχανισμούς οι οποίοι πιθανώς σχετίζονται με πρόσληψη και έκφραση του DNA από τα APC¹¹⁶.

Οι περισσότερες μελέτες για την ανοσορρυθμιστική γονιδιακή θεραπεία διεξήχθησαν σε διάφορους τύπους όγκων, εκτός του καρκίνου του πνεύμονα. Αρκετό έργο έχει γίνει σε μοντέλα ζώων, χρησιμοποιώντας μεταφορά γονιδίων κυτοκινών για τη διέγερση APC, CD4+ και CD8+ κυττάρων, με σκοπό να συσσωρευθούν στους όγκους και να θανατώσουν τα καρκινικά κύτταρα. Ιδιαίτερη προσοχή έχει δοθεί στη χρήση του παράγοντα ενεργοποίησης των ουδετερόφιλων & μακρο-

φάγων (GM-CSF), και των κυτταροκινών IL-2¹¹⁷⁻¹¹⁹, IL-4, IL-6, IL-7, IL-12, INF-β και -γ (INF-g) και τον παράγοντα νέκρωσης του όγκου (TNF-a)¹²⁰⁻¹²². Επιπλέον, μοντέλα απέδειξαν την αποτελεσματικότητα της γενετικής μεταφοράς των επαγωγικών μορίων^{123,124}.

IV. Χημειοπροστατευτική γονιδιακή θεραπεία

Το κύριο πρόβλημα της συμβατικής αντινεοπλασματικής θεραπείας είναι η έλλειψη ειδικότητας, με αποτέλεσμα την υψηλή τοξικότητα από τους υγιείς ιστούς και κυρίως από το μυελό των οστών. Για να επιτευχθεί η επαναλαμβανόμενη χορήγηση υψηλών δόσεων χημειοθεραπείας σε ασθενείς με συμπαγείς όγκους, χωρίς την ταυτόχρονη προσβολή του μυελού, έγινε απόπειρα απευαισθητοποίησης των αιμοποιητικών κυττάρων, με εφαρμογή των αρχών της γονιδιακής θεραπείας. Γονίδια που εκφράζουν πρωτεΐνες όπως η απαμινάση της κυτιδίνης (cytidine deaminase - CD) και η αλκυλτρανσφεράση επισκευής του DNA (O6-alkylguanine-DNA-alkyltransferase - ATase) εισήχθησαν σε αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα πριν από την έναρξη της θεραπείας και διαπιστώθηκε σημαντική προστασία των λευκών αιμοσφαιρίων αλλά και των αιμοπεταλίων. Παρ' ότι τα προκαταρκτικά αποτελέσματα ήταν ελπιδοφόρα, οι κλινικές μελέτες προχωρούν με βραδύτητα, λόγω των πιθανών κινδύνων από την εφαρμογή της εν λόγω τεχνικής^{125,126}.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Όπως είναι εμφανές από το μεγάλο αριθμό μελετών που έχουν δημοσιευθεί τα τελευταία 2-3 χρόνια, τα βήματα της έρευνας στη γονιδιακή θεραπεία του καρκίνου του πνεύμονα θα επιταχυνθούν τα προσεχή χρόνια. Είναι φανερό, ότι κύρια πρόκληση αποτελεί το ερώτημα για την αποτελεσματικότητα της γονιδιακής μεταφοράς μέσω συστηματικά χορηγούμενων φορέων. Αν αυτός ο στόχος μπορέσει να επιτευχθεί, το επόμενο που πρέπει να αποφασιστεί είναι η επιλογή του πλέον κατάλληλου στόχου της θεραπείας. Βάσει αυτού, είναι πιο πιθανό ότι οι κυτταρομειωτικές θεραπείες θα είναι οι πλεονεκτικότερες αφού, κατά την εγκατάσταση του καρκίνου, η παροδική γονιδιακή έκφραση μπορεί να είναι επαρκής για την επίτευξη του κυτταρικού θανάτου. Επιπλέον, η ανοσορρυθμιστική γονιδια-

κή θεραπεία αντιπροσωπεύει ένα εξαιρετικά ελκυστικό στόχο, όπου η τοπική χορήγηση ισχυρών γονιδίων μπορεί να είναι επαρκής για να κινητοποιήσει το ανοσολογικό σύστημα για την απόρριψη γενικευμένης νόσου.

Αντίθετα, οι προσεγγίσεις που στοχεύουν στη διάθωση μη φυσιολογικής έκφρασης των TSG ή των καρκινικών ογκογονιδίων, μπορεί να μην αρμόζουν στη γονιδιακή θεραπεία του καρκίνου του πνεύμονα. Τέτοιες προσεγγίσεις είτε χρειάζονται προκειμένου να επιτευχθεί μόνιμη γονιδιακή έκφραση, είτε συνδυάζονται

με τυπικές αντικαρκινικές θεραπείες, οι οποίες μπορούν να θανατώσουν τα κακοήγη κύτταρα. Στο προσεχές μέλλον είναι απίθανο κάποια από αυτές τις στρατηγικές γονιδιακής θεραπείας που περιγράφηκαν σε αυτό το κείμενο να είναι ικανή να θεραπεύσει ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα, χορηγούμενη ως μονοθεραπεία. Είναι πιο πιθανό, η γονιδιακή θεραπεία για τον καρκίνο του πνεύμονα να παίζει ρόλο, ως μέρος μιας πολυ-παράγοντικής προσέγγισης, σε συνδυασμό με χειρουργική εξαίρεση, ακτινοθεραπεία και κλασική κυτταροτοξική φαρμακευτική θεραπεία.

SUMMARY

Gene therapy strategies for lung cancer

Harrington K.I., Syrigos C.N.

*Lung cancer carries a dismal prognosis with conventional therapies achieving no significant improvements in survival in the last decade. In recent years, the advances achieved in understanding the molecular biology of cancer have afforded clinicians and scientists the opportunity to develop a range of novel genetic therapies for this disease. A detailed review of the published reports dealing with gene therapy of lung cancer has been conducted. Particular emphasis has been placed on recent developments in the arena of non-viral (plasmid DNA, DNA-coated gold particles, liposomes and polymer-DNA complexes) and viral (adenovirus, retrovirus, adeno-associated virus, herpes virus and pox virus) vectors. Therapeutic strategies were categorised as corrective, cytoreductive and immunomodulatory gene therapy for the purpose of data analysis and comparison. Loco-regional administration of both non-viral and viral vectors can yield impressive local gene expression and therapeutic effects but, as yet, no efficient systemically-delivered vector is available. Corrective gene therapy to restore normal patterns of tumor suppressor gene (p53, Rb, p21, p16) expression or to negate the effect of mutated tumor promoting oncogenes (ras, myc, erbB2, bcl-2) have efficacy in animal models but this approach suffers from the fact that every cancer cell must be targeted. A wide variety of cytoreductive strategies are under development, including suicide, anti-angiogenic, radioisotopic and pro-apoptotic gene therapies. Each of these approaches has strengths and weaknesses and may best be suited to use in combination. Immunomodulatory gene therapy seeks to generate an effective local immune response which translates to systemic antitumor activity. At present, most studies employ immunostimulatory cytokine genes (GM-CSF, IL-2, IL-12). In conclusion, a variety of therapeutic genes have proven activity against lung cancer in vitro and in vivo. However, the chief challenge facing clinical gene therapy strategies is the lack of efficient gene delivery by local and systemic routes and, for the foreseeable future, vector development will remain a major focus of ongoing research. Despite this caveat, it is anticipated that gene therapy approaches will make a significant contribution to the management of lung cancer in the future. **Pneumon 2002, 15(1):19-37.***

REFERENCES

1. Verma IM, Somia N. Gene therapy - promises, problems and prospects. *Nature* 1997, 389: 239-442.
2. Vile RG, Hart IR. Targeting of cytokine gene expression to malignant melanoma cells using tissue specific promoter sequences. *Ann Oncol* 1994, 5 (suppl 4): 59-65.

3. Fynan EF, Webster RG, Fuller DH, Haynes JR, Santoro JC, Robinson HL. DNA vaccines: protective immunizations by parenteral, mucosal, and gene-gun inoculations. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90:11478-11482.
4. Sun WH, Burkholder JK, Sun J, Tumer J, Lu XG, Pugh TD, Ershler WB, Yang NS. In vivo cytokine gene transfer by gene gun reduces tumor growth in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92: 2889-2893.
5. Felgner PL, Gadek TR, Holm M, Roman R, Chan HW, Wenz M, Northrop JP, Ringold GM, Danielsen M. Lipofection: a highly efficient, lipid-mediated DNA-transfection procedure. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84: 7413-2372.
6. Vieweg J, Boczkowski D, Roberson KM, Edwards DW, Philip M, Philip R, Rudoll T, Smith C, Robertson C, Gilboa E. Efficient gene transfer with adeno-associated virus-based plasmids complexed to cationic liposomes for gene therapy of human prostate cancer. *Cancer Res* 1995, 55: 2366-2372.
7. Clark PR, Hersh EM. Cationic lipid-mediated gene transfer: Current concepts. *Curr Opin Molec Ther* 1999, 1, 158-61.
8. Li S, Huang L. Nonviral gene therapy: promises and challenges. *Gene Ther* 2000, 7: 31-34.
9. Klibanov AL, Maruyama K, Torchilin VP, Huang L. Amphipathic polyethyleneglycols effectively prolong the circulation times of liposomes. *FEBS Lett* 1990, 268: 235-237.
10. Papahadjopoulos D, Allen TM, Gabizon A, Mayhew E, Matthey K, Huang SK, Lee KD, Woodle MC, Lasic DD, Redemann C. Sterically stabilised liposomes: Improvements in pharmacokinetics and anti-tumour therapeutic efficacy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88: 11460-11464.
11. Lasic DD, Vallner JJ, Working PK. Sterically stabilised liposomes in cancer therapy and gene delivery. *Curr Opin Molec Ther* 1999, 1: 177-82.
12. Zou Y, Zong G, Ling YH, Perez-Soler R. Development of cationic liposome formulations for intratracheal gene therapy of early lung cancer. *Cancer Gene Ther* 2000, 7: 683-696.
13. Rini BI, Selk LM, Vogelzang NJ. Phase I study of direct intralesional gene transfer of HLA-B7 into metastatic renal carcinoma lesions. *Clin Cancer Res* 1999, 5: 2766-2772.
14. Galanis E, Hersh EM, Stopeck AT, Gonzalez R, Burch P, Spier C, Akporiaye ET, Rinehart JJ, Edmonson J, Sobol RE, Forscher C, Sondak VK, Lewis BD, Unger EC, O'Driscoll M, Selk L, Rubin J. Immunotherapy of advanced malignancy by direct gene transfer of an interleukin-2 DNA/DMRIE/DOPE lipid complex: phase I/II experience. *J Clin Oncol* 1999, 17: 3313-3323.
15. Dash PR, Read ML, Barrett LB, Wolfert MA, Seymour LW. Factors affecting blood clearance and in vivo distribution of polyelectrolyte complexes for gene delivery. *Gene Ther* 1999, 6: 643-650.
16. Boussif O, Lezoualc'h F, Zanta MA, Mergny MD, Scherman D, Demeneix B, Behr JP. Versatile vector for gene and oligonucleotide transfer into cells in culture and in vivo: polyethylenimine. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92: 7297-7301.
17. Godbey WT, Wu KK, Mikos AG. Tracking the intracellular path of poly(ethylenimine)/DNA complexes for gene delivery. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 5177-5181.
18. Ogris M, Brunner S, Schuller S, Kircheis R, Wagner E. PEGylated DNA/transferrin-PEI complexes: reduced interaction with blood components, extended circulation in blood and potential for systemic gene delivery. *Gene Ther* 1999, 6: 595-605.
19. Goldman CK, Soroceanu L, Smith N, Gillespie GY, Shaw W, Burgess S, Bilbao G, Curiel DT. In vitro and in vivo gene delivery mediated by a synthetic polycationic amino polymer. *Nat Biotechnol* 1997, 15: 462-466.
20. Krasnykh VN, Mikheeva GV, Douglas JT, Curiel DT. Generation of recombinant adenovirus vectors with modified fibers for altering viral tropism. *J Virol* 1996, 70: 6839-6846.
21. Coffey MC, Strong JE, Forsyth PA, Lee PW. Reovirus therapy of tumors with activated Ras pathway. *Science* 1998, 282: 1332-1334.
22. Schirmacher V, Haas C, Bonifer R, Ahlert T, Gerhards R, Ertel C. Human tumor cell modification by virus infection: an efficient and safe way to produce cancer vaccine with pleiotropic immune stimulatory properties when using Newcastle disease virus. *Gene Ther* 1999, 6: 63-73.
23. Wahlfors JJ, Zullo SA, Loimas S, Nelson DM, Morgan RA. Evaluation of recombinant alphaviruses as vectors in gene therapy. *Gene Ther* 2000, 7: 472-480.
24. Stojdl DF, Lichty B, Knowles S, Atkins H, Sonenberg N, Bell JC. Exploiting tumor-specific defects in the interferon pathway with a previously unknown oncolytic virus. *Nat Med* 2000, 6: 821-825.
25. Miller AD. Retroviral vectors. *Curr Top Microbiol Immunol* 1992, 158: 1-24.
26. Naldini L, Blomer U, Galloway P, Ory D, Mulligan R, Gage

- FH, Verma IM, Trono D. In vivo gene delivery and stable transduction of nondividing cells by a lentiviral vector. *Science* 1996, 272: 263-267.
27. Zhang WW. Development and application of adenoviral vectors for gene therapy of cancer. *Cancer Gene Ther* 1999, 6: 113-118.
 28. Curiel DT. Strategies to adapt adenoviral vectors for targeted delivery. *Ann NY Acad Sci* 1999, 886: 158-171.
 29. Hay RT. The origin of adenovirus DNA replication: minimal DNA sequence requirement in vivo. *EMBO J* 1985, 4: 421-426.
 30. Bischoff JR, Kirn DH, Williams A, Heise C, Horn S, Muna M, Ng L, Nye JA, Sampson-Johannes A, Fattaey A, McCormick F. An adenovirus mutant that replicates selectively in p53-deficient human tumor cells. *Science*, 1996, 274: 373-376.
 31. Ries SJ, Brandts CH, Chung AS, Biederer CH, Hann BC, Lipner EM, McCormick F, Korn WM. Loss of p14ARF in tumor cells facilitates replication of the adenovirus mutant dl1520 (ONYX-015). *Nat Med* 2000, 6:1128-1133.
 32. Kirn D, Hermiston T, McCormick F. ONYX-015: clinical data are encouraging. *Nat Med* 1998, 4: 1341-1342.
 33. Flotte TR, Carter BJ. Adeno-associated viral vectors. In *Gene therapy technologies, applications and regulations*. In Meager A. (ed), John Wiley & Sons Ltd, Chichester, UK, 2000, pp208-213.
 34. Fink DJ, Glorioso JC. Engineering herpes simplex virus vectors for gene transfer to neurons. *Nat Med* 1997, 3: 357-359.
 35. Sena-Esteves M, Saeki Y, Fraefel C, Breakefield XO. HSV-1 amplicon vector - simplicity and versatility. *Mol Ther* 2000, 2: 9-15.
 36. Martuza RL, Malick A, Markert JM, Ruffner KL, Coen DM. Experimental therapy of human glioma by means of a genetically engineered virus mutant. *Science* 1991, 252: 854-856.
 37. Boviatsis EJ, Scharf JM, Chase M, Harrington K, Kowall NW, Breakefield XO, Chiocca EA. Antitumor activity and reporter gene transfer into rat brain neoplasms inoculated with herpes simplex virus vectors defective in thymidine kinase or ribonucleotide reductase. *Gene Ther*, 1994 1: 323-331.
 38. Yoon SS, Nakamura H, Carroll NM, Bode BP, Chiocca EA, Tanabe KK. An oncolytic herpes simplex virus type 1 selectively destroys diffuse liver metastases from colon carcinoma. *FASEB J* 2000, 14: 301-311.
 39. Chiocca EA, Smith ER. Oncolytic viruses as novel anti-cancer agents: turning one scourge against another. *Expert Opin Investig Drugs*, 2000 9: 311-327.
 40. Rampling R, Cruickshank G, Papanastassiou V, Nicoll J, Hadley D, Brennan D, Petty R, MacLean A, Harland J, McKie E, Mabbs R, Brown M. Toxicity evaluation of replication-competent herpes simplex virus (ICP 34.5 null mutant 1716) in patients with recurrent malignant glioma. *Gene Ther* 2000, 7: 859-866.
 41. Mineta T, Rabkin SD, Yazaki T, Hunter WD, Martuza RL. Attenuated multi-mutated herpes simplex virus-1 for the treatment of malignant gliomas. *Nat Med* 1995, 1: 938-943.
 42. Oyama M, Ohigashi T, Hoshi M, Nakashima J, Tachibana M, Murai M, Uyemura K, Yazaki T. Intravesical and intravenous therapy of human bladder cancer by the herpes vector G207. *Hum Gene Ther* 2000, 11: 1683-1693.
 43. Walker JR, McGeagh KG, Sundaresan P, Jorgensen TJ, Rabkin SD, Martuza RL. Local and systemic therapy of human prostate adenocarcinoma with the conditionally replicating herpes simplex virus vector G207. *Hum Gene Ther* 1999, 10: 2237-2243.
 44. Todryk S, McLean C, Ali S, Entwistle C, Boursnell M, Rees R, Vile R. Disabled infectious single-cycle herpes simplex virus as an oncolytic vector for immunotherapy of colorectal cancer. *Hum Gene Ther* 1999, 10: 2757-2768.
 45. Gnant MF, Noll LA, Irvine KR, Puhlmann M, Terrill RE, Alexander HR Jr, Bartlett DL. Tumor-specific gene delivery using recombinant vaccinia virus in a rabbit model of liver metastases. *J Natl Cancer Inst* 1999, 91: 1744-1750.
 46. Gnant MF, Puhlmann M, Alexander HR Jr, Bartlett DL. Systemic administration of a recombinant vaccinia virus expressing the cytosine deaminase gene and subsequent treatment with 5-fluorocytosine leads to tumor-specific gene expression and prolongation of survival in mice. *Cancer Res*, 1999 59: 3396-3403.
 47. Puhlmann M, Brown CK, Gnant M, Huang J, Libutti SK, Alexander HR, Bartlett DL. Vaccinia as a vector for tumor-directed gene therapy: biodistribution of a thymidine kinase-deleted mutant. *Cancer Gene Ther* 2000, 7: 66-73.
 48. Mukherjee S, Haenel T, Himbeck R, Scott B, Ramshaw I, Lake RA, Harnett G, Phillips P, Morey S, Smith D, Davidson JA, Musk AW, Robinson B. Replication-restricted vaccinia as a cytokine gene therapy vector in cancer: persistent transgene expression despite antibody generation. *Cancer Gene Ther* 2000, 7: 663-670.
 49. Qin H, Chatterjee SK. Cancer gene therapy using tumor

- cells infected with recombinant vaccinia virus expressing GM-CSF. *Hum Gene Ther* 1996, 7: 1853-1860.
50. Kawakita M, Rao GS, Ritchey JK, Ornstein DK, Hudson MA, Tartaglia J, Paoletti E, Humphrey PA, Harmon TJ, Ratliff TL. Effect of canarypox virus (ALVAC)-mediated cytokine expression on murine prostate tumor growth. *J. Natl Cancer Inst* 1997, 89: 428-436.
 51. Mastrangelo MJ, Maguire HC Jr, Eisenlohr LC, Laughlin CE, Monken CE, McCue PA, Kovatich AJ, Lattime EC. Intratumoral recombinant GM-CSF-encoding virus as gene therapy in patients with cutaneous melanoma. *Cancer Gene Ther* 1999, 6: 409-422.
 52. Marshall JL, Hawkins MJ, Tsang K.Y., Richmond E, Pedicano JE, Zhu MZ, Schlom J. Phase I study in cancer patients of a replication-defective avipox recombinant vaccine that expresses human carcinoembryonic antigen. *J Clin Oncol* 1999, 17: 332-337.
 53. Von Mehren M, Arlen P, Tsang KY, Rogatko A, Meropol N, Cooper HS, Davey M, McLaughlin S, Schlom J, Weiner LM. Pilot study of a dual gene recombinant avipox vaccine containing both carcinoembryonic antigen (CEA) and B7.1 transgenes in patients with recurrent CEA-expressing adenocarcinomas. *Clin Cancer Res* 2000, 6: 2219-2228.
 54. Lane DP. Cancer p53, guardian of the genome. *Nature* 1992, 358: 15-16.
 55. Schwartz D, Rotter V. p53-dependent cell cycle control: response to genotoxic stress. *Semin Cancer Biol* 1998, 8: 325-336.
 56. Mitsudomi T, Hamajima N, Ogawa M, Takahashi T. Prognostic significance of p53 alterations in patients with non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Clin Cancer Res* 2000, 6: 4055-4063.
 57. Zhang WW, Fang X, Mazur W, French BA, Georges RN, Roth JA. High-efficiency gene transfer and high-level expression of wild-type p53 in human lung cancer cells mediated by recombinant adenovirus. *Cancer Gene Ther* 1994, 1: 5-13.
 58. Nguyen DM, Spitz FR, Yen N, Cristiano RJ, Roth JA. Gene therapy for lung cancer: enhancement of tumor suppression by a combination of sequential systemic cisplatin and adenovirus-mediated p53 gene transfer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 112: 1372-1376.
 59. Fujiwara T, Cai DW, Georges RN, Mukhopadhyay T, Grimm EA, Roth JA. Therapeutic effect of a retroviral wild-type p53 expression vector in an orthotopic lung cancer model. *J Natl Cancer Inst* 1994, 86: 1458-1462.
 60. Zou Y, Zong G, Ling YH, Hao MM, Lozano G, Hong WK, Perez-Soler R. Effective treatment of early endo-bronchial cancer with regional administration of liposome-p5 complexes. *J Natl Cancer Inst* 1998, 90: 1130-1137.
 61. Osaki S, Nakanishi Y, Takayama K, Pei XH, Ueno H, Hara N. Alteration of drug chemosensitivity caused by the adenovirus-mediated transfer of the wild-type p53 gene in human lung cancer cells. *Cancer Gene Ther* 2000, 7: 300-307.
 62. Roth JA, Nguyen D, Lawrence DD, Kemp BL, Carrasco CH, Ferson DZ, Hong WK, Komaki R, Lee JJ, Nesbitt JC, Pisters KM, Putnam JB, Schea R, Shin DM, Walsh GL, Dolormente MM, Han CI, Martin FD, Yen N, Xu K, Stephens LC, McDonnell TJ, Mukhopadhyay T, Cai D. Retrovirus-mediated wild-type p53 gene transfer to tumors of patients with lung cancer. *Nat Med* 1996, 2: 985-991.
 63. Schuler M, Rochlitz C, Horowitz JA, Schlegel J, Perruchoud AP, Kommoss F, Bolliger CT, Kauczor HU, Dalquen P, Fritz MA, Swanson S, Herrmann R, Huber C. A phase I study of adenovirus-mediated wild-type p53 gene transfer in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Hum Gene Ther* 1998, 9:2075-2082.
 64. Roth JA, Swisher SG, Merritt JA, Lawrence DD, Kemp BL, Carrasco CH, El-Naggar AK, Fossella FV, Glisson BS, Hong WK, Khuri FR, Kurie JM, Nesbitt JC, Pisters K, Putnam JB, Schrupp DS, Shin DM, Walsh GL. Gene therapy for non-small cell lung cancer: a preliminary report of a phase I trial of adenoviral p53 gene replacement. *Semin Oncol* 1998, 25 (3 Suppl 8): 33-37.
 65. Swisher SG, Roth JA, Nemunaitis J, Lawrence DD, Kemp BL, Carrasco CH, Connors DG, El-Naggar AK, Fossella F, Glisson BS, Hong WK, Khuri FR, Kurie JM, Lee JJ, Lee JS, Mack M, Merritt JA, Nguyen DM, Nesbitt JC, Perez-Soler R, Pisters KM, Putnam JB Jr, Richli WR, Savin M, Waugh MK. Adenovirus-mediated p53 gene transfer in advanced non-small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 1999, 91: 763-771.
 66. Xu HJ, Zhou Y, Seigne J, Perng GS, Mixon M, Zhang C, Li J, Benedict WF, Hu SX. Enhanced tumor suppressor gene therapy via replication-deficient adenovirus vectors expressing an N-terminal truncated retinoblastoma protein. *Cancer Res* 1996, 56: 2245-2249.
 67. Riley DJ, Nikitin AY, Lee W.H., Huang L, Lee WH. Adenovirus-mediated retinoblastoma gene therapy suppresses spontaneous pituitary melanotroph tumors in Rb+/- mice. *Nat Med* 1996, 2: 1316-1321.
 68. Nikitin AY, Juarez-Perez MI, Li S, Huang L, Lee WH. RB-mediated suppression of spontaneous multiple neuroendocrine neoplasia and lung metastases in Rb+/- mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 3916-3921.

69. Joshi US, Chen YQ, Kalemkerian GP, Adil MR, Kraut M, Sarkar FH. Inhibition of tumor cell growth by p21WAF1 adenoviral gene transfer in lung cancer. *Cancer Gene Ther* 1998, 5:183-191.
70. Boulay JL, Perruchoud AP, Reuter J, Bolliger C, Herrmann R, Rochlitz C. p21 gene expression as an indicator for the activity of adenovirus-p53 gene therapy in non-small cell lung cancer patients. *Cancer Gene Ther* 2000, 7: 1215-1219.
71. Lee JH, Lee CT, Yoo CG, Hong YK, Kim CM, Han SK, Shim YS, Carbone DP, Kim YW. The inhibitory effect of adenovirus-mediated p16INK4a gene transfer on the proliferation of lung cancer cell line. *Anticancer Res* 1998, 18: 3257-3261.
72. Slebos RJ, Kibbelaar RE, Dalesio O, Kooistra A, Stam J, Meijer CJ, Wagenaar SS, Vanderschueren RG, van Zandwijk N, Mooi WJ. K-ras oncogene activation as a prognostic marker in adenocarcinoma of the lung. *N Engl J Med* 1990, 323: 561-565.
73. Gazzeri S, Brambilla E, Caron de Fromental C, Gouyer V, Moro D, Perron P, Berger F, Brambilla C. p53 genetic abnormalities and myc activation in human lung carcinoma. *Int J Cancer* 1994, 58: 24-32.
74. Schneider PM, Praeuer HW, Stoeltzing O, Boehm J, Manning J, Metzger R, Fink U, Wegerer S, Hoelscher AH, Roth JA. Multiple molecular marker testing (p53, C-Ki-ras, c-erbB-2) improves estimation of prognosis in potentially curative resected non-small cell lung cancer. *Br J Cancer* 2000, 83: 473-479.
75. Ishida H, Irie K, Itoh T, Furukawa T, Tokunaga O. The prognostic significance of p53 and bcl-2 expression in lung adenocarcinoma and its correlation with Ki-67 growth fraction. *Cancer* 1997, 80: 1034-1045.
76. Schrupp DS, Chen A, Consoli U. Inhibition of lung cancer proliferation by antisense cyclin D. *Cancer Gene Ther* 1996, 3: 131-135.
77. Gao Z, Gao Z, Fields JZ, Boman BM. Co-transfection of MDR1 and MRP antisense RNAs abolishes the drug resistance in multidrug-resistant human lung cancer cells. *Anticancer Res* 1998, 18: 3073-3076.
78. Fang K, Chen MH. Transfection of anti-sense complementary DNA of human epidermal-growth-factor receptor attenuates the proliferation of human non-small-cell-lung-cancer cells. *Int J Cancer* 1999, 81: 471-478.
79. Norris JS, Hoel B, Voeks D, Maggouta F, Dahm M, Pan W, Clawson G. Design and testing of ribozymes for cancer gene therapy. *Adv Exp Med Biol* 2000, 465: 293-301.
80. Cai DW, Mukhopadhyay T, Roth JA. Suppression of lung cancer cell growth by ribozyme-mediated modification of p53 pre-mRNA. *Cancer Gene Ther* 1995, 2: 199-205.
81. Watanabe T, Sullenger BA. Induction of wild-type p53 activity in human cancer cells by ribozymes that repair mutant p53 transcripts. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 8490-8494.
82. Zhang YA, Nemunaitis J, Tong AW. Generation of a ribozyme-adenoviral vector against K-ras mutant human lung cancer cells. *Mol Biotechnol* 2000, 15: 39-49.
83. Springer CJ, Niculescu-Duvaz I. Prodrug-activating systems in suicide gene therapy. *J Clin Invest* 2000, 105: 1161-1167.
84. Syrigos KN, Epenetos AA. Antibody directed enzyme prodrug therapy (ADEPT): a review of the experimental and clinical considerations. *Anticancer Research* 1999, 19: 605-14.
85. Osaki T, Tanio Y, Tachibana I, Hosoe S, Kumagai T, Kawase I, Oikawa S, Kishimoto T. Gene therapy for carcinoembryonic antigen-producing human lung cancer cells by cell type-specific expression of herpes simplex virus thymidine kinase gene. *Cancer Res* 1994, 54: 5258-5261.
86. Nagamachi Y, Tani M, Shimizu K, Yoshida T, Yokota J. Suicidal gene therapy for pleural metastasis of lung cancer by liposome-mediated transfer of herpes simplex virus thymidine kinase gene. *Cancer Gene Ther* 1999, 6: 546-553.
87. Hoganson DK, Batra RK, Olsen JC, Boucher RC. Comparison of the effects of three different toxin genes and their levels of expression on cell growth and bystander effect in lung adenocarcinoma. *Cancer Res* 1996, 56: 1315-1323.
88. Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 1996, 86: 353-364.
89. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000, 100: 57-70.
90. Desai SB, Libutti SK. Tumor angiogenesis and endothelial cell modulatory factors. *J Immunother* 1999, 22:186-211.
91. Harris SR, Thorgeirsson UP. Tumor angiogenesis: biology and therapeutic prospects. *In Vivo* 1998, 12: 563-570.
92. Bergers G, Javaherian K, Lo KM, Folkman J, Hanahan D. Effects of angiogenesis inhibitors on multistage carcinogenesis in mice. *Science* 1999, 284: 808-812.
93. Boehm T, Folkman J, Browder T, O'Reilly MS. Antiangiogenic therapy of experimental cancer does not induce acquired drug resistance. *Nature* 1997, 390: 404-407.

94. O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, Fukai N, Vasios G, Lane WS, Flynn E, Birkhead JR, Olsen BR, Folkman J. Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell* 1997, 88: 277-285.
95. O'Reilly MS, Holmgren L, Chen C, Folkman J. Angiostatin induces and sustains dormancy of human primary tumors in mice. *Nat Med* 1996, 2: 689-692.
96. O'Reilly MS, Pirie-Shepherd S, Lane WS, Folkman J. Antiangiogenic activity of the cleaved conformation of the serpin antithrombin. *Science* 1999, 285: 1926-1928.
97. O'Reilly MS, Holmgren L, Shing Y. Angiostatin: a novel angiogenesis inhibitor that mediates the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma. *Cell* 2000, 79: 315-8.
98. Sauter BV, Martinet O, Zhang WJ, Mandeli J, Woo SL. Adenovirus-mediated gene transfer of endostatin in vivo results in high level of transgene expression and inhibition of tumor growth and metastases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 4802-4807.
99. Tanaka T, Manome Y, Wen P, Kufe DW, Fine HA. Viral vector-mediated transduction of a modified platelet factor 4 cDNA inhibits angiogenesis and tumor growth. *Nat Med* 1997, 3: 437-442.
100. Li H, Griscelli F, Lindenmeyer F, Opolon P, Sun LQ, Connault E, Soria J, Soria C, Perricaudet M, Yeh P, Lu H. Systemic delivery of antiangiogenic adenovirus Ad-mATF induces liver resistance to metastasis and prolongs survival of mice. *Hum Gene Ther* 1999, 10: 3045-3053.
101. Goldman CK, Kendall RL, Cabrera G, Soroceanu L, Heike Y, Gillespie GY, Siegal GP, Mao X, Bett AJ, Huckle WR, Thomas KA, Curiel DT. Paracrine expression of a native soluble vascular endothelial growth factor receptor inhibits tumor growth, metastasis, and mortality rate. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 8795-8800.
102. Coll JL, Negoescu A, Louis N, Sachs L, Tenaud C, Girardot V, Demeinex B, Brambilla E, Brambilla C, Favrot M. Antitumor activity of bax and p53 naked gene transfer in lung cancer: in vitro and in vivo analysis. *Hum Gene Ther* 1998, 9: 2063-2074.
103. Kagawa S, Pearson SA, Ji L, Xu K, McDonnell TJ, Swisher SG, Roth JA, Fang B. A binary adenoviral vector system for expressing high levels of the proapoptotic gene bax. *Gene Ther* 2000, 7: 75-79.
104. Rakkar AN, Katayose Y, Kim M, Craig C, Ohri E, Li Z, Cowan KH, Seth P. A novel adenoviral vector expressing human Fas/CD95/APO-1 enhances p53-mediated apoptosis. *Cell Death Differ* 1999, 6: 326-333.
105. Griffith TS, Anderson RD, Davidson BL, Williams RD, Ratliff TL. Adenoviral-mediated transfer of the TNF-related apoptosis-inducing ligand/Apo-2 ligand gene induces tumor cell apoptosis. *J Immunol* 2000, 165: 2886-2894.
106. Spitzweg C, Zhang S, Bergert ER, Castro MR, McIver B, Heufelder AE, Tindall DJ, Young CY, Morris JC. Prostate-specific antigen (PSA) promoter-driven androgen-inducible expression of sodium iodide symporter in prostate cancer cell lines. *Cancer Res* 1999, 59: 2136-2141.
107. Spitzweg C, O'Connor MK, Bergert ER, Tindall DJ, Young CY, Morris JC. Treatment of prostate cancer by radioiodine after tissue-specific expression of the sodium iodide symporter. *Cancer Res* 2000, 15: 6526-6530.
108. Boland A, Ricard M, Opolon P, Bidart JM, Yeh P, Filletti S, Schlumberger M, Perricaudet M. Adenovirus-mediated transfer of the thyroid sodium/iodide symporter gene into tumors for a targeted radiotherapy. *Cancer Res*, 2000 60: 3484-3492.
109. Bateman A, Bullough F, Murphy S, Emiliusen L, Lavillette D, Cosset FL, Cattaneo R, Russell SJ, Vile RG. Fusogenic membrane glycoproteins as a novel class of genes for the local and immune-mediated control of tumor growth. *Cancer Res* 2000, 60: 1492-1497.
110. Melcher A, Gough M, Todryk S, Vile R. Apoptosis or necrosis for tumor immunotherapy: what's in a name? *J Molec Med* 1999, 77: 824-833.
111. Nabel GJ, Chang AE, Nabel EG, Plautz GE, Ensminger W, Fox BA, Felgner P, Shu S, Cho K. Immunotherapy for cancer by direct gene transfer into tumors. *Hum Gene Ther* 1994, 5: 57-77.
112. Tepper RI, Mule JJ. Experimental and clinical studies of cytokine gene-modified tumor cells. *Hum Gene Ther* 1994, 5: 153-164.
113. Dohring C, Angman L, Spagnoli G, Lanzavecchia A. T-helper and accessory-cell-independent cytotoxic responses to human tumor cells transfected with a B7 retroviral vector. *Int J Cancer* 1994, 57: 754-759.
114. Dalglish A. The case for therapeutic vaccines. *Melanoma Res* 1996, 6: 5-10.
115. Vile RG, Nelson JA, Castleden S, Chong H, Hart IR. Systemic gene therapy of murine melanoma using tissue specific expression of the HSVtk gene involves an immune component. *Cancer Res* 1994, 54: 6228-6234.
116. Wei C, Willis RA, Tilton BR, Looney RJ, Lord EM, Barth RK, Frelinger JG. Tissue-specific expression of the human prostate-specific antigen gene in transgenic mice: implications for tolerance and immunotherapy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 6369-6374.
117. Tan Y, Xu M, Wang W, Li D, Xu X, Gu J, Hoffman

- RM. IL-2 gene therapy of advanced lung cancer patients. *Anticancer Res* 1996, 16: 1993-1998.
118. Lee CT, Wu S, Ciernik IF, Chen H, Nadaf-Rahrov S, Gabrilovich D, Carbone DP. Genetic immunotherapy of established tumors with adenovirus-murine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Hum Gene Ther* 1997, 8: 187-193.
119. Miller PW, Sharma S, Stolina M, Chen K, Zhu L, Paul RW, Dubinett SM. Dendritic cells augment granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)/herpes simplex virus thymidine kinase-mediated gene therapy of lung cancer. *Cancer Gene Ther* 1998, 5: 380-389.
120. Hunt JD, Pippin BA, Landreneau RJ, Jacob WF, Lotze MT, Siegfried JM. Transfer and expression of the human interleukin-4 gene in carcinoma and stromal cell lines derived from lung cancer patients. *J Immunother* 1993, 14: 314-321.
121. Sharma S, Miller PW, Stolina M, Zhu L, Huang M, Paul RW, Dubinett SM. Multicomponent gene therapy vaccines for lung cancer: effective eradication of established murine tumors in vivo with interleukin-7/herpes simplex thymidine kinase-transduced autologous tumor and ex vivo activated dendritic cells. *Gene Ther* 1997, 4: 1361-1370.
122. Sharma S, Wang J, Huang M, Paul RW, Lee P, McBride WH, Economou JS, Roth MD, Kiertscher SM, Dubinett SM. Interleukin-7 gene transfer in non-small-cell lung cancer decreases tumor proliferation, modifies cell surface molecule expression, and enhances antitumor reactivity. *Cancer Gene Ther* 1996, 3: 302-313.
123. Heo DS, Yoon SJ, Kim WS, Lee KH, Seol JG, Lee SG, Jung CW, Cho EK, Kim CW, Park MH, Sung MW, Kim KH, Bang YJ, Kim NK. Locoregional response and increased natural killer activity after intratumoral injection of HLA-B7/beta2-microglobulin gene in patients with cancer. *Hum Gene Ther* 1998, 9: 2031-2038.
124. Martin BK, Frelinger JG, Ting JP. Combination gene therapy with CD86 and the MHC class II transactivator in the control of lung tumor growth. *J Immunol* 1999, 162: 6663-6670.
125. Fairbairn LJ, Rafferty JA, Lashford LS. Engineering drug resistance in human cells. *Bone Marrow Transplant* 2000, 25: 110-3.
126. Beausejour CM, Eliopoulos N, Momparler L, Le NL, Momparler RL. Selection of drug-resistant transduced cells with cytosine nucleoside analogs using the human cytidine deaminase gene. *Cancer Gene Ther* 2001, 8: 669-76.

Μυκητιασικές λοιμώξεις στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας

Γ. Δημόπουλος¹,
Α. Καραμπίνης²

¹Πνευμονολόγος-Εντατικολόγος, Επιμελητής Β', Κέντρο Αναπνευστικής Ανεπάρκειας ΚΑΑ/ΜΕΘ, ΝΝΘΑ "ΣΩΤΗΡΙΑ", ²Παθολόγος-Εντατικολόγος, Επίκουρος Καθηγητής Εντατικής Θεραπείας, Διευθυντής Μονάδας Εντατικής Θεραπείας Γ.Κ.Ν.Α. "Γ. Γεννηματάς"

Λέξεις-Κλειδιά: ΜΕΘ, λοιμώξεις από μύκητες, επιδημιολογία, παθογένεση, προδιαθεσικοί παράγοντες, διάγνωση, θεραπεία

Αλληλογραφία:
Γ. Δημόπουλος, Κύπρου 5, 145 69 Άνοιξη
Αττικής, Τηλ. +30. 010. 814.37.98,
Fax. +30. 010. 831.92.91,
E-mail: Dimop@panafonet.gr

ΠΕΡΙΛΗΨΗ. Η επίπτωση των μυκητιασικών λοιμώξεων στους ασθενείς της Μονάδας Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ) αυξήθηκε θεαματικά τις δύο τελευταίες δεκαετίες λόγω της ευρείας χρήσης των νέων επεμβατικών τεχνικών παρακολούθησης (monitoring)/ανάληψης και του αυξημένου αριθμού ανοσοκατασταλμένων ασθενών (κακοήθειες νόσοι, μεταμοσχεύσεις, AIDS, χημειοθεραπεία) που χρήζουν εντατικής θεραπείας και νοσηλείας. Ο αποικισμός με στελέχη μυκήτων προδιαθέτει στην εμφάνιση συστηματικών μυκητιασικών λοιμώξεων αν και η μη ύπαρξη αποικισμού δεν αποκλείει το ενδεχόμενο της ανάπτυξης διεισδυτικών ή συστηματικών λοιμώξεων. Η τεκμηρίωση της διάγνωσης των μυκητιασικών λοιμώξεων είναι δύσκολη γιατί δεν υπάρχει εργαστηριακή μέθοδος που να διακρίνει τον αποικισμό από τη συστηματική λοίμωξη εκτός από τη βιοψία και την καλλιέργεια ιστού η οποία τις περισσότερες φορές είναι δύσκολο να εφαρμοσθεί στους ασθενείς της ΜΕΘ. Οι θετικές καλλιέργειες αίματος αποτελούν δείκτη διείσδυσης ή συστηματικής λοίμωξης αλλά σε ποσοστό >50% είναι αρνητικές και οι αρνητικές καλλιέργειες δεν αποκλείουν το ενδεχόμενο της συστηματικής λοίμωξης. Η θεραπεία των μυκητιασικών λοιμώξεων έως σήμερα στηρίζεται στην αμφοτερικίνη Β και στις αζόλες. Αρκετά νέα αντιμυκητιασικά παράγωγα και η μέθοδος της ανοσοτροποποίησης είναι υπό έρευνα. Η θνητότητα από τις μυκητιασικές λοιμώξεις είναι υψηλή λόγω της καθυστερημένης διάγνωσης και έναρξης της απαιτούμενης θεραπείας. Το κόστος νοσηλείας αυτών των λοιμώξεων είναι υψηλό κυρίως λόγω των σοβαρών επιπλοκών από την αντιμυκητιασική θεραπεία. Η πρόγνωση των συστηματικών μυκητιασικών λοιμώξεων συνήθως είναι πτωχή. Στην παρούσα ανασκόπηση επιτελείται εκτενής αναφορά κυρίως στις λοιμώξεις που οφείλονται σε είδη *Candida* και *Aspergillus* λόγω του ότι είναι οι πιο συχνά ταυτοποιούμενοι μύκητες στη ΜΕΘ. *Πνεύμων* 2002, 15(1)38-53.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η επίπτωση των μυκητιασικών λοιμώξεων στους ασθενείς της Μονάδας Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ) εμφάνισε μεγάλη αύξηση τις τελευταίες δύο δεκαετίες λόγω της ευρείας χρήσης των σύγχρονων επεμβατικών τεχνικών παρακολούθησης (monitoring) και συστημάτων ανάνηψης, του αυξημένου αριθμού ασθενών τρίτης ηλικίας που νοσηλεύονται στις ΜΕΘ και των ασθενών με ανοσοκαταστολή (πάσχοντες από κακοήθεις νόσους και σύνδρομο επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας, ασθενείς υπό χημειοθεραπεία και ιατρογενή ανοσοκαταστολή) που χρήζουν εντατικής θεραπείας και νοσηλείας¹. Η επίπτωση της εμφάνισης θετικών καλλιεργείων αίματος για *Candida spp.* αυξήθηκαν κατά 400% σε σχέση με τη δεκαετία του '80, η αναλογία των μυκητιασικών λοιμώξεων αυξήθηκε από 6,4% σε 10,4% και ο δείκτης μυκητιασικών λοιμώξεων αυξήθηκε από 2,0 σε 3,8% λοιμώξεις/1000 ασθενείς στο ίδιο χρονικό διάστημα^{2,3}. Πολλά από τα είδη των μυκήτων που προκαλούν σήμερα συστηματικές λοιμώξεις παλαιότερα θεωρούντο χαμηλής λοιμογόνου δύναμης ή/και μη παθογόνοι μικροοργανισμοί. Οι υψηλότεροι δείκτες μυκητιασικών λοιμώξεων εμφανίζονται σε Ογκολογικά Τμήματα, σε Μονάδες Εγκυμάτων, σε Μονάδες Εντατικής Θεραπείας Νεογνών και σε χειρουργικές ΜΕΘ⁴. Η εμφάνιση των μυκητιασικών λοιμώξεων συνδέθηκε με ορισμένους προδιαθεσικούς παράγοντες⁵.

Οι μυκητιασικές λοιμώξεις οδηγούν σε παράταση του χρόνου νοσηλείας των ασθενών στη ΜΕΘ και σε αύξηση των δεικτών θνητότητας και θνησιμότητας. Η διάγνωση των συστηματικών μυκητιασικών λοιμώξεων και η διαφορική διάγνωση του αποικισμού από τη λοίμωξη παραμένει δύσκολη, παρά την εφαρμογή των νεότερων μικροβιολογικών, ορολογικών και μοριακών εργαστηριακών διαγνωστικών μεθόδων⁶. Η δυσκολία της διάγνωσης και τα μη ειδικά σημεία και συμπτώματα με τα οποία συνήθως εμφανίζονται οι λοιμώξεις αυτές οδηγούν συχνά τον εντατικολόγο στη χορήγηση εμπειρικής θεραπείας χωρίς μικροσκοπική ή/και ιστολογική επιβεβαίωση του μύκητα, με αποτέλεσμα την ανάπτυξη ανεπιθύμητων ενεργειών (νεφρική, ηπατική και αιματολογική τοξικότητα), την παρατεταμένη νοσηλεία των ασθενών στη ΜΕΘ και το αυξημένο κόστος νοσηλείας⁷.

Στο παρόν άρθρο επιχειρείται ανασκόπηση των τελευταίων δεδομένων που αφορούν στην επιδημιολογία, τους προδιαθεσικούς παράγοντες, την παθογένεση, τη διάγνωση, τη θεραπεία και το κόστος των μυκητιασικών λοιμώξεων που οφείλονται σε είδη *Candida* και *Aspergillus* στους ασθενείς της Μονάδας Εντατικής Θεραπείας.

2. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΠΑΘΟΓΕΝΕΣΗ ΤΩΝ ΜΥΚΗΤΙΑΣΙΚΩΝ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ

2.1. *Candida spp*

Στις ΗΠΑ το 7-10% των αιματογενών λοιμώξεων οφείλεται σε *Candida spp.* και με βάση τα στοιχεία από την Εθνική Μελέτη Καταγραφής των Νοσοκομειακών Λοιμώξεων NNIS (National Nosocomial Infections Surveillance Study), ο δείκτης των μυκητιασικών λοιμώξεων αυξήθηκε από 2% σε 5% στη δεκαετία 1980-1990, τα είδη *Candida* αποτελούν το 86% των απομονωθέντων μυκήτων, το είδος *Candida albicans* είναι υπεύθυνο για το 60% των μυκητιασικών λοιμώξεων και η συχνότητα των θετικών καλλιεργείων αίματος από είδη *Candida* μη-*albicans* αυξήθηκε σημαντικά την περίοδο 1986-1990^{3,8}. Η μελέτη SCOPE που πραγματοποιήθηκε επίσης στις ΗΠΑ κατά την περίοδο 1995-1996 αναφέρει ότι το 48% από 379 διαγνωσμένα επεισόδια θετικών καλλιεργείων αίματος οφείλοντο σε είδη *Candida* μη-*albicans* και τα πιο συχνά ήταν η *C. glabrata* (20%), η *C. tropicalis* (11%), η *C. parapsilosis* (8%) και η *C. krusei* (5%) (Πίνακας 1)⁹. Η μελέτη SENTRY που πραγματοποιήθηκε σε 34 κέντρα των ΗΠΑ αναφέρει ότι από 307 επεισόδια θετικών καλλιεργείων αίματος που οφείλο-

Πίνακας 1. Είδη μυκήτων με κλινική σημασία

<i>Candida spp</i>	<i>Histoplasma</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Blastomyces</i>
<i>Non-albicans spp</i>	<i>Coccidioides</i>
<i>C. parapsilosis</i>	<i>Mucoraceae</i>
<i>C. tropicalis</i>	<i>Cryptococcus</i>
<i>C. krusei</i>	<i>Rhizomycetes</i>
<i>C. lusitaniae</i>	
<i>C. glabrata</i>	
<i>Aspergillus spp.</i>	
<i>A. fumigatus</i>	
<i>A. flavus</i>	
<i>A. terreus</i>	

ντο στο είδος *Candida*, το 80% ήταν νοσοκομειακής προέλευσης και το 50% εξ' αυτών εμφανίσθηκε στις ΜΕΘ¹⁰. Η μεγάλη Ευρωπαϊκή μελέτη EPIC (European Prevalence of Infection in Intensive Care) η οποία πραγματοποιήθηκε σε 1417 ΜΕΘ αναφέρει ότι την ημέρα καταγραφής των λοιμώξεων οι μύκητες αποτέλεσαν το πέμπτο σε συχνότητα νοσοκομειακό παθογόνο (17,1%), αν και ορισμένα από τα απομονωθέντα είδη αντιπροσώπευαν μάλλον αποικισμό παρά λοίμωξη¹¹. Σε μια προοπτική μελέτη από τους Nolla-Salas και συν. η οποία πραγματοποιήθηκε σε 28 ΜΕΘ της Ισπανίας αναφέρεται ότι η επίπτωση των θετικών καλλιέργειών αίματος από είδη *Candida* ήταν 1/500 εισαγωγές ενώ οι Diaz και συν. αναφέρουν παρόμοια επίπτωση^{12,13}.

Τα είδη *Candida* αποτελούν τμήμα της χλωρίδας του γαστρεντερικού συστήματος και του ρινοφάρυγγα στα υγιή άτομα. Η παθογένεση των λοιμώξεων αρχίζει κυρίως από τις επιθηλιακές επιφάνειες με τη διαδικασία της προσκόλλησης (adherence) στα επιθηλιακά κύτταρα και της διείσδυσης (invasion) των μυκήτων στην κυκλοφορία του αίματος, με αποτέλεσμα την έναρξη φλεγμονώδους διεργασίας. Οι διαδικασίες αυτές ευνοούνται από την καταστολή και τις μεταβολές στην άμυνα του οργανισμού. Η βαρύτητα της υποκειμένης νόσου, ο σακχαρώδης διαβήτης, οι βαριές κακώσεις, τα σοβαρά εγκαύματα, η ευρεία χρήση των αντιβιοτικών, η κακή θρέψη, η παρατεταμένη υπόταση, η ισχαιμία, οι βλάβες από επανάρδευση, η θεραπεία με κορτικοειδή, η χημειοθεραπεία και η ιατρογενής καταστολή ευνοούν την ανάπτυξη των ειδών *Candida*, την προσκόλληση αυτών στα επιθηλιακά κύτταρα και τη διείσδυση στην κυκλοφορία του αίματος¹⁴.

Οι λοιμώξεις από είδη *Candida* είναι κυρίως ενδογενούς προέλευσης και ακολουθούν συνήθως προηγούμενο αποικισμό όπως έχει αποδειχθεί με τις μοριακές τεχνικές ταυτοποίησης και διάγνωσης οι οποίες ανίχνευσαν και ταυτοποίησαν στον ίδιο ασθενή το ίδιο στέλεχος μύκητα που προηγούμενα είχε προκαλέσει αποικισμό και εν συνεχεία λοίμωξη¹⁵. Παρ' όλα αυτά αναφέρεται από ορισμένες μελέτες ότι είναι πιθανή και η οριζόντια μετάδοση των λοιμώξεων από τα χέρια του προσωπικού που εμπλέκεται στη θεραπεία και νοσηλεία των ασθενών της ΜΕΘ σε ποσοστό 34-75% από το οποίο το 25% οφείλεται σε μη-*albicans* είδη (κυρίως *C. parapsilosis* και *C. lusitanae*) σε ειδικά νοσηλευτικά κέντρα^{3,16}.

2.1.1. Προδιαθεσικοί παράγοντες

Από διάφορες μελέτες καθορίστηκε ένας αριθμός προδιαθεσικών παραγόντων που ευνοούν την εμφάνιση μυκητιασικών λοιμώξεων. Οι παράγοντες αυτοί συμβάλλουν στην αναγνώριση ασθενών υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση μυκητιασικών λοιμώξεων και στην έγκαιρη έναρξη αντιμυκητιασικής θεραπείας (Πίνακας 2)^{17,18}. Οι προδιαθεσικοί αυτοί παράγοντες είναι:

Αποικισμός: η συμμετοχή του αποικισμού στην παθογένεση των μυκητιασικών λοιμώξεων αποδείχθηκε από τους Krause και συν. σε υγιείς εθελοντές στους οποίους η ενδοφλέβια χορήγηση 10¹² αποικιών *Candida spp.* οδήγησε στην εμφάνιση συμπτωμάτων και θετικών καλλιέργειών αίματος και ούρων μετά από 2, 3 και 6 ώρες αντίστοιχα¹⁹. Η θέση του αποικισμού αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την εκδήλωση λοίμωξης και η ανίχνευση πολλαπλών θέσεων αποικισμού στο σώμα του ασθενούς συνδέεται με αυξημένη θνητότητα²⁰. Οι Pittet και συν. πρότειναν τη χρήση του "δείκτη αποι-

Πίνακας 2. Προδιαθεσικοί παράγοντες για την εμφάνιση μυκητιασικών λοιμώξεων

- Ουδετεροπενία >7 ημέρες
- Ακτινοθεραπεία
- Μειζονες χειρουργικές επεμβάσεις κοιλιάς
- Κεντρικοί Αγγειακοί Καθετήρες >14 ημέρες
- Ολική Παρεντερική Διατροφή
- Αποικισμός
- Φάρμακα
 - Κορτικοειδή
 - Χημειοθεραπεία
 - Κεφαλοσπορίνες
 - Καρβοξυουρειδοπενικιλίνες
 - Αμινογλυκοσίδες
 - Βανκομυκίνη
 - Αντιμυκητιασική Προφύλαξη
- Εκτεταμένα Εγκαύματα (>50% επιφανείας σώματος)
- Τραύμα
- Βαρύτητα κυρίως νόσου/ανεπάρκειες οργάνων (APACHE II, SOFA)
- Ηλικία
- Παρατεταμένη νοσηλεία στη ΜΕΘ >7 ημέρες

APACHE: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation
SOFA: Sequestrial Organs Failure Assessment

κισμού από είδη *Candida*” (CCI= *Candida* Colonization Index) ο οποίος εκφράζει το δείκτη του αριθμού των περιοχών του σώματος από όπου καλλιεργήθηκαν είδη *Candida* (εκτός από το αίμα) προς τον ολικό αριθμό των περιοχών του σώματος που ελέγχθηκαν (τιμή του δείκτη $>0,5$ συνδέεται θετικά με συστηματική λοίμωξη και η προγνωστική θετική αξιοπιστία του είναι $>66\%$)²¹. Σε χειρουργικούς ασθενείς, οι Solomkin και συν. έδειξαν ότι πριν από τη διάγνωση των θετικών καλλιεργιών αίματος με είδη *Candida* στο ήμισυ των ασθενών προϋπήρχε αποικισμός δύο ή περισσότερων μη-ομολόγων οργάνων²². Οι Voss και συν. επίσης απέδειξαν τη σχέση των θετικών καλλιεργιών αίματος με τον αποικισμό σε μια μελέτη όπου η ίδια αλληλουχία βάσεων DNA *Candida spp.* ταυτοποιήθηκε στο 84% των δειγμάτων των ασθενών με αποικισμό και επακόλουθη αιματογενή λοίμωξη²³.

Τα στελέχη των ειδών *Candida* αποικίζουν λιγότερο συχνά το αναπνευστικό σύστημα στους ασθενείς της ΜΕΘ. Οι El-Ebiary και συν. αναφέρουν ότι η συχνότητα απομόνωσης ειδών *Candida* από το αναπνευστικό σύστημα σε μη-ουδετεροπενικούς ασθενείς σε μηχανική αναπνοή αγγίζει το 40% και η αληθής επίπτωση της πνευμονίας από *Candida* είναι μόλις 8%, προτείνοντας ότι η παρουσία ειδών *Candida* σε δείγματα από το αναπνευστικό σύστημα, ανεξάρτητα από τις ποσοτικές καλλιέργειες δεν αποτελούν ευαίσθητο δείκτη πνευμονίας ενώ οι Fraser και συν. έδειξαν ότι σε 106 ασθενείς που εμφάνισαν κατά τη νοσηλεία τους θετικές καλλιέργειες εκκρίσεων και υπεβλήθησαν σε έλεγχο με νεκροψία μόνον οι 8 είχαν αναπτύξει πνευμονία από *Candida*^{24,25}.

Θετική καλλιέργεια ούρων για λοίμωξη από είδη *Candida* ή Candiduria: ορίζεται η εύρεση άνω των 100.000 αποικιών/mm³ ειδών *Candida* στα ούρα. Σε ασθενείς με ουροκαθετήρα θεωρείται ισχυρός προδιαθεσικός παράγοντας για την εμφάνιση καντινταιμίας. Οι Nassura και συν. σε μια μελέτη που περιελάμβανε 47 χειρουργικούς ασθενείς που νοσηλεύοντο σε ΜΕΘ αναφέρει ότι η καντιντουρία αποτελεί πρώιμο δείκτη συστηματικής λοίμωξης όταν συνδυάζεται με σοβαρή σήψη, κλίμακα βαρύτητας νόσου (APACHE II) >18 και προηγούμενη λήψη ευρέος φάσματος αντιβιοτικών²⁷. Σε μια πρόσφατη μελέτη οι Talluri και συν. μελέτησαν την ανοσολογική απάντηση 66 βαρέως πασχόντων ασθενών με εμμένουσα καντιντουρία και/χωρίς θετικές καλλιέρ-

γειες αίματος αξιολογώντας τα επίπεδα Th1 (προφλεγμονώδεις ιντερλευκίνες: IL-1, IL-2 και TNF-α) και Th2 (αντι-φλεγμονώδεις ιντερλευκίνες: IL-4 και IL-10) κυτταροκινών των ασθενών. Τα επίπεδα των Th2 κυτταροκινών ήταν αυξημένα σε 22 από 27 ασθενείς με καντιντουρίας και καντινταιμίας ενώ τα επίπεδα Th1 ήταν φυσιολογικά σε όλους τους ασθενείς²⁸. Οι Kauffman και συν. σε μια πολυκεντρική προοπτική μελέτη καταγραφής στην οποία μελετήθηκαν 861 ασθενείς έδειξαν ότι η καντιντουρία απαντάται συχνά σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη, στους ασθενείς τρίτης ηλικίας, σε ασθενείς με υποκείμενη νόσο του ουροποιητικού συστήματος και σε ασθενείς που είχαν λάβει θεραπεία με αντιβιοτικά²⁹. Οι Sobel και συν. έδειξαν ότι η καντιντουρία υποχωρεί αυτόματα με την αφαίρεση του ουροκαθετήρα στο 41% των ασθενών που δεν είχαν λάβει θεραπεία και σε λιγότερο από το 20% των ασθενών που έφεραν χρόνιο καθετήρα χωρίς όμως αυτός να αφαιρεθεί³⁰.

Αντιβιοτικά: Αρκετές μελέτες έχουν αποδείξει ότι η ευρεία χρήση των αντιβιοτικών αποτελεί προδιαθεσικό παράγοντα για την εμφάνιση μυκητιασικών λοιμώξεων³¹⁻³³. Σε μια πολυπαραγοντική ανάλυση οι Diaz και συν. αναφέρουν ότι η χορήγηση άνω των 4 αντιβιοτικών αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα για την εμφάνιση θετικών καλλιεργιών αίματος από είδη *Candida* στους ασθενείς της ΜΕΘ¹³. Οι Wenzel και συν. επίσης αναφέρουν ότι η χορήγηση αντιβιοτικών αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα για την εμφάνιση καντινταιμίας³⁴. Οι Fraser και συν. αναφέρουν ότι στο 94% των ασθενών με θετικές καλλιέργειες αίματος για είδη *Candida* υπήρξε ευρεία χρήση αντιβιοτικών και στο 62% αυτών χορηγήτο θεραπεία με 4 τουλάχιστον διαφορετικά αντιβιοτικά πριν από τη διάγνωση των θετικών αιμοκαλλιεργιών²⁵.

Ο κίνδυνος εμφάνισης συστηματικής μυκητιασικής λοίμωξης δεν είναι ο ίδιος με όλα τα είδη των αντιβιοτικών. Οι Samonis και συν. σε μια πειραματική μελέτη σε ποντίκια αναφέρουν ότι ο αποικισμός του γαστρεντερικού συστήματος με είδη *C. albicans* εξαρτάται από το είδος των αντιβιοτικών που χρησιμοποιούνται (αντιβιοτικά με υψηλές συγκεντρώσεις στο έντερο και ευρύ φάσμα δράσης όπως η κεφτριαξόνη, η κεφοπεραζόνη και η τικαρκιλίνη-κλαβουλανικό οξύ προάγουν τον αποικισμό του εντέρου σε σχέση με αντιβιοτικά που εμφα-

νίζουν χαμηλότερες συγκεντρώσεις όπως η κεφταζιδίμη, η αζτρεονάμη και η γενταμικίνη)³⁵. Στην ίδια μελέτη αναφέρεται επίσης ότι η ιμιπενέμη η οποία εμφανίζει το ευρύτερο φάσμα δράσης δεν προάγει τον αποικισμό του εντέρου με είδη *Candida*.

Οι Samonis και συν. σε μια άλλη προοπτική κλινική μελέτη αναφέρουν ότι τα αντιβιοτικά με αναερόβιο δράση προάγουν περισσότερο την ανάπτυξη των μυκήτων στο έντερο ενώ οι Jarvis και συν. απέδειξαν ότι η χορήγηση βανκομυκίνης και/ή ιμιπενέμης αποτελούν ανεξάρτητο παράγοντα για την εμφάνιση θετικών καλλιιεργειών αίματος για μύκητες σε ασθενείς με οξεία λεμφοκυτταρική λευχαιμία^{2,36}.

Βαρύτητα κυρίας νόσου: Ο κίνδυνος εμφάνισης λοιμώξεων από είδη *Candida* είναι ανάλογος με τη βαρύτητα της κυρίας νόσου για την οποία νοσηλεύεται ο ασθενής στη ΜΕΘ. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει θετική συσχέτιση της υψηλής βαθμολογίας της κλίμακας APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation) με την εμφάνιση θετικών καλλιιεργειών αίματος για είδη *Candida* και με παρατεταμένη νοσηλεία αυτών των ασθενών στη ΜΕΘ^{11,21,37}.

Ανοσολογική απόκριση: Η ανοσολογική απάντηση του οργανισμού απέναντι στις μυκητιασικές λοιμώξεις εκφράζεται από την κυτταρική ανοσία. Η φυσιολογική λειτουργία των Τ-κυττάρων προλαμβάνει τον αποικισμό και την επιφανειακή διείσδυση των μυκήτων στα επιθηλιακά κύτταρα ενώ η φαγοκυτταρική λειτουργία αποτρέπει την εν τω βάθει διείσδυση των μυκήτων στους ιστούς και στην κυκλοφορία του αίματος³⁸. Η λειτουργία των Τ-κυττάρων αναστέλλεται πιθανά από αντιγόνα που απελευθερώνονται από τις αποικισμένες από είδη *Candida* περιοχές του σώματος, με αποτέλεσμα τα διάφορα εξωένζυμα που εκκρίνονται να ευνοούν τη διείσδυση του μύκητα στους ιστούς^{39,40}.

Κεντρικοί καθετήρες: Η τοποθέτηση κεντρικών καθετήρων στα μεγάλα αγγεία αποτελεί προδιαθεσικό παράγοντα για την εμφάνιση μυκητιασικών λοιμώξεων γιατί διακόπτεται η συνέχεια του δέρματος και των επιθηλιακών φραγμών σε ασθενείς που είναι αποικισμένοι με μύκητες, με αποτέλεσμα να ευνοείται η είσοδος τους στην κυκλοφορία του αίματος. Η υποψία μυκητιασικής λοίμωξης ή αποικισμού από μύκητες επιβάλλει την άμεση αφαίρεση των κεντρικών καθετήρων γιατί η οποιαδήποτε καθυστέρηση συνδέεται με κακή πρόγνωση

στη της πορείας της λοίμωξης⁴¹.

Ολική παρεντερική διατροφή: Η χορήγηση ολικής παρεντερικής διατροφής και η υπεργλυκαιμία (σάκχαρο αίματος >180 mg/dl) αναστέλλει τη λειτουργία του συμπληρώματος, τη δράση των ανοσοσφαιρινών (ιδιαίτερα της IgA), καταστέλλει τη λειτουργία των μακροφάγων και προκαλεί ατροφία των εντερικών λαχνών. Ο σακχαρώδης διαβήτης μειώνει την άμυνα του οργανισμού (ειδικά εάν το σάκχαρο αίματος είναι >180 mg/dl)^{42,43}.

Έγκανμα: Οι εγκανματίες ασθενείς αποτελούν πληθυσμό υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση μυκητιασικών λοιμώξεων γιατί λόγω:

- των δερματικών βλαβών διακόπτεται η ακεραιότητα των επιθηλιακών φραγμών και είναι πιο εύκολη η είσοδος των μυκήτων στο αίμα,
- του συχνού ειλεού (εμφανίζεται κυρίως σε ασθενείς με >25% ολικά εγκαύματα) και της ατροφίας του γαστρεντερικού συστήματος λόγω της χορήγησης ολικής παρεντερικής διατροφής ευνοείται η ανάπτυξη των μυκητιασικών στελεχών και η διαμετάθεση (translocation) αυτών,
- της μειωμένης λειτουργίας των CD κυττάρων, της ευρείας χρήσης των αντιβιοτικών και της παρατεταμένης νοσηλείας στη ΜΕΘ ευνοείται η ανοσοκαταστολή^{44,45}.

Άλλοι προδιαθεσικοί παράγοντες για την εμφάνιση μυκητιασικών λοιμώξεων είναι οι μείζονες χειρουργικές επεμβάσεις, οι σοβαρές κακώσεις και τραυματισμοί, οι κακοήθεις νόσοι, η χορήγηση χημειοθεραπείας και η ενδοτοξιναιμία γιατί επιδρούν στην ακεραιότητα του γαστρικού βλεννογόνου, ευνοούν τη διαμετάθεση των ειδών *Candida* και τη διείσδυση αυτών στην αιματική κυκλοφορία⁴⁶.

2.1.2. Έκβαση

Η ολική θνητότητα (crude mortality) των λοιμώξεων από είδη *Candida* υπολογίζεται μεταξύ 30 και 75% γιατί εξαρτάται από το είδος της μελέτης και τον πληθυσμό που μελετάται, η αποδιδόμενη θνητότητα (attributable mortality) των ασθενών με θετικές καλλιιεργειες αίματος είναι περίπου 38% και η θνητότητα σε ασθενείς με ενδοφθαλμίτιδα από είδη *Candida* υπολογίζεται γύρω στο 40-80%^{11,47,48}.

2.2. *Aspergillus spp*

Τα είδη *Aspergillus* προσβάλλουν κυρίως τους ανοσοκατασταλμένους ασθενείς. Ο κυριότερος προδιαθεσικός παράγοντας για την εμφάνιση λοιμώξεων από είδη *Aspergillus* είναι η ουδετεροπενία (<1000 πολυμορφοπύρηνα λευκοκύτταρα/ mm^3) και ο κίνδυνος είναι ευθέως ανάλογος με τη διάρκεια αυτής⁴⁹. Η ασπεργίλλωση μεταδίδεται εξωγενώς από την εισπνοή των σπορίων του *Aspergillus* τα οποία ευδοκιμούν στο χόμα, σε υγρό περιβάλλον και σε χαλασμένα λαχανικά. Οι κυριότερες αμυντικές λειτουργίες του οργανισμού απέναντι στα είδη *Aspergillus* είναι τα πολυμορφοπύρηνα λευκοκύτταρα (PMNs) τα οποία καταστρέφουν τα κονιδία του μύκητα. Η χρήση των κορτικοειδών, η χημειοθεραπεία και η ουδετεροπενία αναστέλλουν την κινητοποίηση των PMNs γύρω από τα κονιδία του μύκητα, με αποτέλεσμα να μην καταστρέφονται οι μυκηλιακές υφές που σχηματίζονται⁵⁰. Η κλινική εμφάνιση των λοιμώξεων από είδη *Aspergillus* είναι κυρίως από το αναπνευστικό σύστημα με εκδηλώσεις πνευμονίας. Η πρωτοπαθής βλάβη προκαλεί τοπική διείσδυση του μύκητα στον πνευμονικό ιστό και ακολούθη πιθανή προσβολή άλλων μη-ομολόγων οργάνων⁵¹. Τα είδη *Aspergillus* που έχουν κλινική σημασία είναι ο *A. fumigatus*, ο *A. flavus* και ο *A. terreus* (Πίνακας 1). Ο μολυσμένος αέρας στη ΜΕΘ αποτελεί κύρια πηγή μετάδοσης των λοιμώξεων από είδη *Aspergillus* και η έκθεση των ασθενών σχετίζεται με κατασκευαστικά έργα στο χώρο του νοσοκομείου, με μολυσμένα συστήματα και συνδέσεις των αναπνευστήρων, με υγρό περιβάλλον και με την ύπαρξη χαλασμένων φυτών⁵².

Η επίπτωση των λοιμώξεων από είδη *Aspergillus* αυξήθηκε τα τελευταία 20 έτη. Η μελέτη NNIS αναφέρει ότι η επίπτωση των ειδών *Aspergillus* από θετικές καλλιέργειες αίματος είναι 1,3% αλλά η αληθής επίπτωση μάλλον υποεκτιμάται λόγω της δύσκολης διάγνωσης της λοίμωξης³. Οι λοιμώξεις από είδη *Aspergillus* είναι σχετικά συχνές σε εξειδικευμένες μονάδες⁵³. Οι Panutti και συν. αναφέρουν ότι σε ασθενείς με μεταμόσχευση μυελού των οστών η επίπτωση της νοσοκομειακής πνευμονίας που οφείλεται σε *Aspergillus* είναι 36% ενώ σε ασθενείς που υφίστανται μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων η επίπτωση είναι μικρότερη γιατί η ουδετεροπενία είναι λιγότερο σοβαρή επειδή η κυκλοσπορίνη αντικατέστησε τη χρήση των κορτικοειδών στην αγωγή κατά της απόρριψης των μοσχευμάτων (η αντίστοιχη επίπτωση

για τους ασθενείς με μεταμόσχευση νεφρών είναι 0,5% και με μεταμόσχευση καρδιάς 4,5%)⁵⁴. Η επίπτωση της πνευμονίας από *Aspergillus* σε ασθενείς που υφίστανται μεταμόσχευση πνευμόνων κυμαίνεται μεταξύ 18-46%^{54,55}.

Πρόσφατα διάφορες μελέτες αναφέρουν την αυξημένη επίπτωση των λοιμώξεων αυτών στους ασθενείς που πάσχουν από Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ). Οι Rello και συν. περιέγραψαν 8 ασθενείς με ΧΑΠ οι οποίοι ελάμβαναν κορτικοειδή και στους οποίους διεγνώσθη πνευμονική διεισδυτική ασπεργίλλωση με νεκροψία⁵⁶. Οι Dimopoulos και συν. σε μια αναδρομική μελέτη περιέγραψαν 6 περιπτώσεις ασθενών με διάχυτη ασπεργίλλωση. Οι ασθενείς είχαν εισαχθεί στη ΜΕΘ για διάφορες αιτίες και η διάγνωση ετέθη με νεκροψία. Από τους 6 ασθενείς οι 5 είχαν ιστορικό ΧΑΠ και ευρίσκοντο σε θεραπεία με κορτικοειδή. Η διάρκεια νοσηλείας τους ήταν 2-10 ημέρες γεγονός που δείχνει ότι τουλάχιστον ο αποικισμός με είδη *Aspergillus* εάν όχι η έναρξη της λοίμωξης συνέβη πριν από την εισαγωγή τους στο νοσοκομείο⁵⁷.

Η θνητότητα της διεισδυτικής ασπεργίλλωσης κυμαίνεται μεταξύ 13-95%⁵⁴. Οι Panutti και συν. αναφέρουν ολική θνητότητα 95% σε ασθενείς με πνευμονία από *Aspergillus spp.* ενώ οι υψηλότεροι δείκτες εμφανίζονται στους ασθενείς που πάσχουν από κακήθεις νόσους του αιμοποιητικού συστήματος καθώς και σ' αυτούς που υφίστανται μεταμόσχευση μυελού των οστών^{54,58}.

3. ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΩΝ ΜΥΚΗΤΙΑΣΙΚΩΝ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ

Η διάγνωση των μυκητιασικών λοιμώξεων είναι δύσκολη γιατί η κλινική συμπτωματολογία με την οποία εμφανίζονται ποικίλλει και δεν είναι ειδική ενώ απαιτεί το συνδυασμό κλινικών, εργαστηριακών, ακτινολογικών και ιστολογικών ευρημάτων⁵⁹.

3.1. *Candida spp.*

Οι θετικές καλλιέργειες ούρων για *Candida spp.*, ο επίμονος πυρετός παρά τη χρήση αντιβιοτικών ευρέως φάσματος και η κλινική υποψία αποτελούν ισχυρά κριτήρια για τη διάγνωση στους ασθενείς της ΜΕΘ. Η απομόνωση των *Candida spp.* από καλλιέργειες αίματος σε συνδυασμό με την ύπαρξη κεντρικών αγγειακών καθετήρων και ο αριθμός των αποικισθισών περιοχών θέ-

τούν τη διάγνωση της συστηματικής λοίμωξης⁶⁰. Ο δείκτης CCI (Candida Colonization Index) που προτάθηκε από τους Pittet και συν. βοηθά στην πρόωμη διάγνωση των διεισδυτικών λοιμώξεων και στην εκτίμηση της βαρύτητας του αποικισμού^{21,61}. Η απομόνωση *Candida spp.* από προηγούμενα στείρα περιοχή σε συνδυασμό με τη συνύπαρξη συμπτωμάτων θεωρείται λοίμωξη. Η οριστική διάγνωση της διεισδυτικής και συστηματικής λοίμωξης τίθεται από ιστολογικά δείγματα και καλλιέργειες ιστών καθώς και από την παρουσία ενδοφθαλμίτιδας η οποία είναι σχετικά σπάνια και εμφανίζεται στο 10-25% των ασθενών με συστηματική λοίμωξη με χαρακτηριστικά σημεία “νιφάδων βάμβακος” (κίτρινα ή άσπρα εξιδρωματικά στοιχεία του αμφιβληστροειδούς)⁶².

3.2. *Aspergillus spp.*

Οι λοιμώξεις από είδη *Aspergillus* εμφανίζονται κυρίως από το αναπνευστικό σύστημα χωρίς ειδικά συμπτώματα και η διάγνωσή τους απαιτεί ισχυρή υποψία σε υψηλού κινδύνου ασθενείς. Τα συμπτώματα με τα οποία εμφανίζονται οι λοιμώξεις αυτές περιλαμβάνουν τον επίμονο πυρετό, το θωρακικό άλγος και τα ακτινολογικά ευρήματα (κοιλότητες στα άνω πνευμονικά πεδία). Οι Heussel και συν. αναφέρουν ότι η διάγνωση της διεισδυτικής ασπεργίλλωσης τίθεται από την αξονική τομογραφία θώρακος με τεχνική υψηλής ευκρίνειας⁶³.

3.3. Εργαστηριακή διάγνωση

Η εργαστηριακή διάγνωση των μυκητιασικών λοιμώξεων βασίζεται στις μικροβιολογικές, ορολογικές και μοριακές τεχνικές. Οι μικροβιολογικές μέθοδοι περιλαμβάνουν τις καλλιέργειες αίματος, τη μέθοδο Bactec, τις καλλιέργειες πτυέλων/BAL και τις καλλιέργειες από δερματικές βλάβες^{64,65}. Οι ορολογικές μέθοδοι ανιχνεύουν τα αντισώματα, τα αντιγόνα και τα μεταβολικά προϊόντα των μυκήτων χρησιμοποιώντας δοκιμασίες με τις οποίες ταυτοποιούν στοιχεία του τοιχώματος των μυκήτων (mannan και β-1-3 glucan), μεταβολίτες της κυτταρικής μεμβράνης (D-arabinitol) και του κυτταροπλάσματος (enolase). Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται είναι η μέθοδος latex agglutination (Cand-Tec), η μέθοδος ELISA, η ανοσοηλεκτροφόρηση, η ανοσοδιάχυση, η πολυδιάστατη χρωματογραφία αερίων (GC) και η συνδυασμένη GC/φασματογραφία μάζας⁶⁶⁻⁶⁸. Ο κυριότερος εκπρόσωπος των μοριακών τεχνικών είναι η αλυ-

σιωπή αντίδραση πολυμεράσης PCR (Polymerase Chain Reaction). Η μέθοδος αυτή είναι πολύ ευαίσθητη και ικανή να ανιχνεύσει 1 pg μυκητιασικού γενώματος DNA ή 1-10 αποικίες (cfu/ml) μύκητα από το αίμα.

Όλες οι εργαστηριακές μέθοδοι εμφανίζουν διάφορες τιμές ευαισθησίας και ειδικότητας αλλά καμιά δεν είναι σε θέση να τεκμηριώσει τη διάγνωση γιατί τα αντισώματα, τα αντιγόνα και το DNA των μυκήτων ανιχνεύονται τόσο σε υγιείς όσο και σε ασθενείς με αποικισμό και/ή λοίμωξη⁶⁹⁻⁷¹. Οι Dimopoulos και συν. σε μια μελέτη σε 34 ασθενείς που νοσηλεύοντο στη ΜΕΘ και εμφάνισαν καντιντουρία έδειξαν ότι η ανίχνευση *Candida* DNA σε δείγματα αίματος με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις PCR αποτελεί ισχυρό δείκτη πρόωμης διάγνωσης της καντιναιμίας⁷². Από ορισμένους ερευνητές έχει προταθεί επίσης η μέτρηση της C-Reactive Protein (CRP) ως δείκτη μυκητιασικής λοίμωξης: τιμή >200 mg/l θεωρείται ευαίσθητος δείκτης ενώ τα χαμηλά επίπεδα της CRP καθιστούν λιγότερο πιθανή τη λοίμωξη⁶⁹.

4. ΘΕΡΑΠΕΙΑ

4.1. Αντιμυκητιασικά φάρμακα

Έως σήμερα υπάρχουν δύο μεγάλες κατηγορίες αντιμυκητιασικών παραγώγων, τα πολυένια και οι αζόλες καθώς και μια ενδιάμεση κατηγορία που περιλαμβάνει τον αντιμεταβολίτη 5-fluorocytosine που αποτελεί μια φθοριωμένη πυριμιδίνη (Πίνακας 3).

Amphotericin B: αποτελεί μυκητοκτόνο, μακροκυκλικό πολυένιο που προέρχεται από τον *Streptomyces nodosus* και συνδέεται με τις πρωτεΐνες και τις στερόλες των λιπιδιακών μεμβρανών, με αποτέλεσμα να εμφανίζει βραδεία αποβολή από το αίμα. Χρησιμοποιείται περίπου 30 έτη για τη θεραπεία των μυκητιασικών λοιμώξεων και είναι δραστική έναντι της πλειοψηφίας των μυκητιασικών ειδών αλλά η δράση της συνδέεται με σοβαρή νεφροτοξικότητα και υποκαλαιμία. Σε μια μελέτη 2121 ασθενών με λοιμώξεις από *Aspergillus spp.* ο δείκτης αποτελεσματικότητας της amphotericin B ήταν 55%, τα ανθεκτικά στην amphotericin B μυκητιασικά στελέχη ήταν σπάνια, ενώ περιεγράφησαν ανθεκτικές περιπτώσεις από *C. lusitaniae* και *C. tropicalis*⁷⁴. Οι συνιστώμενες δόσεις είναι 0,6-1,0 mg/kg/ημέρα και η χορήγηση 500 ml φυσιολογικού ορού πριν από την έναρξη

της θεραπείας μειώνει την επίπτωση της νεφροτοξικότητας ενώ σε ασθενείς με βαριά συστηματική λοίμωξη από είδη *Candida* ο συνδυασμός με 5- fluorocytocine βελτιώνει την πρόγνωση^{75,76}.

Λιποσωμιακά παράγωγα της Amphotericin B

Τα παράγωγα αυτά δεν περιέχουν deoxycholate (ουσία υπεύθυνη για τη νεφρική τοξικότητα) και είναι κατασκευασμένα από λιποσωμιακά σφαιρίδια που περιέχουν τη δραστική ουσία εντός λιπιδιακών μεμβρανών⁷⁷. Αυτή η κατασκευή μειώνει τις ανεπιθύμητες τοξικές ενέργειες του φαρμάκου και επιτρέπει τη χορήγησή του σε υψηλότερες δόσεις (έως και 6 mg/kg/ημέρα). Τα λιποσωμιακά παράγωγα που είναι διάθεσιμα σήμερα εμφανίζουν διαφορετικό τρόπο αλληλεπίδρασης της amphotericin B με τις λιπιδιακές μεμβράνες εντός των οποίων περιέχεται καθώς και διαφορετικές φαρμακολογικές και φαρμακοκινητικές ιδιότητες. Αρκετές μελέτες αναφέρουν καλύτερη ανεκτικότητα των παραγώγων αυτών από τους ασθενείς γιατί μειώνουν τις ανεπιθύμητες τοξικές ενέργειες αλλά υψηλότερο κόστος θεραπείας σε σχέση με την κλασική amphotericin B^{78,79}. Σε πειραματικές μελέτες αναφέρεται ότι η χορήγηση λιποσωμιακών παραγώγων αμφοτερικίνης B με εισπνοές εμφάνισε ικανοποιητική αποτελεσματικότητα στην προφύλαξη της διάχυτης ασπεργύλλωσης⁸⁰. Συνήθως τα λιποσωμιακά παράγωγα της amphotericin B χρησιμοποιούνται σε ασθενείς με συστηματική μυκητίαση και νεφρική ανεπάρκεια.

Νυστατίνη

Η νυστατίνη έχει παρόμοια δομή με την amphotericin B αλλά είναι αδιάλυτη στο νερό και έχει διπλή

δράση (μυκητοκτόνο και μυκητοστατική) ενώ πιθανά να εμφανίζει διασταυρούμενη δράση με την amphotericin B. Έχει χρησιμοποιηθεί για θεραπεία προφύλαξης και σε υψηλές δόσεις για να μειώσει την ένταση του αποικισμού⁷⁵.

5- fluorocytocine

Το φάρμακο αυτό είναι μια πυριμιδίνη με περιορισμένη χρήση στη ΜΕΘ λόγω της ασθενούς δράσης του και της ανθεκτικότητας που εμφανίζουν τα διάφορα μυκητιασικά είδη. Οι κυριότερες ανεπιθύμητες ενέργειες περιλαμβάνουν την ηπατοτοξικότητα, την καταστολή του μυελού των οστών και την αιματολογική τοξικότητα⁸¹.

Αζόλες (Φλουконаζόλη, Ιτρακοναζόλη, Κετοκοναζόλη)

Τα αντιμυκητιασικά αυτά φάρμακα παρουσιάζουν μυκητοστατική δράση, αρίστη βιοδιαθεσιμότητα και ταχεία κατανομή στους ιστούς ενώ ορισμένα δύνανται να χορηγηθούν και παρεντερικά. Οι αζόλες είναι πολύ καλά ανεκτές από τους ασθενείς και οι κυριότερες ανεπιθύμητες ενέργειες που εμφανίζουν είναι η ηπατοτοξικότητα, το κοιλιακό άλγος, η ναυτία, οι έμετοι και το αίσθημα κόπωσης. Η αντιμυκητιασική τους δράση επιτελείται με την αναστολή της σύνθεσης των στερολών μετά από την αναστολή του κυτοχρώματος P450⁸². Ο παλαιότερος εκπρόσωπος της ομάδας αυτής είναι η itraconazole η οποία χρησιμοποιείται σε μυκητιασικές λοιμώξεις του δέρματος και δεν είναι διαθέσιμη για παρεντερική χρήση. Η Fluconazole χρησιμοποιείται για προφυλακτική, εμπειρική και οριστική θεραπεία σε μη-ανοσοκατασταμένους ασθενείς με αποικισμό ή θετικές καλλιέργειες αίματος από *C. albicans*. Οι τελευταίες μελέτες προτείνουν τη χορήγησή της σε δόσεις 600-800 mg/ημέρα IV για 3 ημέρες και ακολούθως 400 mg/ημέρα εάν ο ασθενής εμφανίσει βελτίωση της κατάστασής του και το φάρμακο είναι καλά ανεκτό^{13,83}. Η κετοκοναζόλη χρησιμοποιείται λιγότερο συχνά και δεν είναι διαθέσιμη για ενδοφλέβια χορήγηση⁸⁴.

Νέα αντιμυκητιασικά φάρμακα (itraconazole, voriconazole, echinocandins, pradimicins, benanomicins, sordarins και nikkomycin Z)

Η Voriconazole και η itraconazole εμφανίζουν χαμηλές ανασταλτικές πυκνότητες για την πλειοψηφία

Πίνακας 3. Κυριότερα αντιμυκητιασικά φάρμακα

Φάρμακο	Δόση
Amphotericin B	0,6-1,0mg/kg
Λιποσωμιακά παράγωγα της Amphotericin B	5-6 mg/kg/day
Fluconazole	400 mg/ ημέρα ή 600-800 mg IV 3 ημέρες και μετά 400 mg/ ημέρα PO ή IV
Itraconazole	200-400 mg/ημέρα
Nystatin	200.000-500.000 U κάθε 6 h
Flucytosine	50-150 mg/kg κάθε 6 h

των *Candida spp.* και οι *echinocardins* είναι μυκητοκτόνα παράγωγα που καταστρέφουν τη σύνθεση της 1,3 glucan (αποτελεί τμήμα του κυτταρικού τοιχώματος των μυκήτων). Οι παράγοντες αυτοί δεν είναι ακόμα διαθέσιμοι αλλά τα μέχρι στιγμής στοιχεία από τις διάφορες μελέτες αναφέρουν ότι εμφανίζουν μειωμένες ανεπιθύμητες ενέργειες και μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα απέναντι στο μεγαλύτερο μέρος των μυκήτων (Πίνακας 4)⁸⁴⁻⁸⁶.

Ανοσοτροποποίηση (Immunomodulation)

Πρόσφατα διάφορες μελέτες επισήμαναν και μελέτησαν το ρόλο των ανοσοτροποποιητικών παραγόντων (immunomodulators) που περιλαμβάνουν τις κυτταροκίνες (TNF- α , ιντερλευκίνες 2, 4, 10), την ιντερφερόνη- α και τους αυξητικούς παράγοντες στις μυκητιασικές λοιμώξεις^{87,88}. Ο αυξητικός παράγοντας των πολυμορφοκυττάρων μακροφάγων (GM-CSF) αυξάνει τη φαγοκυτταρική δραστηριότητα απέναντι στους μύκητες προάγοντας τους οξειδωτικούς μηχανισμούς, η ιντερφερόνη- α αναστέλλει την καταστολή των πολυμορφοκυττάρων από τα κορτικοειδή, η εισπνοή ιντερφερόνης- α ενεργοποιεί τα κυψελιδικά μακροφάγα κύτταρα και ο συνδυασμός GM-CSF με ιντερφερόνη- α αυξάνει τη μυκητοκτόνο δράση των πολυμορφοκυττάρων και των μακροφάγων⁸⁹⁻⁹¹. Σε μια πειραματική μελέτη σε ποντίκια που υπεβλήθησαν σε χημειοθεραπεία και εν συνεχεία εκτέθηκαν σε διεισδυτική μυκητίαση οι *Nemipaitis* και συν. αναφέρουν ότι ο αυξητικός παράγοντας των μακροφάγων (M-CSF) αύξησε την κυτταροτοξικότητα, την παραγωγή περοξειδίου, τη φαγοκυττάρωση, τη χημειοταξία και τη δευτεροπαθή παραγωγή κυτταροκινών από τα μονοκύτταρα και μακροφάγα κύττα-

ρα προτείνοντας συγχρόνως περαιτέρω μελέτη των παραγόντων αυτών με ελεγχόμενες τυχαιοποιημένες μελέτες⁹². Ο παράγων νέκρωσης των όγκων (TNF- α) και η ιντερλευκίνη-2 εμφανίζουν *in vitro* τη δυνατότητα αύξησης της μυκητοκτόνου δράσης των μακροφάγων και πολυμορφοκυττάρων κυττάρων ενώ σε πειραματικές μελέτες η αναστολή της δράσης των ιντερλευκινών 4 και 10 βελτίωσε την επιβίωση⁹³. Έως σήμερα τα πειραματικά δεδομένα δεν είναι δυνατόν να στοιχειοθετήσουν την κλινική εφαρμογή των ανοσοτροποποιητικών παραγόντων. Σε πειραματικές μελέτες και σε μικρές κλινικές μελέτες φάσης III οι παράγοντες αυτοί χρησιμοποιήθηκαν ως προφύλαξη έναντι μυκητιασικών λοιμώξεων κατά τη διάρκεια ουδετεροπενίας (μείωσαν τη διάρκεια της ουδετεροπενίας και τον αριθμό των μυκητιασικών λοιμώξεων), ως προφύλαξη σε μη ουδετεροπενικούς ασθενείς (μικρός αριθμός μελετών με μη επαρκή αποτελέσματα), ως εμπειρική θεραπεία σε εμπύρετους ουδετεροπενικούς ασθενείς (δεν βελτίωσαν την πρόγνωση) και ως οριστική θεραπεία σε τεκμηριωμένες μυκητιασικές λοιμώξεις (χορηγήθηκαν σε υψηλότερες δόσεις απ' ό,τι οι συνήθεις αλλά εμφάνισαν θρομβοπενία και αιμοραγική διάθεση)⁹⁴⁻⁹⁶.

Η θεραπεία των μυκητιασικών λοιμώξεων ταξινομείται σε προφυλακτική, πρώιμη θεραπευτική (early presumptive), εμπειρική και οριστική (definitive).

Προφυλακτική θεραπεία: Η προφυλακτική θεραπεία χορηγείται σε ασθενείς που εμφανίζουν προδιαθεσιακούς παράγοντες για λοίμωξη (βαρέως πάσχοντες με εγκαύματα, αποικισμός του εντέρου, AIDS, μεταμόσχευση)⁹⁷.

Πρώιμη θεραπευτική: Η πρώιμη θεραπευτική (early presumptive therapy) συχνά επικαλύπτεται από την εμπειρική θεραπεία. Χορηγείται σε ορισμένους ασθενείς υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση μυκητιασικών λοιμώξεων στους οποίους συνυπάρχουν ορισμένοι προδιαθεσιακοί παράγοντες (κυρίως σε ασθενείς με παρατεταμένο αποικισμό από μυκητιασικά στελέχη). Αν και δεν υπάρχουν σαφείς οδηγίες, η πρώιμη θεραπευτική θεραπεία εφαρμόζεται όταν οι ασθενείς είναι αυξημένου κινδύνου για την εμφάνιση μυκητιασικών λοιμώξεων και συνυπάρχουν δύο ή περισσότεροι προδιαθεσιακοί παράγοντες με δύο τουλάχιστον εστίες από τις οποίες απομονώνεται *Candida spp.*

Εμπειρική θεραπεία: Είναι η θεραπεία που χορη-

Πίνακας 4. Κυριότερες ανεπιθύμητες ενέργειες αντιμυκητιασικών φαρμάκων

Φάρμακο	Ανεπιθύμητη ενέργεια
Amphotericin B	⇒ Κεφαλαλγία, ρίγη, πυρετός, ναυτία, νεφροτοξικότητα, υπόταση, υποκαλιαιμία
Lipid-Based Amphotericin B	⇒ Ρίγη, μέτριας βαρύτητας νεφροτοξικότητα
Fluconazole	⇒ Ηπατοτοξικότητα
Flucytosine	⇒ Αιματολογική και ηπατική τοξικότητα, διάρροια

γείται σε ασθενείς χωρίς εργαστηριακή ή ιστολογική επιβεβαίωση μύκητα αλλά με επίμονα συμπτώματα και κλινικά σημεία της εν τω βάθει συστηματικής μυκητίασης παρά τη χρήση αντιβιοτικών ευρέος φάσματος.

Οριστική θεραπεία: Χορηγείται όταν είναι επιβεβαιωμένη η παρουσία του μύκητα από ένα σημείο του σώματος (εκτός από τις καλλιέργειες ούρων). Ανεξάρτητα από τη χορήγηση ή όχι αντιμυκητιασικής θεραπείας είναι σημαντική η αλλαγή του ουροκαθετήρα και η αφαίρεση/αλλαγή όλων των κεντρικών καθετήρων που αποτελούν πηγή λοίμωξης.

Η ταχεία θεραπευτική παρέμβαση σε ασθενείς με μυκητιασικές λοιμώξεις μειώνει το δείκτη θνητότητας από 83% σε 42%⁹⁸. Η καθυστερημένη αφαίρεση/αλλαγή των κεντρικών καθετήρων και ουροκαθετήρων συνδέεται με πτωχότερη πρόγνωση^{99,100}.

Η καντινουλία όπως προαναφέρθηκε διαδραματίζει έναν αμφιλεγόμενο ρόλο στην εμφάνιση διεισδυτικών μυκητιασικών λοιμώξεων. Στο παρελθόν σε πολλούς ασθενείς με θετικές καλλιέργειες ούρων για μύκητες δεν χορηγείτο θεραπεία λόγω της θεωρούμενης χαμηλής πιθανότητας εμφάνισης συστηματικών μυκητιασικών λοιμώξεων και της τοξικότητας της αμφοτερικίνης Β (το μόνο διαθέσιμο αντιμυκητιασικό παράγωγο εκείνη την περίοδο). Η σταδιακή αύξηση της επίπτωσης των μυκητιασικών λοιμώξεων στους βαρέως πάσχοντες ασθενείς και η συσχέτιση της καντινουλίας με την εμφάνιση διεισδυτικής λοίμωξης οδήγησε στη χρήση των πλύσεων της ουροδόχου κύστεως με αμφοτερικίνη Β (μη αποτελεσματική, υψηλό κόστος). Η από του στόματος χορήγηση της φλουκοναζόλης σε συνδυασμό με την αφαίρεση του ουροκαθετήρα θεωρείται σήμερα ως η πλέον ασφαλής και αποτελεσματική μέθοδος εκρίζωσης του αποικισμού από μύκητες σε βαρέως πάσχοντες ασθενείς^{27,101}.

Η Βρετανική Εταιρεία Αντιμικροβιακής Θεραπείας, θεσπίζοντας θέσεις ομοφωνίας για τους ορισμούς που ισχύουν στις μυκητιασικές λοιμώξεις (π.χ. τι είναι αποικισμός, λοίμωξη κ.λπ.) όπως φαίνεται στον πίνακα 5, προτείνει την έναρξη της οριστικής αντιμυκητιασικής θεραπείας σε:

- Απομόνωση μύκητα από καλλιέργεια αίματος
- Ταυτοποίηση μύκητα από προηγούμενο στείρο σημείο του σώματος (εκτός από τα ούρα) σε ασθενείς με προδιαθεσικούς παράγοντες
- Ιστολογική επιβεβαίωση μύκητα και

- Παρουσία νέων ευρήματων στην ακτινογραφία θώρακα σε ασθενείς υψηλού κινδύνου (π.χ. σε ασθενείς που υπέστησαν μεταμόσχευση και θεωρούνται υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση ασπεργίλλωσης)¹⁰².

Μεγάλη σημασία στη χορήγηση αντιμυκητιασικών παραγώνων έχει το μυκητόγραμμα (αναφέρεται από τα περισσότερα εργαστήρια ως E-test) το οποίο ανιχνεύει την ευαισθησία των ταυτοποιημένων στελεχών και ειδών μυκήτων στα διάφορα αντιμυκητιασικά φάρμακα.

Η διάρκεια της αντιμυκητιασικής θεραπείας είναι αμφιλεγόμενη. Σε επιβεβαιωμένες συστηματικές λοιμώξεις η θεραπεία πρέπει να διακόπτεται 14 ημέρες

Πίνακας 5. Ορισμοί που ισχύουν για τις μυκητιασικές λοιμώξεις

➤ *Candida spp.*

- **ΑΠΟΙΚΙΣΜΟΣ:** Η απομόνωση μύκητα σε δύο τουλάχιστον δείγματα από διαφορετικές θέσεις του σώματος. Ο όρος *Candiduria* χρησιμοποιείται για τις θετικές καλλιέργειες ούρων (άνω των 100.000 αποικιών *Candida spp.*/mm³).
- **ΔΙΕΙΣΔΥΤΙΚΗ Η ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΜΥΚΗΤΙΑΣΗ:** Η απομόνωση *Candida spp.* από μια τουλάχιστον καλλιέργεια αίματος. Συχνά χρησιμοποιείται ο όρος καντινουλία.
- **ΔΙΑΧΥΤΗ ΜΥΚΗΤΙΑΣΗ (DISSEMINATED FUNGAL INFECTION):** Η προσβολή πολλών μη-ομολόγων οργάνων.
- **ΧΡΟΝΙΑ ΔΙΑΧΥΤΗ ΜΥΚΗΤΙΑΣΗ:** Ο όρος χρησιμοποιείται για την ηπατοσπληνική μορφή μυκητίασης που προσβάλλει συνήθως ασθενείς με ανοσοκαταστολή και σοβαρή ουδετεροπενία.

➤ *Aspergillus spp.*

- **ΑΠΟΙΚΙΣΜΟΣ:** Η ανεύρεση θετικών καλλιεργιών πτυέλων και/ή βρογχοκυψελιδικού εκπλύματος (BAL) για *Aspergillus spp.* χωρίς κλινικά σημεία λοίμωξης.
- **ΔΙΕΙΣΔΥΤΙΚΗ ASPERGILLOSIS:** Η ανεύρεση *Aspergillus spp.* σε καλλιέργειες πτυέλων και/ή βρογχοκυψελιδικού εκπλύματος (BAL) που συνδυάζονται με νέα διηθήματα στην ακτινογραφία θώρακα, σημεία λοίμωξης και την ύπαρξη προδιαθεσικών παραγόντων. Η τεκμηρίωση της διεισδυτικής λοίμωξης τίθεται συνήθως από την καλλιέργεια του μύκητα από βιοψία ιστού.
- **ΔΙΑΧΥΤΗ ASPERGILLOSIS:** Η ανεύρεση *Aspergillus spp.* σε θέσεις του σώματος μακριά από τους πνεύμονες (προσβολή μη ομολόγων οργάνων).

μετά από την αρνητικοποίηση των καλλιιεργειών ή 5 ημέρες μετά από την αποδρομή των συμπτωμάτων στους ασθενείς με ή χωρίς ανοσοκαταστολή¹⁰³. Η επιλογή των αντιμυκητιασικών φαρμάκων εξαρτάται από τη βαρύτητα της νόσου, το είδος του μύκητα που απομονώνεται, το σημείο του σώματος από το οποίο απομονώθηκε ο μύκητας, τις δοκιμασίες ευαισθησίας των αντιμυκητιασικών παραγώγων και την προηγούμενη έκθεση των ασθενών σε αντιμυκητιασικά φάρμακα.

Σε μη-ανοσοκατασταλμένους ασθενείς η φλουκοναζόλη αποτελεί το φάρμακο εκλογής (δεν χορηγείται μόνο όταν απομονώνονται ανθεκτικά στελέχη *C. glabrata* και *C. krusei*)¹⁰⁴. Σε μη ανοσοκατασταλμένους ασθενείς με αιμοδυναμική αστάθεια (σήψη) και κλινική υποψία συστηματικής μυκητίασης, σε ενδοκαρδίτιδα, περικαρδίτιδα, οστεομυελίτιδα, μηνιγγίτιδα και ενδοφθαλμίτιδα χορηγείται amphotericin B μόνη της ή σε συνδυασμό με 5-fluorocytosine για την αποφυγή ανθεκτικότητας¹⁰⁵.

Η μελέτη SCOPE αναφέρει ολική ανθεκτικότητα (overall resistance) της *Candida albicans* 9,6%, 10,7%, 7,9% στη fluconazole, itraconazole και 5-fluorocytosine, αντίστοιχα ενώ τα λιποσωμιακά παράγωγα της amphotericin B εμφανίζουν μεγαλύτερη δραστηριότητα από την παραδοσιακή amphotericin B έναντι των *Candida spp.*, *C. neoformans* και *A. fumigatus*⁹.

5. ΚΟΣΤΟΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΤΩΝ ΜΥΚΗΤΙΑΣΙΚΩΝ ΛΟΙΜΩΞΕΩΝ ΣΤΗ ΜΕΘ

Η amphotericin B παραμένει το κυριότερο αντιμυκητιασικό φάρμακο αν και εμφανίζει σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες (κυρίως νεφροτοξικότητα) ενώ τα λιποσωμιακά παράγωγα αυτής είναι καλύτερα ανεκτά από τους ασθενείς και χορηγούνται σε υψηλότερες δόσεις. Το κόστος χορήγησης των λιποσωμιακών παραγώγων είναι υψηλότερο σε σύγκριση με αυτό της συμβατικής amphotericin B αλλά εξισορροπείται από τη μειωμένη επίπτωση των παρενεργειών (νεφροτοξικότητα, νοσοκομειακές λοιμώξεις) και το μικρότερο χρόνο νοσηλείας στη ΜΕΘ¹⁰⁶. Η φλουκοναζόλη εμφανίζει λιγότερες ανεπιθύμητες ενέργειες και όμοια κλινική αποτελεσματικότητα μ' αυτήν της αμφοτερικίνης B. Οι Dranitsaris και συν. σε μια πολυκεντρική συγκριτική μελέτη αναφέρουν ότι η φλουκοναζόλη συνδέεται με πα-

ρατεταμένη νοσηλεία των ασθενών (5 ημέρες περισσότερο από τους ασθενείς που θεραπεύονται με amphotericin B· 23,7 ημέρες έναντι 17,1 ημέρες αντίστοιχα· $p < ,001$) και αυξημένο κόστος νοσηλείας (50% υψηλότερο από το αντίστοιχο των ασθενών που θεραπεύονται με amphotericin B: fluconazole \$Can 3578 έναντι amphotericin B \$Can 2370) λόγω της ανθεκτικότητας που εμφανίζουν αρκετά μυκητιασικά στελέχη από την ευρεία χορήγησή της ως εμπειρική θεραπεία¹⁰⁷. Οι Pelz και συν. σε μια προοπτική μελέτη αναφέρουν ότι το μέσο κόστος νοσηλείας των ασθενών με λοιμώξεις από στέλεχη *Candida* που νοσηλεύονται σε ΜΕΘ ανέρχεται σε \$21.590¹⁰⁸. Μια πρόσφατη αναδρομική μελέτη αξιολόγησε τις επιπτώσεις της χορήγησης φλουκοναζόλης σε 99 βαρέως πάσχοντες ασθενείς της ΜΕΘ στους οποίους διαγνώστηκαν βακτηριακές λοιμώξεις και απομονώθηκαν ταυτόχρονα στελέχη *Candida*¹⁰⁹. Σε 50 από τους 99 ασθενείς της μελέτης χορηγήθηκε φλουκοναζόλη ως εμπειρική θεραπεία. Η διάρκεια νοσηλείας στη ΜΕΘ των ασθενών που έλαβαν φλουκοναζόλη ήταν 23,7 ημέρες έναντι 15,1 ημερών των ασθενών στους οποίους δεν χορηγήθηκε φλουκοναζόλη, η ανθεκτικότητα των βακτηριδίων στην πρώτη ομάδα των ασθενών ήταν 16% ενώ στη δεύτερη ομάδα 4% και ο δείκτης θνητότητας 40% και 20% αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα αυτά υπογραμμίζουν την αύξηση της ανθεκτικότητας των μυκητιασικών στελεχών στη φλουκοναζόλη λόγω της ευρείας εμπειρικής χρήσης της που οδηγεί σε αυξημένη θνητότητα και παρατεταμένη νοσηλεία των ασθενών στη ΜΕΘ.

Οι μελλοντικοί στόχοι της έρευνας στο πεδίο των μυκητιασικών λοιμώξεων εστιάζονται: α) στην ανεύρεση μιας ευαίσθητης και ειδικής εργαστηριακής μεθόδου που θα διαφοροδιαγιγνώσκει τον αποικισμό από τη λοίμωξη, β) στα νέα αντιμυκητιασικά φάρμακα με σκοπό την υψηλότερη αποτελεσματικότητα, ασφάλεια και ανεκτικότητα από τους ασθενείς και γ) στο φαρμακοοικονομικό τομέα επειδή η προφύλαξη και η εμπειρική θεραπεία με αντιμυκητιασικά φάρμακα συνδέονται πλέον με αυξημένο κόστος, παρατεταμένη νοσηλεία και υψηλότερη θνητότητα λόγω της ανθεκτικότητας που αναπτύσσεται από αρκετά είδη μυκήτων^{110, 111}.

Καταλήγοντας, οι μυκητιασικές λοιμώξεις εμφανίζουν αυξημένη επίπτωση στους μη ανοσοκατασταλμένους ασθενείς που νοσηλεύονται στη ΜΕΘ και συν-

δέονται με αυξημένη νοσηρότητα και θνητότητα. Η παθογένεση και η θεραπεία των λοιμώξεων αυτών έχει μελετηθεί επαρκώς αλλά οι έως σήμερα χρησιμοποιούμενες εργαστηριακές μέθοδοι δεν είναι σε θέση να θέσουν τη διαφορική διάγνωση του αποικισμού από τη συστηματική λοίμωξη. Πολλές μελέτες καθόρισαν έναν αριθμό προδιαθεσικών παραγόντων που συνδέονται με την εμφάνιση των μυκητιασικών λοιμώξεων, με σκοπό την αναγνώριση ασθενών υψηλού κινδύνου. Οι νεότερες διαγνωστικές μοριακές τεχνικές εμφανίζουν ισχυρή ευαισθησία και ειδικότητα στη διάγνωση της διεισδυτικής μυκητιασικής λοίμωξης. Η αμφοτερι-

κίνη Β κατέχει την κυρία θέση στη θεραπεία ενώ η φλουκοναζόλη πρέπει να χρησιμοποιείται στη θεραπεία του αποικισμού που συνδυάζεται με ορισμένους προδιαθεσικούς παράγοντες και σε μη-ουδετεροπενικούς ασθενείς που εμφανίζουν θετικές καλλιέργειες για στελέχη *C. albicans*. Η εμπειρική θεραπεία της φλουκοναζόλης αυξάνει την ανθεκτικότητα των μυκήτων. Η πρόγνωση των μυκητιασικών λοιμώξεων εξαρτάται από την πρόωγη διάγνωση, τη βαρύτητα της κυρίας νόσου, την ύπαρξη προδιαθεσικών παραγόντων και την ανθεκτικότητα των διαφόρων μυκητιασικών στελεχών στα αντιμυκητιασικά φάρμακα.

SUMMARY

Fungal infections in the Intensive Care Unit

Dimopoulos G., Karabinis A.

*The incidence of fungal infections in the Intensive Care Unit (ICU) has increased with the use of advanced medical and life support systems, the prolongation of life and the increasing number of patients with severe underlying diseases altering the immune response (cancer, chemotherapy, transplantation, AIDS). Systemic fungal infections are associated with high morbidity and mortality rates. The diagnosis remains difficult in the absence of specific techniques able to distinguish colonization from invasive and disseminated disease. Treatment of fungal infections has been classified as prophylactic, early presumptive, empiric and definitive. Several antifungal agents are or will be available, including amphotericin B with or without liposomal formulations, azoles, flucytosine, nystatin, voriconazole, echinocandins and itraconazole. Immunomodulation therapy is under investigation. Some fungal strains have intrinsic or acquired resistance against antifungal drugs. The antifungal treatment may be associated with severe complications which might prolong ICU stay and increase hospitalization cost. The prognosis of systemic fungal infections is poor. **Pneumon 2002, 15(1):38-53.***

Key words: Intensive Care Unit (ICU), fungal infections, epidemiology, pathogenesis, predisposing factors, diagnosis, treatment

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Flanagan PG, Barnes RA. Fungal infection in the intensive care unit. *J Clin Infect* 1998; 38:163-177.
2. Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infections, with emphasis on *Candida* species. *Clin Infect Dis* 1995; 20:1526-1530.
3. Back-Sague C, Jarvis WR. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990. National Nosocomial Infections Surveillance System. *J Infect Dis* 1993; 167:1247-51.
4. Fridkin SK, Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infections. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9:499-511.
5. Bodey GP. Hematogenous and major organs candidiasis. In: Bodey GP (ed) *Candidiasis: Pathogenesis, diagnosis and treatment*. Raven press, New York, 1993; pp 279-329.
6. Lipsett PA. Fungal infections in critically ill surgical patients. In: Vincent JL (ed) *2000 Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York etc, 2000; pp 135-143.
7. Soni N. *Candida*: Some thoughts. In: Vincent JL (ed) *2000 Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York etc, 2000; pp 144-159.

8. Banerjee SN, Emori TG, Gulver DH et al. Secular trends in nosocomial primary blood-infections in the United States, 1980-1989. *Am J Med* 1991; 91(suppl 3B):86S-89S.
9. Pfaller MA, Jones RN, Messer SA, Edmond MB, Wenzel RP. National surveillance of nosocomial blood stream infection due to species of *Candida* other than *Candida albicans*: frequency of occurrence and antifungal susceptibility in the SCOPE Program. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998b; 30:121-129.
10. Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Hollis RJ, Messer SA. International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and antifungal susceptibilities of isolates collected in 1997 in the United States, Canada and South America for the SENTRY program. The SENTRY Participant Group. *J Clin Microbiol* 1998; 37:531-37.
11. Vincent JL, Bihari DJ, Suter PM et al. The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. EPIC International Advisory Committee. *JAMA* 1995; 274:639-644.
12. Nolla-Salas J, Sitrges-Serra A, Leon-Gil C, et al. Candidemia in non neutropenic critically ill patients: analysis of prognostic factors and assessment of systemic antifungal therapy. Study Group of Fungal Infection in the ICU. *Intensive Care Med* 1997; 23:23-30.
13. Diaz E, et al. Nosocomial candidemia risk factors. *Intensive Care Med* 1998; 24 (Suppl 1):S143-146.
14. Vincent JL, Anaissie E, Bruining H, et al. Epidemiology, diagnosis and treatment of systemic *Candida* infection in surgical patients under intensive care. *Intensive Care Med* 1998; 24:206-216.
15. Sanchez VJ, Vasquez D, Barth-Jones D, Dembry L, Sobel JD, Zervos MJ. Epidemiology of nosocomial acquisition of *Candida lusitanae*. *J Clin Microbiol* 1992; 30:3005-8.
16. Pittet D, Garbino J. Fungal infections in the critically ill. *Curr Opin Crit Care* 1995; 1:369-80.
17. Karabinis A, Hill C, Leclercq B, Tancrede C, Baume D, Andremont A. Risk factors for candidemia: a case control study. *Am J Med* 1988; 87:614-20.
18. Voss A, Le Noble JLML, Verduyn Lunel FM, Foudraine NA, Meis JFGM. Candidemia in intensive care units: risk factors for mortality. *Infection* 1997; 25:8-11.
19. Krause W, Matheis H, Wulf K. Fungemia and funguria after oral administration of *Candida albicans*. *Lancet* 1969; 1:598-99.
20. Bross J, Talbot GH, Maislin G, Hurwits S, Strom BL: Risk factors for nosocomial candidemia: a case control study in adults without leukemia. *Am J Med* 1989; 87:614-620.
21. Pitet D, Monod M, Suter PM, Frenk E, Auckenthaler R. *Candida* colonization and subsequent infections in critically ill surgical patients. *Ann Surg* 1994; 220:751-758.
22. Solomkin J, Flohr A, Simmons RL. Indications for therapy for fungemia in postoperative patients. *Arch Surg* 1982; 117:1272-1275.
23. Voss A, Hollis RJ, Pfaller MA, Wenzel RP, Doebbeling BN. Investigation of the sequence of colonization and candidemia in non-neutropenic patients. *J Clin Microbiol* 1994; 32:975-980.
24. El Ebiary M, Torres A, Febregas N, et al: Significance of the isolation of *Candida* species from respiratory samples in critically ill, non neutropenic patients. An immediate postmortem histologic study. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153:583-590.
25. Fraser VJ, Jones M, Dunkel J, Storfer S, Medoff G, Clai-borne Dunagan W. Candidemia in a tertiary care hospital: epidemiology, risk factors and predictors of mortality. *Clin Infect Dis* 1992; 15:414-21.
26. Wise GS, Silver DA. Fungal infections of the genitourinary system. *J Urology* 1993; 149:1377-88.
27. Nassura Z, Ivaturi RR, Simon RJ, Jabbour N, Stahl WM. Candiduria as an early marker of disseminated infection in critically ill surgical patients: the role of fluconazole therapy. *J Trauma* 1993; 35(2):290-94.
28. Talluri G, Marella VK, Shirazian D, Wise GS. Immune response in patients with persistent candiduria and occult candidemia. *J Urology* 1999; 162:1361-64.
29. Kauffman CA, Vasquez JA, Sobel JD, Gallis HA, McK-insey DS, Karchmer WA, Sugar AM, Sharkey KP, Wilse GJ, Mangi R, Mosner A, Lee JY, Dismukes WE and the National Institute for Allergy and Infectious Diseases (NIAID) Mycoses Study Group: Prospective Multicenter Surveillance Study of Funguria in Hospitalized Patients. *Clinical Infectious Diseases* 2000; 30:14-8.
30. Sobel JD, Kauffman CA, McKisney D, Zervos M, Vasquez JA, Karchmer AW, Lee J, Thomas C, Panzer H, Dismoukes WE and the NIAID Mycoses Study Group. Candiduria: A randomized, double-blind study of treatment with Fluconazole and placebo. *Clin Infect Dis* 2000; 30:19-24.
31. Wey SB, Motoni M, Pfaller MA, Woolson RF, Wenzel RP. Risk factors for hospital-acquired candidemia: a matched case-control study. *Arch Intern Med* 1989; 149:2349-53.
32. Kennedy MJ, Volz PA. Effect of various antibiotics on

- gastrointestinal colonization and dissemination by *Candida albicans*. *Sabouradia* 1997; 23:265-73.
33. Giulliano M, Barza M, Jacobouw NV, Gobarch SL. Effect of broad-spectrum antibiotics on composition of intestinal microflora of humans. *Antimicrob Agents Chemother* 1987;31:202-206.
 34. Wenzel RP. Nosocomial Candidemia: Risk factors and attributable mortality. *Clin Infect Dis* 1995; 20:1531-4.
 35. Samonis G, Anaissie EJ, Boddey GP. Effects of broad-spectrum antimicrobial agents on yeast colonization of the gastrointestinal tracts of mice. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34(12):2420-22.
 36. Samonis G, Gikas A, Anaissie EJ, Vrentzos G, Maraki S, Tselentis Y, Boddey GP. Prospective evaluation of effects of broad-spectrum antibiotics on gastrointestinal yeast colonization of humans. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37:51-53.
 37. Barzotta A, Beardsley K. *Candida* infection in critically ill trauma patients. A retrospective case control study. *Arch Surg* 1999; 134:657-664.
 38. Diamond RD. Immune response to fungal infection. *Rev Infect Dis* 1989; 11(suppl 7):S1600-1604.
 39. Sobel JD. *Candida* infections in the intensive care unit. *Crit Care Clin* 1988; 4:325-344.
 40. Schaffner A, Davis CE, Schnaffer T, et al. In vitro susceptibility of fungi to killing by neutrophil granulocytes discriminates between primary pathogenicity and opportunism. *J Clin Invest* 1986; 78:511-5.
 41. Maki DG, Mermel LA. Infections due to infusion therapy. In: Benett JV, Brachman PS (eds) *Hospital Infections*, 4th edn. Lippincott-Raven, Philadelphia, 1998, pp:689-724.
 42. Spaeth G, Gottward T, Specian RD, Mainous MR, Berg RD, Deitch ED. Secretory Immunoglobulin A, Intestinal Musin and Mucosal Permeability in nutritionally induced bacterial translocation in rats. *Ann Surgery* 1994; 220(6):798-808.
 43. Alverady E, Aoy E, Weiss-Carrington P, Burk DA. The effect of glutamine-enriched TPN on gut immune cellularity. *J Surg Res* 1992; 52:34-9.
 44. Dean DA, Burchard KW. Fungal infection in surgical patients. *Am J Surg* 1996; 171:374-82.
 45. Calvano SE, DeRiesthal HF, Marano MA et al. The decrease in peripheral blood CD4⁺ and T cells following thermal injury in humans can be accounted for by a concomitant decrease in suppressor-inducer CD⁺ and T cells as assessed using anti-CD45R. *Clin Immunol Immunopathol* 1998; 47:164-171.
 46. Komshian SV, Uwaydah A, Sobel JD, Crane LR. Fungemia caused by *Candida* species and *Toluopsis glabrata* in the hospitalized patient: frequency, characteristics and evaluation of factors influencing outcome. *Rev Infect Dis* 1989; 11:379-390.
 47. Critchley IA, Douglas LJ. Role of glycosides as epithelial cell receptors for *Candida albicans*. *J Gen Microbiol* 1987; 133:637-43.
 48. Menezes Av, Sigismud DA, Demajo WA, Devenyi RG. Mortality of hospitalized patients with *Candida* endophthalmitis. *Arch Intern Med* 1994;154:2093-97.
 49. Saral R. *Candida* and *Aspergillus* infections in immunocompromized patients: an overview. *Rev Infect Dis* 1991; 13:487-92.
 50. Andriole VT. Infections with *Aspergillus* species. *Clin Infect Dis* 1993; 17(Suppl 2):S481-6.
 51. Rhame FS. Prevention of nosocomial Aspergillosis. *J Hosp Inf* 1991; 18(Suppl.):466-472.
 52. Gerson SL, Pareker P, Jacobs MR, Creger R, Lazarus HM. Aspergillosis due to carpet contamination. 1994; 15:221-223.
 53. Anaissie E. Opportunistic mycoses in the immunocompromized host: Experience at a cancer center and review. *Clin Infect Dis* 1992; 14(Suppl 1):S43-53.
 54. Pannutti CS, Gingrich RD, Pfaller MA, Wenzel RP. Nosocomial pneumonia in adult patients undergoing bone marrow transplantation: a 9-year study. *J Clin Oncol* 1991; 9:77-84.
 55. Cahill BC, Hibbs JR, Savik K, Juni BA, Dosland BSN, Edin-Stibbe C, Hertz MI. *Aspergillus* airway colonization and invasive disease after lung transplantation. *Chest* 1997; 112:1160-64.
 56. Rello J, Esandi ME, Diaz E, Mariscal D, Gallego M, Domingo C, Valles J. Invasive pulmonary Aspergillosis in patients with chronic obstructive pulmonary disease: report of eight cases and review. *Clin Infect Dis* 1998; 26:1473-1475.
 57. Dimopoulos G, Piagnerelli M, Berru J, Eddafali B, Salmon I, Vincent JL. Disseminated Aspergillosis in the ICU. *Eur Resp J* (In Press).
 58. Cisneros JM, Munoz P, Torre-Cisneros et al. Pneumonia after transplantation: a multi institutional study. Spanish Transplantation Infection Study Group. *J Clin Infect Dis* 1998; 27:324-331.
 59. Andriole VT. Serodiagnosis of Aspergillosis. In: Benett JE, Hay RJ, Peterson PK, eds. *New strategies in fungal disease*. New York:Churchill Livingstone, 1991: 245-56.
 60. De Marie S. New developments in the diagnosis and management of intensive fungal infections. *Hematolog-*

- ica 2000; 85(1):88-93.
61. Martino P, Girmenia C, Micozzi A, De Bernardis F, Boccanera M, Cassone A. Prospective study of *Candida* colonization, use of empiric amphotericin B and development of invasive mycosis in neutropenic patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1994; 13:797-804.
 62. Brooks RG. Prospective study of *Candida* endophthalmitis in hospitalized patients with candidemia. *Arch Inter Med* 1989; 149:2226-2228.
 63. Heussel CP, Kauczor HU, Heussel G, Fischer B, Mildemberger P, Thelen. Early detection of pneumonia in febrile neutropenic patients: use of thin-section CT. *Am J Roentgenol* 1997; 169:1347-1353.
 64. Rello J, Esandi ME, Diaz E, Mariscal D, Gallego M, Valles J. The role of *Candida* spp. isolated from bronchoscopic samples in nonneutropenic patients. *Chest* 1998; 114:146-149.
 65. Geha DJ, Roberts GD. Laboratory detection of fungemia. *Clin Lab Med* 1994; 14:83-97.
 66. Machetti M, Feasi M, Mordini N et al. Comparison of an enzyme immunoassay and a latex agglutination system for the diagnosis of invasive aspergillosis in bone marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 1998; 21:917-921.
 67. Verweij PE, Erjavec Z, Sluiter W et al. Detection of antigen in sera of patients with invasive aspergillosis: intra- and inter-laboratory reproducibility. The Dutch Interuniversity Working Party for Invasive Mycoses. *J Clin Microbiol* 1998; 36:1612-1616.
 68. Yagupsky P, Nottle FS, Menegus MA. Enhanced detection of *Candida* in blood cultures with the BACTEC 460 system by use of the aerobic-hypertonic (8B) medium. *Epidemiol Infect* 1990; 105:553-8.
 69. Einsele H, Hebart H, Roller G, et al. Detection and identification of fungal pathogens in blood by using molecular probes. *J Clin Microbiol* 1997; 35:1353-1360.
 70. Talluri G, Mancone C, Freyle J, Shirazian D, Lehman H, Wise G. Polymerase Chain Reaction used to detect candidemia in patients with candiduria. *Urology* 1998; 51(3):501-505.
 71. Kan VL. Polymerase Chain Reaction for the diagnosis of candidemia. *J Infect Dis* 1993;168:779-83.
 72. Dimopoulos G, Velegraki A, Karabinis A, Gogas I, Legakis NJ. Is candiduria an early candidemia marker when coupled with repeated PCR? Preliminary study on 34 cases. *Intens Care Med* (in Press).
 73. Young B, Glesson M, Cripps AW. C-reactive protein: a critical review. *Pathology* 1991; 23:118-124.
 74. Denning DW, Stevens DA. Antifungal and surgical treatment of invasive aspergillosis: review of 2121 published cases. *Rev Infect Dis* 1990; 12:1147-1201.
 75. Johnson EM, Ojwang JO, Szekeley A, Wallace TL, Warnock DW. Comparison of in vitro antifungal activities of free and liposome-encapsulated nystatin with those of four amphotericin B formulations. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42:1412-1416.
 76. Khoo SH, Bond J, Denning DW. Administating amphotericin B-a practical approach. *J Antimicrob Chemother* 1994; 33:203-213.
 77. Leenders ACA, Daenen S, Jansen RLH et al. Liposomal amphotericin B compared with amphotericin B in the treatment of documented and suspected neutropenia-associated invasive fungal infections. *Br J Haematol* 1998; 103:205-12.
 78. Walsh TJ, Yeldandi V, McEvoy M et al. Safety, tolerance and pharmacokinetics of a small unilateral liposomal formulation of amphotericin B (Ambisome) in neutropenic patients. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42:2391-2398.
 79. Walsh TJ, Hiemenz JW, Seibel NL, et al. Amphotericin B lipid complex for invasive fungal infections: analysis of safety and efficacy in 556 cases. *Clin Infect Dis* 1998; 26:1383-96.
 80. Cicogna CE, White MH, Bernard EM, Ishimura T, Sun M, Tong WP. Efficacy of prophylactic aerosol amphotericin B lipid complex in rat model of pulmonary aspergillosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1997; 41:259-61.
 81. Anaissie E, Solomkin JS. Fungal infection. Approach to the surgical patient at risk for candidiasis. In: Wilmore DW, Cheung LY, Harken AH, et al. American College of Surgeons (eds) *Scientific American Surgery*. Scientific American, Inc, New York 1994; pp 1-19.
 82. Bronstein JA, Gros P, Hernandez E, Larroque P, Molinie C. Fatal acute hepatic necrosis due to dose-dependent fluconazole hepatotoxicity. *Clin Infect Dis* 1997; 25:1266-67.
 83. Anaissie EJ, Vartivarian SE, Abi-Said D, et al. Fluconazole versus amphotericin B in the treatment of hematogenous candidiasis: a matched cohort study. *Am J Med* 1996; 101:170-6.
 84. Vermeij PE, Mensink M, Rijs AJ, Donnelly JR, Meis JF, Denning DW. In vitro activities of amphotericin B, itraconazole and voriconazole against 150 clinical and environmental *Aspergillus fumigatus* isolates. *J Antimicrob Chemother* 1998; 42:389-392.
 85. Marco F, Pfaller MA, Messer S, Jones RN. In vitro activities of voriconazole (UK-109,496) and four other an-

- tifungal agents against 394 clinical isolates of *Candida* spp. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42:2584-2589.
86. Zhanel GG, Karlowsky JA, Harding GA, et al. In vitro activity of a new semisynthetic echinocandin, LY-303366, against systemic isolates of *Candida* spp., *Cryptococcus neoformans*, *Blastomyces dermatitidis* and *Aspergillus* spp. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41:863-5.
 87. American Society of Clinical Oncology. Recommendations for the use of hematopoietic colony-stimulating factors: evidence-based, clinical practice guidelines. *J Clin Oncol* 1994; 12:2471-2508.
 88. Freifeld A, Pizzo P. Colony-stimulating factors and neutropenia; intersection of data and clinical relevance. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87:781-2.
 89. Nagai H, Guo J, Choi H, Kurup V. Interferon- α and tumor necrosis factor- α protect mice from invasive aspergillosis. *J Infect Dis* 1995; 172:1554-60.
 90. Roilides E, Holmes A, Blake C, Venzon D, Pizzo PA, Walsh TJ. Antifungal activity of elutriated human monocytes against *Aspergillus fumigatus* hyphae: enhancement by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interferon gamma. *J Infect Dis* 1994; 170:894-9.
 91. Halme M, Maasilta P, Repo H, Ristola M, Taskinen E, Mattson K. Inhaled recombinant interferon gamma in patients with lung cancer; pharmacokinetics and effects on chemiluminescence responses of alveolar macrophages and peripheral blood neutrophils and monocytes. *Intern J Radiation Onc Biol Phys* 1995; 1:93-101.
 92. Nemunaitis J. Use of macrophage colony-stimulating factor of fungal infections. *Clin Infect Dis* 1998; 26:1279-81.
 93. Rodriguez-Adrian LJ, Graziutti JR, Anaissie E. The potential role of cytokine therapy for fungal infections in patients with cancer: is recovery from neutropenia all that is needed? *Clin Infect Dis* 1998; 26:1270-8.
 94. Pettengelli R, Gurney H, Radford JA. Granulocyte colony stimulating factor to prevent dose-limiting neutropenia in non-Hodgkin's lymphoma: A randomized controlled trial. *Blood* 1992; 80:1430-6.
 95. Anaissie E, Vartivarian S, Bodey GP. Randomized comparison between antibiotics alone and antibiotics plus granulocyte macrophage colony-stimulating factor (*E. coli*-derived) in cancer patients with fever and neutropenia. *Am J Med* 1996; 100:17-23.
 96. Khan I, Kasper LH. IL-15 augments CD8⁺ T-cell mediated immunity against *Toxoplasma gondii* infection in mice. *J Immunol* 1996; 157:2103-8.
 97. Eggimann P, Francioli P, Bille J, et al. Fluconazole prophylaxis prevents intra-abdominal candidiasis in high risk surgical patients. *Crit Care Med* 1999; 27:1066-1072.
 98. Ayeni O, Rieder KM, Wilson FM, Khatib R. Clinicians' reactions to positive urine culture for *Candida* organisms. *Mycosis* 1999; 42:285-89.
 99. Rex JH, Bennett JE, Sugar et al. Intravascular catheter exchange and duration of candidemia. NIAID Mycoses Study Group and the Candidemia Study Group. *Clin Infect Dis* 1995; 21:994-6.
 100. Edwards JE, Body GP, Bowden RA et al. International conference for the development of a consensus on the management and prevention of severe candidal infections. *Clin Infect Dis* 1997; 25:43-9.
 101. British Society for Antimicrobial Chemotherapy Working Party. Management of deep *Candida* infection in surgical and intensive care unit patients. *Intensive Care Med* 1994; 20:522-528.
 102. British Society for Antimicrobial Chemotherapy Working Party. Therapy of deep fungal infection in hematological malignancy. *J Antimicrob Chemother* 1997; 40:779-788.
 103. Granigher W, Presteril E, Schneeweiss B, Teleky B, Georgopoulos A. Treatment of *Candida albicans* fungaemia with fluconazole. *J Infect* 1993; 23:133-146.
 104. Richardson MD, Warnock DW. Antifungal drugs. In: *Fungal Infection Diagnosis and Management*. 2nd Edn. Blackwell Science, Oxford, 1997; pp 21-58.
 105. Martino P, Girmenia C. Are we making progress in antifungal therapy? *Curr Opin Oncol* 1997; 9:314-320.
 106. Torfs K. Economic aspects of treatment for fungal infections in cancer patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 16:98-107.
 107. Dranitsaris G, Phillips P, Rotsstein C, et al. Economic analysis of fluconazole versus amphotericin B for the treatment of candidemia in non-neutropenic patients. *Pharmacoeconomics* 1998; 13:509-518.
 108. Pelz RK, Lipsett PA, Swoboda SM, Dienir-West M, Powe NR, Brower RG, Perl TM, Hammond JM, Hendrix CW. *Candida* infections: Outcome and attributable ICU costs in critically ill patients. *Intens Care Med* 2000; 15(5):255-61.
 109. Rocco TR, Reinert SE, Simms HH. Effects of fluconazole administration in critically ill patients. *Arch Surg* 2000; 135:160-5.
 110. Eandi M, Zara GP. Economic impact of resistance in the community. *Int J Clin Pract* 1998; 95:27-38.
 111. Alexander BD, Perfect JR. Antifungal resistance trends towards the year 2000. Implications for therapy and new approaches. *Drugs* 1997; 54:657-678.

Φυματίωση: Άμεσα επιτηρούμενη θεραπεία (DOTS: Directly observed therapy, short course)

Δ. Μπούρος¹,
Ε. Μιχελάκη²

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Για περισσότερα από 100 χρόνια χρησιμοποιείται το μικροσκόπιο για την ανίχνευση του μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης. Εδώ και 50 περίπου χρόνια έχουν ανακαλυφθεί και χρησιμοποιούνται αποτελεσματικά αντιφυματικά φάρμακα. Παρ' όλα αυτά σήμερα παρατηρείται σε όλο τον κόσμο μια ιδιαίτερα ανησυχητική ανάκαμψη της φυματίωσης. Αυτό το φαινόμενο είναι κοινό τόσο στις ανεπτυγμένες χώρες όσο και στις αναπτυσσόμενες, όπου μάλιστα σε μερικές απ' αυτές οι ρυθμοί της ενεργού φυματίωσης έχουν διπλασιαστεί. Εξίσου ανησυχητική είναι και η αύξηση του ρυθμού εμφάνισης της πολυανθεκτικής φυματίωσης (MDR-TB). Είναι εμφανές ότι το πρόβλημα αυτό δεν οφείλεται στην αδυναμία να διαγνωστούν και να θεραπευτούν οι ασθενείς με φυματίωση αλλά στην έλλειψη οργάνωσης των υπηρεσιών υγείας ώστε να επιτύχουν την αναγνώριση όλων των μολυσματικών ασθενών και να βεβαιώσουν την ολοκληρωμένη λήψη της κατάλληλης αντιφυματικής αγωγής. Παράγοντες που σχετίζονται με την αύξηση του ρυθμού εμφάνισης της φυματίωσης φαίνεται να είναι η λοίμωξη με HIV, η μετανάστευση από περιοχές που ενδημεί η φυματίωση και η αύξηση των αστέγων. Επίσης, σημαντικός παράγοντας είναι η αποτυχία ολοκλήρωσης της θεραπείας της φυματίωσης, που έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση των υποτροπών και τη συνεχιζόμενη μεταδοτικότητα.

Η μη συμμόρφωση των ασθενών με την αντιφυματική αγωγή και η πρόωγη διακοπή της φαίνεται να είναι από τα πιο σοβαρά προβλήματα που αφορούν στον έλεγχο της φυματίωσης. Πολλοί παράγοντες επηρεάζουν την ολοκλήρωση της φαρμακευτικής αγωγής. Αυτοί είναι: η πολυπλοκότητα και η μεγάλη διάρκεια της αγωγής, οι παρενέργειες των φαρμάκων, κοινωνικοί και πολιτισμικοί παράγοντες, κόστος και πρόσβαση στο σύστημα υγείας. Έχουν γίνει αρκετές προσπάθειες προκειμένου να υπερπηδηθούν τα παραπάνω προβλήματα, όπως π.χ. συντόμευση της διάρκειας της αγωγής, διακεκομμένη χορήγηση των φαρμάκων (δύο ή τρεις φορές την εβδομάδα), στενή παρακολούθηση των ασθενών για την εμφάνιση παρενεργειών, δωρεάν χορήγηση αντιφυματικών φαρμάκων και υπο-

¹Αναπληρωτής Καθηγητής Πνευμονολογίας Πανεπιστημίου Κρήτης, ²Πνευμονολόγος

Αλληλογραφία:

Πνευμονολογική Κλινική Πανεπιστημίου Κρήτης,
Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο, Ηράκλειο 71110
Τηλ. 0810- 392433, 392740, Fax: 0810-542650,
e-mail: bouros@med.uoc.gr

χρεωτική νοσηλεία. Αυξημένο ενδιαφέρον παρουσιάζει η εφαρμογή περισσότερο "επιθετικών" μεθόδων όπως η Άμεσα Επιτηρούμενη Θεραπεία (ΑΕΘ). Πρόκειται για μια αποδεδειγμένα λιγότερο δαπανηρή, περισσότερο αποτελεσματική μέθοδο, η οποία, χρησιμοποιώντας ένα συνδυασμό από τεχνικές και διοικητικές παρεμβάσεις, βοηθά στον έλεγχο της εξάπλωσης της φυματίωσης και στην πρόληψη των ανθεκτικών της μορφών.

ΟΡΙΣΜΟΣ - ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Άμεσα επιτηρούμενη θεραπεία, ΑΕΘ (Directly Observed Treatment, Short-course = DOTS), σημαίνει τη λήψη κάθε δόσης της αντιφυματικής αγωγής υπό την άμεση επίβλεψη κάποιου υγειονομικού φορέα, γιατρού, νοσηλεύτη ή άλλης ειδικότητας υγειονομικού προσωπικού.

Ως ιδέα κάνει την εμφάνισή της στο τέλος του προηγούμενου αιώνα σε περιοχές με μεγάλη συχνότητα εμφάνισης της φυματίωσης και με μεγάλη θνησιμότητα εξαιτίας της. Στη Ν. Υόρκη π.χ., το 1890 αναπτύχθηκε το πρώτο μοντέρνο πρόγραμμα για τον έλεγχο της φυματίωσης το οποίο περιελάμβανε εκτός από υποχρεωτική δήλωση των νέων περιστατικών TBC, δωρεάν εργαστηριακό έλεγχο, υποχρεωτική απομόνωση κάποιων ασθενών και κυρίως εντατική παρακολούθηση τους. Η επιτηρούμενη λήψη των αντιφυματικών φαρμάκων από τους ασθενείς άρχισε να εφαρμόζεται πριν 40 χρόνια. Από τότε μέχρι σήμερα, σε πολλά μέρη του κόσμου, έχουν αναπτυχθεί προγράμματα ΑΕΘ στα οποία η ΑΕΘ αποτελεί μία μόνο από τις πολλές παραμέτρους που χρησιμοποιούνται προκειμένου να επιτευχθεί μέγιστη συνεργασία με τους ασθενείς αυτούς και ολοκλήρωση της θεραπείας.

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) έχει εντάξει την ΑΕΘ στην προσπάθεια ελέγχου και καταπολέμησης της φυματίωσης. Εδώ και 5 περίπου χρόνια εφαρμόζεται από τον WHO μια ενιαία στρατηγική στην οποία η ΑΕΘ παίζει σημαντικό ρόλο. Η στρατηγική αυτή έχει εφαρμοστεί σε 102 χώρες με διάφορες τροποποιήσεις και προσαρμογές και συμβάλλει σημαντικά στον έλεγχο της φυματίωσης. Όμως, πολλά πρέπει να γίνουν ακόμα προκειμένου η ΑΕΘ να εξαπλωθεί σε όλο τον κόσμο.

ΔΟΜΗ ΤΗΣ ΑΕΘ ΑΠΟ ΤΗΝ ΑΠΟΨΗ ΤΟΥ WHO

Η ΑΕΘ είναι η πιο αποτελεσματική στρατηγική που εφαρμόζεται σήμερα για την αντιμετώπιση της επιδημίας της φυματίωσης. Η ΑΕΘ έχει 5 σημεία-κλειδιά:

1. Κρατική μέριμνα
2. Βελτιωμένο εργαστηριακό έλεγχο
3. Άμεσα επιτηρούμενη θεραπεία (ΑΕΘ) διάρκειας 6 ως 8 μηνών σε όλους τους ασθενείς με θετικά πτύελα
4. Δωρεάν αντιφυματικά φάρμακα
5. Ύπαρξη συστήματος καταγραφής και αξιολόγησης της θεραπείας.

Η κρατική μέριμνα είναι ουσιώδης για τα υπόλοιπα 4 σημεία της στρατηγικής. Μεταφράζεται αρχικά σε διαμόρφωση πολιτικής και στη συνέχεια σε οικονομική ενίσχυση, ανθρώπινο δυναμικό και χορηγία παροχών αναγκαίων για την καθιέρωση του ελέγχου της φυματίωσης σαν σημαντικό έργο των υπηρεσιών υγείας.

Ένα σημαντικό χαρακτηριστικό της ΑΕΘ είναι η βασική διευθυντική μονάδα, (καλύπτει ένα πληθυσμό 100.000-150.000), η οποία διαθέτει το προσωπικό και τους πόρους για τη διάγνωση, την έναρξη της αγωγής, την καταγραφή και την ανακοίνωση της προόδου της θεραπείας.

Άλλο σημαντικό χαρακτηριστικό είναι το σύστημα καταγραφής και επεξεργασίας των αποτελεσμάτων του προγράμματος που χρησιμοποιείται από τους φορείς υγείας με σκοπό τη συστηματική παρακολούθηση της προόδου των ασθενών και της λειτουργικότητας του προγράμματος. Τα στοιχεία που προκύπτουν από την καταγραφή αυτή μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτης της ποιότητας του συστήματος υγείας.

Από το 1993, που ο WHO αναγνώρισε την έξαρση της φυματίωσης ως παγκόσμιο μείζον πρόβλημα υγείας, άρχισε τη σταδιακή εφαρμογή της ΑΕΘ αρχίζοντας από τις χώρες με τα μεγαλύτερα ποσοστά σε φυματίωση. Ξεκίνησε η εφαρμογή της στρατηγικής του Dr Styblo με την υιοθέτηση της βασικής διευθυντικής μονάδας όπως περιγράφηκε παραπάνω και χρησιμοποίησε τα σύντομα θεραπευτικά σχήματα διάρκειας 6-8 μηνών (Short-course drug treatment) τα οποία είχαν αποδειχθεί πιο αποτελεσματικά. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο Dr Karel Styblo ήταν ο πρώτος που πρότεινε και εφάρμοσε στην Τανζανία το 1970 την ιδέα μιας βασικής διευθυντικής

μονάδας η οποία διέθετε το προσωπικό και τα κονδύλια που απαιτούνταν προκειμένου να εξασφαλιστεί η διάγνωση, η έναρξη και η παρακολούθηση της θεραπείας καθώς και η καταγραφή των στοιχείων σε ένα πληθυσμό 100.000-150.000 κατοίκων. Ο αριθμός των χωρών που χρησιμοποιούσαν ΑΕΘ αυξήθηκε από μόνο 10 το 1990 σε 102 το 1997. Το ποσοστό των ασθενών που θεραπεύονται με ΑΕΘ αυξήθηκε από λιγότερο από 1% το 1990 σε 16% το 1997.

Η ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΗ ΤΗΣ ΑΕΘ ΣΗΜΕΡΑ

Η ΑΕΘ χρησιμοποιεί την σύγχρονη τεχνολογία σε συνδυασμό με αποτελεσματικές διευθυντικές πρακτικές προκειμένου να εφαρμοστεί ευρέως μέσα από την πρωτοβάθμια φροντίδα υγείας. Οι τεχνικές, λειτουργικές και πολιτικές όψεις της ΑΕΘ συνεργάζονται προκειμένου να είναι εφαρμόσιμες και αποτελεσματικές σε μεγάλες ομάδες πληθυσμών (Πίνακας 1).

ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΑΕΘ ΜΕ ΆΛΛΕΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΕΛΕΓΧΟΥ ΤΗΣ ΦΥΜΑΤΙΩΣΗΣ

ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Μη ΑΕΘ

Βασίζεται σε αναξιόπιστες, συχνά ακριβές μεθόδους, όπως:

- Αλόγιστη χρήση ακτινογραφιών
- Συχνά συμπτωματική διάγνωση των ασθενών χωρίς εργαστηριακή επιβεβαίωση
- Απουσία συστηματικής αναζήτησης της νόσου σε ομάδες υψηλού κινδύνου

ΑΕΘ

Βασίζεται σε μια απλή, οικονομική και αξιόπιστη μέθοδο και συγκεκριμένα:

- Εξέταση τριών δειγμάτων πτυέλων
- Περιορισμένη χρήση ακτινογραφιών
- Αυστηρά περιορισμένη συμπτωματική διάγνωση.

ΚΑΤΗΓΟΡΙΟΠΟΙΗΣΗ ΑΣΘΕΝΩΝ ΓΙΑ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Μη ΑΕΘ

Συχνά πτωχή. Ως αποτέλεσμα, τα παρακάτω δεν καθορίζονται σαφώς:

- Σαφής νόσηση από φυματίωση

Πίνακας 1. Τεχνικές, λογιστικές, λειτουργικές και πολιτικές όψεις της ΑΕΘ

Τεχνικές

- Διάγνωση των νέων περιπτώσεων
- Τυποποιημένη βραχύχρονη θεραπεία
- ΑΕΘ τουλάχιστον για την αρχική φάση της θεραπείας
- Καταγραφή και αναφορά της προόδου της θεραπείας

Λογιστικές

- Παροχή ποιοτικών φαρμάκων στους ασθενείς
- Εργαστήρια για μικροσκοπική εξέταση των πτυέλων
- Επίβλεψη και εκπαίδευση του υγειονομικού προσωπικού

Λειτουργικές

- Ελαστικότητα στην εφαρμογή των τεχνικών θεμάτων

- Τύπος/έκταση της νόσου
- Μολυσματικότητα
- Κατηγορία θεραπείας.

ΑΕΘ

Αυστηρή, καθορίζοντας σαφώς τα παρακάτω:

- Τύπος (πνευμονική/εξωπνευμονική)
- SS+ ή SS-
- Κατηγορία θεραπείας: Πρώτη φορά ή επανάληψη (υποτροπή, διακοπή αγωγής, χρόνια αποτυχία).

ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Μη ΑΕΘ

- Εξατομικευμένη, συχνά ακατάλληλη ή ανεπαρκής για κάποιους ασθενείς
- Όχι άμεσα επιτηρούμενη θεραπεία και πτωχή συμμόρφωση ασθενών
- Συχνά περιορίζεται σε νοσοκομεία αστικών κέντρων με δύσκολη πρόσβαση
- Όχι δομημένη- χωρίς ελαστικότητα και προσαρμογή σε ειδικές ανάγκες των ασθενών

ΑΕΘ

- Τυποποιημένα σκευάσματα κατάλληλα για κάθε τύπο
- Άμεσα επιτηρούμενη θεραπεία από κατάλληλα εκπαιδευμένο προσωπικό, εκπαίδευση ασθενών
- Τα φάρμακα μπορούν να λαμβάνονται ημερησίως ή 3x/εβδομάδα
- Η θεραπεία μπορεί να χορηγείται σε κάποιο κέντρο υγείας, στο σπίτι του ασθενή ή σε κάποιο άλλο χώρο.

ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

Μη ΑΕΘ

- Ατομικές πληροφορίες είναι συνήθως διαθέσιμες, αλλά συχνά δεν χρησιμοποιούνται και δεν αναλύονται
- Συγκεντρωτικές πληροφορίες σπάνια είναι διαθέσιμες

ΑΕΘ

- Καταγραφή ατομικών πληροφοριών
- Πάντα διαθέσιμα συγκεντρωτικά στοιχεία, τα οποία βοηθούν στην αξιολόγηση της προόδου.

ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Μη ΑΕΘ

- Συνήθως δεν γίνεται ή είναι μη συστηματική
- Συχνά βασίζεται στην ακτινογραφία που είναι ακριβή μέθοδος
- Κύριος δείκτης είναι η συμμόρφωση του ασθενή
- Συνήθως δεν καταγράφονται τα σημεία που βρίσκονται οι ασθενείς και είναι αδύνατη η ανεύρεση και η επανεξέτασή τους

ΑΕΘ

- Συστηματική σε περιεχόμενο και σε καθορισμένα χρονικά διαστήματα
- Βασίζεται στη μικροσκοπική εξέταση των πτυέλων που είναι φτηνή μέθοδος
- Κύριος δείκτης είναι η έκβαση του ασθενή (ίαση/ολοκλήρωση θεραπείας)
- Καταγράφεται η διεύθυνση του ασθενή ώστε να είναι δυνατή η προσέγγιση και η επανεξέτασή του αν ο ίδιος δεν παρουσιαστεί.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Μη ΑΕΘ

- Μικρά ποσοστά επιτυχίας της αγωγής στις περισσότερες περιπτώσεις
- Αναξιόπιστες πληροφορίες για τα αποτελέσματα
- Μεγάλο κόστος
- Αυξημένος αριθμός χρόνιων μη ιάσιμων περιπτώσεων
- Αντοχή στα φάρμακα.

ΑΕΘ

- Υψηλός ρυθμός αρνητικοποίησης των πτυέλων στο τέλος της αρχικής φάσης της αγωγής

- Υψηλά ποσοστά ίασης
- Μείωση χρόνιων περιστατικών
- Πρόληψη αντοχής στα φάρμακα.

ΠΑΡΟΧΗ ΦΑΡΜΑΚΩΝ

Μη ΑΕΘ

- Συχνά ακανόνιστη, χωρίς σύστημα που να επιβεβαιώνει τη σωστή ποσότητα για όλους τους ασθενείς
- Αμφισβητήσιμη ποιότητα φαρμάκων σε πολλές περιπτώσεις

ΑΕΘ

- Κανονική, αξιόπιστη παροχή για όλους τους ασθενείς
- Απλή διαδικασία που προβλέπει τις ανάγκες για τον επόμενο χρόνο
- Καλύτερη ποιότητα φαρμάκων

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΙ ΕΛΕΓΧΟΣ

Μη ΑΕΘ

- Συχνά ανακριβή αποτελέσματα χωρίς να ακολουθούνται κανόνες ασφαλείας
- Μη τυποποιημένη εργασία με ποικίλλουσα ποιότητα αποτελεσμάτων

ΑΕΘ

Η εφαρμογή κατευθυντήριων γραμμών εξασφαλίζει:

- Συστηματική, τυποποιημένη πρακτική που εξασφαλίζει επαναλήψιμα και αξιόπιστα αποτελέσματα
- Ποιότητα ελέγχου
- Ασφάλεια
- Εκπαίδευση

ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΦΥΜΑΤΙΩΣΗΣ

Μη ΑΕΘ

Μπορεί να υπάρχει. Συνήθως αποτελείται από:

- Πληροφορίες για διάφορους ασθενείς
- Μη συστηματική καταγραφή πληροφοριών για τον τύπο της φυματίωσης, το αποτέλεσμα της θεραπείας και την πρόοδο του ασθενή

ΑΕΘ

Υπάρχει πάντα και επιτρέπει συστηματική ανάλυση. Περιλαμβάνει:

- Τα άτομα που αρχίζουν θεραπεία
- Ατομική πρόοδο για κάθε ασθενή
- Συστηματική παρακολούθηση σε τακτά χρονικά διαστήματα

ΚΡΑΤΙΚΗ ΜΕΡΙΜΝΑ

Μη ΑΕΘ

- Συνήθως απουσιάζει επειδή θεωρείται εκτός των ορίων των υπηρεσιών υγείας
- Η επικοινωνία βασίζεται κυρίως στους ασθενείς, αγνοώντας την πολιτική

ΑΕΘ

- Πολιτική ή οικονομική ενίσχυση είναι απαραίτητη
- Η συμπαράσταση και η κοινωνική κινητοποίηση θεωρείται βασική

ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΑΕΘ

Υπάρχουν τρεις φάσεις στην εφαρμογή της ΑΕΘ: η φάση εφαρμογής πιλοτικού σχεδίου, η φάση εξάπλωσης και η φάση διατήρησης. Οι διαφορετικές φάσεις εφαρμογής της ΑΕΘ απαιτούν διαφορετική έμφαση στις τεχνικές, λογιστικές και λειτουργικές όψεις της στρατηγικής. Το πιλοτικό στάδιο δίνει έμφαση στις τεχνικές και λειτουργικές όψεις. Το στάδιο εξάπλωσης δίνει έμφαση στη λογιστική όψη. Το στάδιο διατήρησης δίνει έμφαση και στις τρεις όψεις, και επιπλέον περιλαμβάνει και τη συνεχιζόμενη κρατική μέριμνα από τις εκάστοτε κυβερνήσεις.

ΑΕΘ ΣΤΙΣ ΧΩΡΕΣ ΜΕ ΧΑΜΗΛΗ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΤΗΣ ΦΥΜΑΤΙΩΣΗΣ

Οι πλέον βιομηχανοποιημένες χώρες μπορούν να διαθέσουν περισσότερο ανθρώπινο δυναμικό, τεχνική υποδομή και οικονομικούς πόρους για την υγεία απ' ό,τι οι αναπτυσσόμενες χώρες. Σ' αυτές τις χώρες, η συχνότητα εμφάνισης της TB είναι γενικά πολύ χαμηλότερη και ο ετήσιος κίνδυνος μόλυνσης του γενικού πληθυσμού είναι χαμηλός. Είναι όμως απαραίτητο να εξασφαλίζεται και πάλι ένα σύστημα ελέγχου της φυματίωσης σε όλα τα επίπεδα, προσαρμοσμένο στις εκάστοτε ανάγκες κάθε χώρας.

Σ' αυτές τις χώρες, η πλειονότητα των νέων περιπτώσεων TB τυπικά εμφανίζονται στους ηλικιωμένους, σε ομάδες υψηλού κινδύνου και σε νέους ενήλικες οι οποίοι έχουν μεταναστεύσει από χώρες όπου ενδημεί η TB. Σε μερικές χώρες το ποσοστό της TB στους μετανάστες ανέρχεται στο 50-70%. Στις χώρες αυτές, όπου υπάρχει

ήδη συγκεκριμένη πολιτική για τον έλεγχο της TB και λειτουργεί ικανοποιητικά, θα πρέπει να εφαρμόζονται κάποιες συμπληρωματικές παρεμβάσεις στο καθένα από τα 5 βασικά σημεία που έχει προτείνει ο WHO για την ΑΕΘ. Αυτά είναι αντίστοιχα:

1. Κρατική μέριμνα για τον έλεγχο της TB με σκοπό την εξάλειψη. Συγκεκριμένα, περιλαμβάνει:
 - Νομικό πλαίσιο που περιλαμβάνει νόμους για υποχρεωτική κοινοποίηση, συγκεντρωτική ανάλυση των αποτελεσμάτων της θεραπείας και φαρμακευτική πολιτική
 - Πολιτική για τον έλεγχο της TB που βασίζεται σε συμφωνία των τοπικών αρχών με τις αρμόδιες υπηρεσίες
 - Δημιουργία ενός ικανοποιητικού δικτύου για τον έλεγχο της TB που εξασφαλίζει τεχνική οργάνωση σε εθνικό επίπεδο και εκπαιδευμένο ανθρώπινο δυναμικό σε κατώτερα επίπεδα.
2. Στο γενικό πληθυσμό, ανίχνευση της TB στους συμπτωματικούς ασθενείς. Αυτή επιτυγχάνεται με:
 - Έλεγχο των ομάδων υψηλού κινδύνου.
 - Επιβεβαίωση της διάγνωσης με καλλιέργεια
 - Έλεγχο δραστηριότητας των φαρμάκων ειδικά σε περιπτώσεις ύποπτες για φαρμακευτική αντοχή.
 - Πρόληψη της εξάπλωσης περιορίζοντας την πηγή μόλυνσης και την επαφή
3. ΑΕΘ για περισσότερο από τους πρώτους δύο μήνες για τις ομάδες υψηλού κινδύνου και σε περιοχές με χαμηλούς ρυθμούς ίασης. Αυτή περιλαμβάνει:
 - Εξειδικευμένη θεραπεία για την ανθεκτική TB.
 - Χορήγηση χημειοπροφύλαξης σε αυτούς που μολύνθηκαν πρόσφατα και σε κάποιες ομάδες υψηλού κινδύνου (HIV+)
4. Ρύθμιση των αντιφυματικών φαρμάκων, χορήγηση των φαρμάκων δεύτερης γραμμής μόνο σε εξειδικευμένα κέντρα
5. Παρατήρηση που βασίζεται σε ένα ενιαίο σύστημα αναφοράς και συγκεκριμένα:
 - Καλλιέργεια και μικροσκοπική εξέταση πτυέλων για τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας της αγωγής
 - Αναγνώριση της αντοχής στα φάρμακα
 - Έγκυρη και ποιοτική καταγραφή των στοιχείων που προκύπτουν

ΣΥΝΗΘΗ ΑΙΤΙΑ ΑΠΟΤΥΧΙΑΣ ΤΗΣ ΑΕΘ

Παρά τις αλληλοσυγκρουόμενες κατά καιρούς απόψεις, φαίνεται ότι συνολικά, αν υπολογιστούν όλοι οι παράγοντες, η ΑΕΘ υπερέχει έναντι άλλων εφαρμοζόμενων μεθόδων για τον έλεγχο της φυματίωσης. Δεν είναι όμως σπάνιο φαινόμενο διάφορα προγράμματα ΑΕΘ ανά τον κόσμο να αποτυγχάνουν. Συνήθεις λόγοι για τους οποίους μπορεί να συμβαίνει αυτό είναι:

- Το πρόγραμμα να περιλαμβάνει μόνο επίβλεψη λήψης των φαρμάκων και όχι άλλου είδους παρεμβάσεις, όπως αυτές που περιγράφονται από τον WHO (κρατική μέριμνα, εργαστηριακό έλεγχο, δωρεάν φάρμακα, σύστημα αναφοράς και καταγραφής, άλλα κίνητρα όπως διευκόλυνση μετακίνησης των ασθενών, παροχή τροφής κ.λπ.)
- Μη εξοικείωση των φορέων υγείας με τους τρόπους χορήγησης της θεραπείας (short course, intermittent)
- Κακή διαπροσωπική σχέση μεταξύ γιατρού-ασθενή
- Ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των ασθενών στους οποίους απευθύνεται η ΑΕΘ όπως χαμηλό κοινωνικοοικονομικό status, ασθενείς άστεγοι ή αλκοολικοί. Αυτοί έχουν αυξημένη πιθανότητα μη συμμόρφωσης και αποτυχίας της έκβασης του προγράμματος.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Φαίνεται ότι η ΑΕΘ είναι ο μόνος τρόπος θεραπείας η οποία μακροπρόθεσμα εξασφαλίζει καλύτερη συμμόρφωση των ασθενών, ολοκλήρωση της θεραπείας με αρνητικοποίηση των πτυέλων, πρόληψη εμφάνισης της πολυανθεκτικής φυματίωσης, έγκαιρη ανίχνευση και αντιμετώπιση των παρενεργειών από τα φάρμακα, και όλα αυτά με πολύ μικρότερο κόστος αν προηγηθεί ένας σωστός σχεδιασμός από τις υπηρεσίες υγείας. Μελέτες σε διάφορες πόλεις όπου έχει εφαρμοστεί καθολικά η ΑΕΘ, όπως η Ν. Υόρκη και η Βαλτιμόρη, το αποδεικνύουν. Παρ' όλα, αυτά σήμερα οι περισσότεροι ασθενείς με φυματίωση σε όλο τον κόσμο δεν λαμβάνουν ΑΕΘ.

Όμως η ΑΕΘ δεν είναι πανάκεια. Στις περιπτώσεις που έχει εφαρμοστεί και έχει πετύχει αυτό οφείλεται:

- 1) Στο γεγονός ότι η ΑΕΘ είναι μόνον ένα σκέλος από ένα ολοκληρωμένο πρόγραμμα ελέγχου της TB, το οποίο να είναι ευέλικτο, άρτια σχεδιασμένο, με ικα-

νό οικονομικό προϋπολογισμό που να εξασφαλίζει στους ασθενείς εύκολη πρόσβαση για εργαστηριακό έλεγχο, δωρεάν χορήγηση των κατάλληλων φαρμάκων και συστηματική παρακολούθηση και καταγραφή της έκβασης του προγράμματος σε όλα τα επίπεδα.

- 2) Στο δεσμό που αναπτύσσεται μεταξύ του ασθενή και του φορέα υγείας. Αυτό προϋποθέτει ότι ο ασθενής είναι το κύριο μέλημα σ' αυτή την περίπτωση και ότι το πρόγραμμα περιστρέφεται γύρω απ' αυτόν. Πρέπει να προσαρμόζεται στις ιδιαιτερότητες του και να του παρέχει την ΑΕΘ στο σπίτι, τη δουλειά ή σε άλλο χώρο που επιθυμεί ο ίδιος, με σεβασμό, ανοχή και τήρηση του ιατρικού απόρρητου. Επίσης από την πλευρά του ιατρικού προσωπικού προϋποθέτει αφενός εξοικείωση με τα φάρμακα και τον τρόπο χορήγησής τους (short course ή intermittent) και αφετέρου παροχή κινήτρων που να διασφαλίζουν τη διαπροσωπική σχέση γιατρού-ασθενή. Αυτό μπορεί να απαιτεί ενασχόληση του φορέα υγείας πέραν του καθορισμένου ωραρίου εργασίας, επιπλέον επισκέψεις προκειμένου να εντοπιστεί και να συνετιστεί ένας μη συνεργάσιμος ασθενής. Επίσης ο φορέας υγείας θα πρέπει να είναι εκπαιδευμένος να αντιμετωπίσει δύσκολες καταστάσεις όπως επιθετικότητα, σωματική βία ή απροθυμία για συνεργασία. Σ' αυτό το σημείο αξίζει να τονιστεί ότι ο φορέας υγείας δεν είναι κατ' ανάγκη ιατρός. Πρόκειται συνήθως για νοσηλεύτη ή επισκέπτη υγείας, αλλά σε αρκετές περιπτώσεις δεν πρόκειται καν για ιατρικό ή παραϊατρικό προσωπικό αλλά για άτομα τα οποία μέσω διαφόρων φορέων και οργανώσεων έχουν εκπαιδευτεί κατάλληλα ώστε να ασκήσουν το σημαντικότερο ρόλο στα προγράμματα ΑΕΘ.

Θα πρέπει επίσης το πρόγραμμα που εφαρμόζεται να διαθέτει απλούς, σαφώς καθοριζόμενους δείκτες που θα ορίζουν την κακή συνεργασία του ασθενούς και θα προβλέπουν εναλλακτικούς τρόπους αντιμετώπισης των ασθενών αυτών πρίν καταλήξουν σε αποτυχία της θεραπείας, καταστούν πολυανθεκτικοί και γίνουν μεταδοτικοί για το στενό τους περιβάλλον (π.χ. υποχρεωτικός εγκλεισμός σε νοσηλευτικό ίδρυμα). Σε διάφορες μελέτες έχει περιγραφεί μέχρι και επιβολή νομικών κυρώσεων σε τέτοιους ασθενείς.

Τέλος, καθοριστική σημασία για τον επιτυχημένο

έλεγχο της φυματίωσης είναι και η ένταξη προγραμματιζόμενων πρόληψης στο σχεδιασμό των υπηρεσιών υγείας. Είναι απαραίτητη η βελτίωση των εμβολίων ώστε να παρέχουν πρόληψη για την μόλυνση και τη νόσηση. Θα πρέπει να εξαπλωθεί η χορήγηση χημειοπροφύλαξης σε ορισμένες ομάδες του πληθυσμού με αυξημένο κίνδυνο να αποκτήσουν ενεργό TB μετά από μόλυνση με το μυκοβακτηρίδιο. Σημαντική είναι και η εμπλοκή και συνεργασία μη κυβερνητικών οργανώσεων στην ενασχόληση με τον έλεγχο της TB. Για παράδειγμα, θρησκευτικές οργανώσεις, κοινωνικές ομάδες, ομάδες υποστήριξης ασθενών με χρόνια προβλήματα (HIV+, αλκοολικοί, νεφροπαθείς) μπορούν να εκπαιδευθούν και να συμμετέχουν στα προγράμματα ΑΕΘ, να επιτηρούν τη λήψη των αντιφυματικών φαρμάκων και να παρέχουν ψυχοκοινωνική υποστήριξη.

Όσον αφορά την Ελλάδα, δεν υπάρχει σχετική βιβλιογραφία, και παρά το γεγονός ότι τα ποσοστά επιτυχίας στη θεραπεία είναι ικανοποιητικά, θα είχε νόημα η εφαρμογή της ΑΕΘ σε περιπτώσεις ασθενών με κακή συνεργασία για τη λήψη της αγωγής τους, ή απευθείας σε συγκεκριμένες ομάδες υψηλού κινδύνου (φυλακές, τοξικομανείς, μετανάστες κ.λπ.).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Bumam WJ et al. A Cost-effectiveness Analysis of Directly Observed Treatment vs Self-administered Therapy for treatment of Tuberculosis. *Chest* 1997; 112:63-70.
2. Ormerod LP Directly observed therapy (DOT) for tuberculosis: why, when how and if? *Thorax* 1999; 54(Suppl 2):S42-S45.
3. Davidson BL. A Controlled Comparison of Directly Observed Therapy vs Self-administered Therapy for Active Tuberculosis in the Urban United States. *Chest* 1998; 114:1239-1243.
4. Volmink J et al. Directly observed therapy and treatment adherence. *Lancet* 2000;355:1345-1350.
5. Chaulk CP et al. Eleven Years of Community-Based Directly Observed Therapy for Tuberculosis. *JAMA* 1995;274:945-51.
6. Bumam WJ et al. Noncompliance with Directly Observed Therapy for Tuberculosis. *Chest* 1997; 111:1168-73.
7. What is DOTS? A guide to Understanding the WHO-recommended TB Control Strategy Known as DOTS. WORLD HEALTH ORGANISATION. 1999.
8. Directly Observed Therapy in New York City. The Baltimore City Health Department Program of Directly Observed Therapy for Tuberculosis. Universal Directly Observed Therapy Clinics in Chest Medicine. Volume 18. Number 1. March 1997.
9. Chaulk CP, Kazanijian VA, for the Public Health Tuberculosis Guidelines Panel. Directly observed therapy for treatment completion of pulmonary tuberculosis: consensus statement of the public health tuberculosis guidelines panel. *JAMA* 1998;279:943-948.
10. Volmink J, Gamer P. Directly observed therapy. *Lancet*; 349:1399-400.
11. Core Curriculum on Tuberculosis. What the Clinician Should Know. Fourth Edition 2000. Centers for Disease Control and Prevention.
12. Global Tuberculosis Programme. TB control strategy. DOTS. WHO, 1997: Report WHO/TB/97.220.

The conditioning of the gases in mechanically ventilated patients

¹D. Chiumello,

²P. Pelosi,

³A. Candiani,

¹N. Bottino,

²M. Aspesi,

²P. Severgnini,

¹L. Gattinoni

¹Istituto di Anestesia e Rianimazione, Università degli Studi di Milano, Ospedale Maggiore Policlinico-IRCCS, Milano, Italy; ²Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche, Università degli Studi dell'Insubria, Varese, Italy; ³Cattedra di Anestesia e Rianimazione, Università degli studi di Brescia, Spedali Civili, Brescia, Italy

INTRODUCTION

When the nose and the upper airways are bypassed due to a tracheostomy or endotracheal tube, the normal function of heating and humidifying of the inspired gases is altered. Therefore in these situations a correct heating and humidification of inspired gases is mandatory. The goal of any heating and humidification system is to provide inspired gases with a water content similar to that usually provided by the nose or the upper airways.

PHYSICAL BACKGROUND

The water present as vapor in a gas mixture is defined humidity. The maximal amount of water vapor that can be held by a gas mixture directly depends on the temperature of the gas¹. When a gas mixture holds all the water vapor that is capable to, is defined as "saturated".

AH is the mass of water vapor held in a given volume of gas at a particular temperature (mg/L or g/m³) (i.e., at 100% of RH for 32°C, AH is 36 mg/L while for 37°C AH is 44 mg/L).

RH is the ratio between the actual amount of water vapor and the maximal capacity of water vapor for the same temperature (i.e., at 32°C with 50% of RH, AH is 18 mg/L).

PHYSIOLOGICAL BACKGROUND

Not intubated patients breathing ambient air

The standard ambient air has a temperature of 22°C, with RH of 50% and AH of 10 mg/L while the alveolar air usually has a temperature of 37°C, with RH of 100% and AH of 44 mg/L. During inspiration the gases are progressively heated and humidified along the nose and the upper airways, until they are fully saturated at the body temperature. In table 1 the different values of temperature, RH and AH of the inspired and expired gases in not intubated patients breathing ambient air are presented.

Address correspondence to:

Dott. Davide Chiumello, Istituto di Anestesia e Rianimazione, Ospedale Maggiore Policlinico-IRCCS, via Francesco Sforza 35, 20122 Milano, Italy, Phone: +39-02-55033232/3231, Fax: +39-02-55033230, E-mail: chiumello@libero.it

The point of the airways at which the inspired gases reach the body temperature (i.e., 37°C) and 100% of RH is called the Isothermic Saturation Boundary (ISB)¹. Normally the ISB is 5-6 cm below the carina and after this point the inspired gases do not further change temperature and humidity.

The position of the ISB can change according to the volume, temperature and AH of the inspired gases². The ISB never reaches the bronchioles or alveoli in physiological conditions³. However during severe hyperventilation in extreme cold and dry conditions the ISB can shift towards alveoli⁴.

The difference between the alveolar and ambient air water content is called the humidity deficit¹. Usually the humidity deficit above the carina (i.e., carina AH minus airway opening AH) is around 27 mg/L while the humidity deficit below the carina (i.e., alveoli AH minus carina AH) is around 7 mg/L. This suggests that the majority of humidification during inspiration is provided by the upper airways.

During expiration, the gases leaving the alveoli are cooled and lose heat and humidity until they reach a temperature of around 33°C, maintaining 100% of RH (i.e., AH of 37 mg/L).

Intubated patients breathing medical gases

Contrary to common knowledge, the inspired medical gases are not cold and fully dry. In fact we have evidence that the temperature of the medical gases delivered by mechanical ventilation are usually around 20-25°C. However the AH ranges between 3 and 10 mg/L and inversely depends on the inspired oxygen concen-

tration (FIO₂) (i.e., for FIO₂ of 21% AH is 5.2±1.2 mg/L, for FIO₂ of 50% AH is 4.1±0.9 mg/L and for FIO₂ of 100% AH is 3.6±0.6 mg/L) and thus the real problem with the medical gases is not the temperature but the poor content of moisture, strongly dependent on the FIO₂ used⁴.

In the intubated patients breathing not conditioned medical gases, similar levels of temperature, compared to physiological conditions, are present at the carina but with a marked reduction in RH (table 2). This is due to the fact that the endotracheal tube allows the heat exchange but is not able to provide more than 3-4 mg/L of AH as previously condensed during the expiratory phase.

In this condition the ISB is markedly shifted towards the alveoli. In fact, in intubated patients, there is a reversal in the humidity deficit compared to not intubated patients. The upper carina humidity (i.e., endotracheal tube plus lower trachea) deficit is around 5 mg/L while the lower carina humidity deficit is around 34 mg/L. This suggests that the majority of humidification during inspiration is provided by the lower airways, which are not physiologically appropriate to condition the gases.

Thus, the most important problem in intubated patients breathing not conditioned medical gases is not the heat and water losses, but on the contrary, the shift of ISB towards anatomical zone not specified to condition the inspired gases.

INADEQUATE CONDITIONING

Heat loss

The heat loss from the upper airways is due to the

Table 1. Values of temperature, relative humidity and absolute humidity of the inspired (I) and expired gases (E) at the different anatomic points in not intubated patients breathing ambient air

Site	Temperature °C		Relative humidity (%)		Absolute humidity (mg/L)	
	I	E	I	E	I	E
Airway opening	22	33	50	100	10	37
Pharynx	30	34	90	100	30	40
Upper trachea	33	35	92	100	36	41
Lower trachea (carina)	35	37	95	100	37	44
Alveoli	37	37	100	100	44	44

Table 2. Values of temperature, relative humidity and absolute humidity of the inspired (I) and expired gases (E) at the different anatomic points in not intubated patients breathing medical gases

Site	Temperature °C		Relative humidity (%)		Absolute humidity (mg/L)	
	I	E	I	E	I	E
Airway opening	22	33	24	100	5	37
End of endotracheal tube	34	36	26	100	9	42
Lower trachea (carina)	35	37	30	100	10	44
Alveoli	37	37	100	100	44	44

increase of temperature and humidity of the inspired gases passing through the airways. The air has a low specific heat (1998 J/Kg) compared to the heat of vaporization for water (2450 J/Kg), so most of the heat lost from the upper airways is used to humidify the inspired gases⁵. This heat loss may decrease the body temperature. So in all the situations in which there is an impairment of the body thermoregulation, such as prolonged surgery^{6,7} or in critically ill patients⁸, an adequate conditioning is strictly necessary to avoid further heat loss.

Moisture loss

The moisture loss, beside causing a substantial loss of water from the airways⁹, causes a dehydration of the nasal and the tracheobronchial mucosa¹⁰. The tracheobronchial mucosa is more sensitive than the nasal mucosa to dehydration and just 10 minutes of ventilation with dry gases, are sufficient to damage the cilia function⁹. The most important damages are the impairment and destruction of the mucociliary activity¹¹, the reduction of mucous production with an increase in viscosity¹² and a difficulty to cough or to expectorate¹³.

EXCESSIVE CONDITIONING

Heat gain

Besides heat gain due to higher inspired gas temperature compared to body temperature, side effects such as thermal injury¹⁴ or airway burns can develop¹⁵. It has been shown that thermal injury develops when the tracheal temperature is above 40°C¹⁶. So it is suggested to always deliver gases at a temperature less than 40°C¹⁷.

Moisture gain

Breathing overhumidified gases will cause a water deposition in the airways and can induce cellular damage⁵. Furthermore this water deposition may mechanically obstruct the small airways leading to alveolar collapse¹⁶ and inactivate the pulmonary surfactant leading to further alveolar collapse¹⁸.

OPTIMAL CONDITIONING

In order to correct the humidity deficit and to avoid the risk of an inadequate or excessive conditioning, the

heat and humidity of any gas delivered to a patient should have the same inspiratory characteristics occurring, physiologically, at the level of entry into the respiratory system¹⁷.

There are different humidification standards for not intubated and intubated patients breathing medical gases. In not intubated patients a minimum level of AH of 10 mg/L has been suggested¹⁹, while a minimum of 30¹⁹ to 33 mg/L²⁰ of AH has been proposed for intubated patients.

In order to choose the adequate conditioning of the inspired gases we reasoned following the physiological data of the inspiratory and expiratory phase (tables 1, 2). As shown before, in the intubated patients the AH delivered by the tube itself is around 3-4 mg/L and the remaining part of the trachea up to the carina can deliver another 1 mg/L. Thus the AH delivered by the endotracheal tube and the lower trachea up to the carina, is around 5 mg/L. In order to reach the physiological AH of 37 mg/L at the carina (table 1), around 32 mg/L of H₂O should be reached at the tip of the tube (27 mg/L directly by water of humidifier and 5 mg/L by the medical gases). This means that a mixture of gases with a temperature of 31-32°C with an RH of 100% (i.e., AH of around 32 mg/L) should be given at the tip of the tube. The amount of water actually given by the humidifier inversely depends on the AH of the medical gases (i.e., if the medical gases have AH of 3 mg/L the humidifier will provide 29 mg/L while if the medical gases have AH of 10 mg/L the humidifier will provide 22 mg/L).

Since the catheter mount causes a drop in gas temperature, namely between 1-2°C, the temperature at the Y piece of the ventilator circuit should be around 33-34°C with an RH of 100%. Using this setting (endotracheal tube plus the humidifier) the AH that we give to the patient (i.e., 37 mg/L) is comparable to the amount of AH expired (i.e., 37 mg/L).

In our opinion, heating and humidifying the inspired gas to 37°C and 100% of RH (AH 44 mg/L), as recently proposed²¹, is absolutely uncorrect and possibly dangerous, because in this way an amount of AH greater than the real needs is provided, leading to a fluid overload in the airways of about 70-100 ml per day, which could cause epithelial or alveolar damage or bronchial irritation^{16,17}.

HUMIDIFIERS EQUIPMENT

The ideal humidifier should enclose the properties listed in table 3.

Heat and moisture exchangers

The passive humidifiers include the heat and moisture exchanger (HME) and the HME plus an antimicrobial filter (HMEF)¹.

The heat and moisture exchangers (HME-HMEF) collect the heat and moisture of the expired gases "passively", and heat and humidify the inspired gases during the successive inspiration.

Several factors may influence the gas conditioning performance of HME-HMEF during mechanical ventilation, namely: 1) type of HME-HMEF (hydrophobic or hygroscopic-hydrophobic), 2) patient temperature and ambient temperature, 3) ventilatory settings (very high or very low tidal volume, minute ventilation and inspiratory flow).

Type of HME

The initials models of HME were purely "hydrophobic" filters, water retention being only a physical phenomenon. The expired gases pass through a cool exchanger, which provokes a condensation on the HME surface. This happens because a gradient of temperature is created between the two sides of the device, determined by the temperature of the expired gases and the ambient temperature.

The effectiveness of this type of HME is quite good in heating the inspired gases but it does not provide optimal humidification (AH between 22-25 mg/L)^{22,23}.

So a new version of "hygroscopic-hydrophobic" HME was developed in which a hygroscopic unit actively binds the water molecules present in the expired gases, thus

increasing the water content of the inspired gases and ameliorating the humidity added to the inspired gases²⁴.

Many studies evaluated the performance of HME in critically ill patients. The initial studies using hydrophobic HMEs, reported an increase in tracheal tube occlusions^{25,26}. Subsequently several studies showed no significant differences in tube occlusions between HME and conventional humidifier when hygroscopic-hydrophobic HME was used^{22,23,27,28}.

Temperature

Since HME functions due to a gradient of temperature, any gradient variation (i.e. patient or ambient) will increase or decrease its performance^{26,29}.

Ventilatory setting

Many studies clearly showed that the hygroscopic-hydrophobic HME provided better humidification compared to hydrophobic HME^{22,23,27,28}. Moreover, several studies demonstrated that the hygroscopic-hydrophobic HMEs maintained adequately humidifying capacities at high tidal volume and minute ventilation also (up to 10 L/m)^{25,30}. On the contrary, hydrophobic HMEs markedly decrease their performance at high minute ventilation.

HME and respiratory mechanics

Since the HME is placed between the Y piece of the ventilator circuit and the endotracheal tube or tracheostomy, it can affect the airflow resistance³¹ and increase the dead space³². The airflow resistances can increase with the clinical use³¹, especially in the presence of copious amount of secretions³³ although dynamic hyperinflation does not develop³⁴. The additional dead space (i.e., range 50-100 ml) can eventually increase the minute ventilation³² and the respiratory work³⁵.

The use of an HME, by increasing the inspiratory work, could affect the outcome of weaning trials in weak patients³⁶. However it is possible to reduce the added respiratory work by the HME by simply increasing the level of mechanical assistance³⁵.

HME and antimicrobial activity

HME's having a bacterial barrier effect (efficiency > 99.99%) keep the ventilator circuit clean and free of condensate, thus reducing the incidence of ventilator

Table 3. Properties of an ideal humidifier

Adequate levels of humidification
Maintenance of body temperature
Microbiological safety
Low resistance
Low dead space
Economy
Easiness to use

circuit colonization³⁷. However, HMEs do not reduce tracheal colonization and ventilator associated pneumonia³⁷⁻³⁹.

The manufactures recommend that HME should be changed every 24h, although many studies showed that the hygroscopic-hydrophobic HME could be changed every 48 h, without any adverse mechanical or microbiological effects^{40,41}. Moreover, a recent study demonstrated that the same HME could be safely used for 7 continuous days of mechanical ventilation in all ICU patients with the exception of those suffering from COPD⁴².

Hot humidifiers

Hot high flow humidifiers (HH) are able to condition the inspired gases with RH of 100% at temperatures similar to body temperature by heating a water bath¹. The temperature set on the HH falls along the ventilator circuit and the AH reaching the patient's airway will be lower than expected, meaning that a temperature probe at the Y piece is essential. The thermistor has a slow response and reflects the mean temperature of the inspired gases, meaning that, during mechanical ventilation, the temperature of the inspired gases reaching the patient, fluctuates around the preselected value.

At present, the commercially available HH are the passover, cascade, wick and vapor phase humidifiers⁴³. The simpler HH is the passover, in which the inspired gases pass over a heated water bath. The cascade is a "bubble humidifier", in which the inspired gases pass beneath the surface of the water reservoir and bubble upward through a grid. The wick is similar to the cascade humidifier, but the inspired gases pass through a cylinder that is lined with a wick of blotter paper. The base of the wick is inserted in the water and the moisture heated wick increases the RH of the inspired gases. With the

vapor phase humidifier the water is heated and the water vapor penetrates through a hydrophobic filter to humidify the inspired gases.

With all these devices it is very important to have a stable and adequate level of the water in the reservoir, to minimize the compressible gas volume and to avoid the temperature fluctuations. To overcome these problems and also to reduce the risk of contamination the new HH have a closed system that maintains stable the level of water in the reservoir.

It is important to remind that during the continuous flow CPAP, since a bias flow rate up to 100 L/m is used, the time of contact between the inspired dry gases and the humidifying elements is reduced and an adequate level of conditioning can be difficult to be reached⁴⁴.

Due to the higher temperature of gases leaving the HH, when passing through the ventilator circuit, condensation will occur. This condensate in the circuit can be a reservoir of nosocomial infection³⁷.

NEW DEVICES FOR CONDITIONING THE INSPIRED GASES

Both HME and HH have advantages and disadvantages (table 4).

Recently new solutions were developed in order to produce new humidifiers able to combine the advantages of HME and HH and avoid their disadvantages. In other words the goals were: 1) to limit the water air contact, 2) to avoid condensation in the ventilator circuit, 3) to reduce the cost.

The possible commercially available solutions are a new cartridge with a new air water interface (Dar HC 2000), the heated ventilator circuit and the passive-active humidifier.

Table 4. Comparison between hot humidifiers (HH) and heat and moisture exchangers (HME-HMEF)

	HH	HME-HMEF
Performance	Good	Reduced in low body temperature, low ambient temperature and high minute ventilation
Microbiological safety	Circuit contamination Reservoir contamination	No circuit contamination Microbiological filtration
Respiratory mechanisms	Effects limited	Increased in airflow resistance and dead space
Cost	High	Low

Dar HC 2000

This system is an active humidifier, different from HH humidifier since the inspired gases are conditioned by using the water vaporization principle instead of passing over a heated water bath. A hydrophobic Gore-Tex membrane is the interface between the water and the vapor dividing the cartridge in two spaces. In the inner space the inspired gas flows while in the outlet one there is the water bath. The main advantages of this system are the absence of a direct contact between water and air, likely reducing contamination and the reduction in gas compressible volume which makes this system very reliable in pediatric settings. The main disadvantages are that the efficiency can be reduced, especially when high minute volume (greater than 15 L/m) are delivered as well as the relatively high cost.

Heated-ventilator circuit

To prevent the condensation and to give a more stable conditioning, a heated ventilator circuit (HC) has been developed⁴⁵. There are two available heating ventilator circuits. The first heats by using an internal resistance in direct contact with the inspired gases. The second heats the inspired gases by a wire inserted inside the wall of the ventilator circuit without any direct contact with the inspired gases. Both systems seem not particularly affected by the ventilatory settings. However, if the gases passing through the HC are overheated, i.e., above the temperature of the gases leaving the HH, the RH is reduced and secretions in the endotracheal tube and in the airways can be dried causing dangerous obstruction.

New passive-active humidifier

The most effective passive system can, at maximum, deliver to the patients 80-85% of the expired humidity and heat. Recently a new passive-active humidifier has been proposed (Humid-Heat Gibeck, HME-BOOSTER Tomtec). It consists of a conventional HME with an additional heating element and water supply. Thus it combines the efficiency of a HH with the simplicity of a HME⁴⁶. The possible advantages are the stability of gases conditioning independently from patient temperature, ambient temperature and ventilatory setting, the absence of condensation and thus the possible decrease of ventilator associated pneumonia. The possible disadvantages

are the fixed inspiratory temperature at 37°C and 100 RH (Humid-Heat) or the restricted amount of water supply between 2-5 ml per hour (HME-BOOSTER).

The development of a new passive-active humidifier is in progress (Performer StarMed). It consists of a HME containing a heating element and the possibility of an additional water supply. Using this system it is possible to modify the temperature of the heating element and the water supply in order to obtain an adequate conditioning of the inspired gases in any condition (patient, ambient, ventilatory setting).

CONCLUSION

In our opinion an adequate gas conditioning is mandatory in the clinical management of mechanically ventilated patients. Nowadays, different humidifiers are commercially available with different advantages and disadvantages. A thorough knowledge of the basic physiological principles, regulating the heat and moisture exchange, is required in order to choose the appropriate humidifier system for each individual patient and clinical environment.

REFERENCES

1. Shelly MP, Lloyd GM, Park GR. A review of the mechanisms and methods of humidification of inspired gases. *Intensive Care Med* 1998, (14): 1-9.
2. Dery R, Pelletier J, Jacques A, Clovet M, Houde JJ. Humidity in anesthesiology III: Heat and moisture patterns in the respiratory procedure during anesthesia with semiclosed system. *Can Anaes Soc J* 1967, 14: 287-298.
3. Dery R. Humidity in anaesthesiology. Part IV: Determination of the alveolar humidity and temperature in the dog. *Can Anaest Soc J* 1971, 18: 145-151.
4. Primiano FP, Moranz ME, Montague FW, Miller RB, Sachs DPL. Conditioning of inspired air by a hyroscopic condenser humidifier. *Crit Care Med* 1984, 8: 675-678.
5. Graff TD, Benson DW. Systemic and pulmonary changes with inhaled humid atmospheres. *Anesthesiology*, 1968, 30: 199-207.
6. Bissonnette B, Sessler DI, LaFlamme P. Intraoperative temperature monitoring sites in infants and children and the effect of inspired gas warming on esophageal temperature. *Anesth Anal* 1989, 69: 192-196.

7. Stone DR, Downs JB, Paul WL, Perkins HM. Adult body temperature and heated humidification of anesthetic gases during general anesthesia. *Anesth Analg* 1981, 60: 736-741.
8. Gentilello LM, Pierson DJ. Trauma critical care. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, 163: 604-607.
9. Marfatia S, Donahue PK, Hendren WH. Effect of dry and humidified gases on the respiratory epithelium in rabbits. *J Paed Surg* 1975, 10: 583-592.
10. Fonkalsrud EW, Calmes S, Barciff LT, Borret CT. Reduction of operative heat loss and pulmonary secretions in neonates by use of heated and humidified anesthetic gases. *J Thoracic Cardiovasc Surg* 1980, 80: 718-723.
11. Kleeman PP. Humidity of anaesthetic gases with respect to low flow anesthesia. *Anaesth Intensive Care* 1994, 22: 396-408.
12. Sleight MA, Blake JR, Liron N. State of the art: the propulsion of mucus by cilia. *Am Rev Respir Dis* 1988, 137: 726-741.
13. Gawley TH, Dundee W. Attempts to reduce respiratory complications following upper abdominal operations. *Br J Anaesth* 1981, 53: 1073-1077.
14. Williams RB. The effects of excessive humidity. *Respir Care Clin N Am* 1998, 2: 215-228.
15. Klein EF, Groves SA. A "hot pot" tracheitis. *Chest* 1974, 65: 225-226.
16. Tsuda T, Noguchi H, Takumi Y, Aochi O. Optimum humidification of air administered to a tracheostomy in dogs. Scanning electron microscopy and surfactant studies. *Br J Anaesth* 1977, 49: 965-977.
17. Chatburn RRT, Primiano FP. A rational basis for humidity therapy. *Respiratory Care* 1987, (4): 249-254.
18. Johnson JW, Permutt S, Sipple JH, Salem ES. Effect of intra-alveolar fluid on pulmonary surface tension properties. *J Appl Physiol* 1963, 19:769-785.
19. American national standard for humidifiers and nebulizers for medical use. *ANSI Z79*: 9-1979.
20. British standards institution. Specifications for humidifiers for use with breathing machines *BS 4494*-1970.
21. Kanute PR, Youtsey JW. *Respiratory patient care*. Englewood cliffs, Prentice Hall 1981, pp 46-60.
22. Martin C, Papazian L, Perrin G, Bantz P, Gouin F. Performance evaluation of three vaporizing humidifiers and two heat and moisture exchangers in patients with minute ventilation > 10 L/min. *Chest* 1992, 102: 1347-1350.
23. Unal N, Kanhai JKK, Buijk SLCE et al. A novel method of evaluation of three heat-moisture exchangers in six different ventilator settings. *Intensive Care Med* 1988, 1988, 24: 138-146.
24. Stoutenbeek CH, Miranda D, Zandstra D. A new hygroscopic condenser humidifier. *Intensive Care Med* 1982, 8: 231-234.
25. Cohen IL, Weinberg PF, Fein A, Rowinski GS. Endotracheal tube occlusion associated with the use of heat and moisture exchangers in the intensive care unit. *Crit Care Med* 1988, (3): 277-279.
26. Roustan JP, Kienlen J, Aubas P, Aubas S, Cailar J. Comparison of hydrophobic heat and moisture exchangers with heated humidifier during prolonged mechanical ventilation. *Intensive Care Med* 1992, 18: 97-100.
27. Martin C, Thomachot L, Quinio B, Viviani X, Albanese J. Comparing two heat and moisture exchangers with one vaporizing humidifier in patients with minute ventilation greater than 10 L/min. *Chest* 1995, 107: 1411-1415.
28. Jackson C, Webb AR. An evaluation of the heat and moisture exchange performance of four ventilator circuit filters. *Intensive Care Med* 1992, 18: 264-268.
29. Pelosi P, Croci M, Solca M. Use of heat and moisture exchangers in mechanically ventilated patients. In *Yearbook of Intensive Care and Emergency Medicine*, Heidelberg, Springer-Verlag, 1994, pp 545-553.
30. Mebius C. A comparative evaluation of disposable humidifiers. *Acta Anesthesiol Scand* 1983, 27: 403-409.
31. Chiaranda M, Verona L, Pinamonti O, Dominioni L, Minoja G, Conti G. Use of heat and moisture (HME) filters in mechanically ventilated ICU patients: influence on airway flow-resistance. *Intensive Care Med* 1993, 19: 462-466.
32. Le Bourdelles G, Mier L, Fiquet B et al. Comparison of the effects of heat and moisture exchangers and heated humidifiers on ventilation and gas exchange during weaning trials from mechanical ventilation. *Chest* 1996, 110: 1294-1298.
33. Tobin M. Technical aspects of the patient ventilator interface. In *Principle and practice of mechanical ventilation*, McGraw-Hill, 1994, pp 1039-1065.
34. Conti G, De Blasi A, Rocco M et al. Effect of heat-moisture exchangers on dynamic hyperinflation of mechanically ventilated COPD patients. *Intensive Care Med* 1990, 16: 441-443.
35. Pelosi P, Solca M, Ravagnan I, Tubiolo D, Ferrario L, Gattinoni L. Effects of heat and moisture exchangers on minute ventilation, ventilatory drive, and work of breath-

- ing during pressure support ventilation in acute respiratory failure. *Crit Care Med* 1996, 24: 1184-1188.
36. Iotti GA, Olivei MC, Braschi A (1999) Mechanical effects of heat moisture exchangers in ventilated patients. *Crit Care Med* 1999, (5): R 77-82.
 37. Dreyfuss D, Djedaini K, Gros I et al. Mechanical ventilation with heated humidifiers or heat and moisture exchangers: effects on patients colonization and incidence of nosocomial pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 1995, 151: 986-992.
 38. Thomachot L, Vialter R, Arnaud S, Barberon B, Nguyen AM, Martin C. Do the components of heat and moisture exchangers filters affect their humidifying efficacy and the incidence of nosocomial pneumonia. *Crit Care Med* 1999, 27: 923-928.
 39. Boots RJ, Howe S, George N, Harris FM, Faoagali J. Clinical utility of hygroscopic heat and moisture exchangers in intensive care patients. *Crit Care Med* 1997, 25: 1707-1712.
 40. Markowics P, Ricard JD, Dreyfuss D et al. Safety, efficacy, and cost effectiveness of mechanical ventilation with humidifying filters changed every 48 hours: a prospective, randomized study. *Crit Care Med* 2000, 28: 665-671.
 41. Djedaini, Billiard M, Mier L et al. Changing heat and moisture exchangers every 48 hours rather than 24 hours does not affect their efficacy and the incidence of nosocomial pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 1995, 152: 1562-1569.
 42. Ricard JD, Le Miere E, Markowics P et al. Efficiency and safety of mechanical ventilation with a heat and moisture exchanger changed only once a week. *Am J Respir Crit Care Med* 2000, 161: 104-109.
 43. Branson RD. Humidification for patients with artificial airways. *Respiratory Care* 1999; 44: 630-642.
 44. Pauton TJ, Downs JB. Humidification of rapidly flowing gas. *Crit Care Med* 1981, (1): 59-63.
 45. Miyao H, Hirokawa T, Miyasaka K, Kawazoe T. Relative humidity, not absolute humidity, is of great importance when using a humidifier with a heating wire. *Crit Care Med* 1992, (20): 674-679.
 46. Kapadio F, Shelly MP, Anthony JM, Park GR. An active heat and moisture exchanger. *B J Anaesth* 1992, (69): 640-642.

Ζωονόσοι και πνεύμονες

Χ. Παπαδοπούλου

Επίκουρος καθηγήτρια Μικροβιολογίας, Μονάδα Ζωονόσων, Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

Λέξεις -Κλειδιά:

Ζωονόσοι, πνεύμονες, λοιμώδη νοσήματα, αναπνευστικό σύστημα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ. Οι ζωονόσοι είναι λοιμώδη νοσήματα που μεταδίδονται μεταξύ σπονδυλωτών ζώων και ανθρώπου με φυσικό τρόπο. Υπολογίζεται ότι οι ζωονόσοι είναι περισσότερες από 180 και επηρεάζουν σημαντικά τη δημόσια υγεία αλλά και την οικονομία των χωρών. Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται μια αύξηση στη συχνότητα εμφάνισης των ζωονόσων καθώς και μια επανεμφάνιση ζωονόσων που είχαν εξαφανιστεί, γεγονός που οφείλεται σε διάφορες κοινωνικο-οικονομικές και περιβαλλοντικές μεταβολές, καθώς και σε αλλαγές του σύγχρονου τρόπου ζωής. Μερικές από τις σημαντικότερες ζωονόσους, όπως η φυματίωση, ο άνθρακας και η εχινόκοκκωση έχουν κύρια εντόπιση στους πνεύμονες. Οι ζωονόσοι που αφορούν στο αναπνευστικό σύστημα οφείλονται σε ποικίλα μικροβιακά αίτια, περιλαμβανομένων των βακτηρίων, των μυκήτων, των παρασίτων και των ιών. Για το λόγο αυτό ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας συνιστά εγρήγορση όλων των υπηρεσιών υγείας, τόσο της ιατρικής όσο και της κτηνιατρικής δημόσιας υγείας και λήψη αποφασιστικών μέτρων πρόληψης και καταπολέμησης των ζωονόσων. *Πνεύμων 2002, 15(1)69-77.*

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σύμφωνα με τα πορίσματα της ειδικής επιτροπής της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας (WHO) και της Οργάνωσης Τροφίμων και Γεωργίας (FAO) για τα λοιμώδη νοσήματα που μεταδίδονται από τα ζώα, οι ζωονόσοι είναι λοιμώδεις νόσοι που μεταδίδονται μεταξύ των σπονδυλωτών ζώων και του ανθρώπου με φυσικό τρόπο. Η επιτροπή ειδικών αποφάσισε τη χρήση του όρου “ζωονόσοι” (zoonoses) για όλα τα νοσήματα που μεταδίδονται από τα ζώα στον άνθρωπο, θεωρώντας ότι ο όρος αυτός είναι πλέον δόκιμος σε σχέση με την παλαιότερα χρησιμοποιούμενη ορολογία “ζωοανθρωπονόσοι” ή “ανθρωποζωονόσοι”¹.

Υπολογίζεται ότι οι γνωστές σήμερα ζωονόσοι με την ως άνω έννοια είναι περισσότερες από 180 και ο κατάλογος φαίνεται να αυξάνεται συ-

Αλληλογραφία:

Χρυσάνθη Παπαδοπούλου, Επίκουρος καθηγήτρια Μικροβιολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Πανεπιστημιούπολη, Ιωάννινα 45110, Τηλέφωνα: (06510) 97592, 97593, 97591, 97772, Φαξ: (06510) 97855 & 93563, e-mail: cpapadop@cc.uoi.gr

νέχεια. Σύμφωνα με τα στοιχεία του WHO περισσότεροι από 200.000.000 άνθρωποι προσβάλλονται από μια ή περισσότερες ζωνοσούς στη διάρκεια της ζωής τους. Οι κοινωνικο-οικονομικές επιπτώσεις των ζωνοσών είναι ιδιαίτερα σημαντικές αν ληφθεί υπόψη ότι 60.000.000 δολάρια ετησίως δαπανώνται στις Βορειο-αφρικανικές χώρες μόνον για τη θεραπεία της εχινοκόκκωσης¹⁻³.

Οι σαλμονελλώσεις στις Ευρωπαϊκές χώρες εμφανίζονται με ολοένα αυξανόμενη συχνότητα, που έχει φθάσει τα 300 περιστατικά ανά 100.000 κατοίκους. Οι φυματίώσεις εμφανίζονται στις μεν χώρες της Δ. Ευρώπης με την ίδια περίπου συχνότητα 20 περιστατικά/100.000 κατοίκους, στις δε χώρες της τέως Α. Ευρώπης με υπερδιπλάσια συχνότητα (≥ 40 περιστατικά/100.000 κάτοικους). Οι λεπτοσπειρώσεις εμφανίζονται παγκοσμίως με συχνότητα 4-100 περιστατικά ανά 100.000 κατοίκους. Οι παρασιτώσεις από έλμινθες και πρωτόζωα προκαλούν 16.000.000 θανάτους ετησίως παγκοσμίως (32% των θανάτων). Ενδεικτικά, μόνον αναφέρεται ότι οι ασκαριδιώσεις προσβάλλουν 214.000.000 ανθρώπους ετησίως, η λείσμανίαση προσβάλλει 13.000.000 ανθρώπους ετησίως, ενώ η τοξοπλάσμωση επηρεάζει 3 στις 1000 κυήσεις παγκοσμίως²⁻⁶.

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΕΞΑΠΛΩΣΗ ΤΩΝ ΖΩΟΝΟΣΩΝ

Είναι γεγονός ότι τα τελευταία χρόνια οι ζωνοσώοι εμφανίζονται ή επανεμφανίζονται με αυξανόμενη συχνότητα, ενώ ο κίνδυνος να πρωτοεμφανιστούν ή να επανεμφανιστούν και να εξαπλωθούν ζωνοσώοι σε περιοχές που δεν υπάρχουν ή είχαν εξαφανιστεί επίσης αυξάνεται ολοένα. Το γεγονός αυτό οφείλεται σε πολλά αίτια, τα οποία συνοψίζονται παρακάτω⁶⁻¹⁰:

1. Τις τελευταίες δεκαετίες παρατηρούνται μαζικές μετακινήσεις ανθρώπινου πληθυσμού. Πρόσφυγες, μετανάστες, στρατιώτες, τουρίστες μετακινούνται από τη μια χώρα στην άλλη ή από τη μια ήπειρο στην άλλη, νόμιμα ή παράνομα, πολύ ευκολότερα από ότι μερικές δεκαετίες πριν.
2. Επίσης γίνονται μεγάλες μετακινήσεις ζωικού πληθυσμού. Παραγωγικά ζώα, ζώα συντροφιάς, ζώα ζωολογικών κήπων, εξωτικά ζώα, πειραματόζωα μεταφέρονται και πωλούνται από χώρα σε χώρα και

από ήπειρο σε ήπειρο πολύ πιο γρήγορα και εύκολα σε σχέση με το παρελθόν στο πλαίσιο νόμιμων ή και παράνομων αγοραπωλησιών. Το εμπόριο προϊόντων ζωικής προέλευσης έχει παγκοσμιοποιηθεί, με αποτέλεσμα την παγκοσμιοποίηση και των ζωνοσών που μεταδίδονται διά μέσου των προϊόντων αυτών. Είναι γεγονός ότι παράλληλα με τις αθρόες μετακινήσεις του ανθρώπινου και ζωικού πληθυσμού, παρατηρούνται και αντίστοιχες «μετακινήσεις» λοιμωδών νοσημάτων συμπεριλαμβανομένων και των ζωνοσών.

3. Η μαζικοποίηση και η εντατικοποίηση της εκτροφής παραγωγικών ζώων καθώς και η αύξηση της ζωοφιλίας και της συγκατοίκησης ανθρώπων-ζώων συντελεί επίσης στην αύξηση των ζωνοσών.
4. Οι περιβαλλοντικές μεταβολές εξαιτίας ανθρωπίνων δραστηριοτήτων επίσης ευθύνονται κατά ένα σημαντικό μέρος για την εμφάνιση νέων ζωνοσών ή την επανεμφάνιση εξαλειφθεισών ζωνοσών. Οι οποιεσδήποτε αλλαγές στη χλωρίδα ενός τόπου (π.χ. καταστροφή δασών, αλλαγές καλλιέργειών) συνεπάγονται αυτόματα και αλλαγές στην πανίδα, με αποτέλεσμα επικράτηση πολλές φορές ζωικών ειδών που αποτελούν ενδιάμεσους ξενιστές ποικίλων λοιμωδών νοσημάτων (π.χ. τρωκτικών που ευθύνονται για αιμορραγικούς πυρετούς).
5. Η αλλαγή του τρόπου ζωής κυρίως στις αναπτυγμένες χώρες και ιδιαίτερα η έντονη βιομηχανοποίηση της διατροφής του ανθρώπου (fast-food - βιομηχανία τροφίμων και προμαγειρευμένων φαγητών) συνετελούν στην αύξηση των ζωνοσών τροφογενούς προέλευσης.
6. Η αύξηση του αριθμού των ατόμων που βρίσκονται σε ανοσοκαταστολή επίσης συμβάλλει στην αύξηση των ζωνοσών.
7. Τέλος, η εμφάνιση ανθεκτικών στα αντιβιοτικά στελεχών μικροοργανισμών που προέρχονται από τα παραγωγικά ζώα (πουλερικά, χοίροι, βοοειδή) και η χρήση ζωικών υποπροϊόντων, παραπροϊόντων και αποβλήτων επίσης συνεισφέρει στην αύξηση των ζωνοσών.

ΤΡΟΠΟΙ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΤΩΝ ΖΩΟΝΟΣΩΝ

Οι ζωνοσώοι μεταδίδονται με διάφορους τρόπους:

μερικές έχουν πολύπλοκο τρόπο μετάδοσης με συμμετοχή ενός ή περισσότερων ενδιάμεσων ξενιστών, άλλες μεταδίδονται τροφογενώς και άλλες από το μολυσμένο περιβάλλον. Οι ζωνοόσοι που οφείλονται σε βακτήρια, παράσιτα και μύκητες είναι συνήθως επαγγελματικές νόσοι ή τροφογενείς⁸⁻¹¹. Ενώ οι ζωνοόσοι που οφείλονται σε ιούς μεταδίδονται συνήθως με 3 τρόπους: με δήγματα (π.χ. λύσσα), με νύγματα αρθροπόδων (π.χ. οι ιογενείς εγκεφαλομυελίτιδες) και εξ επαφής ή μηχανικά (π.χ. οι αιμορραγικοί πυρετοί Marbourg, Ebola).

Ορισμένες ομάδες ατόμων είναι πιο ευαίσθητες στις ζωνοόσους. Οι ομάδες αυτές είναι οι εξής:

ΟΜΑΔΑ I. Οι ασχολούμενοι με τη γεωργία, κτηνοτροφία.

ΟΜΑΔΑ II. Οι ασχολούμενοι με την επεξεργασία προϊόντων ζωικής παραγωγής.

ΟΜΑΔΑ III. Οι ασχολούμενοι με τη φύση (εξερευνητές, φυσιολόγοι, ζωολόγοι).

ΟΜΑΔΑ IV. Οι ασχολούμενοι με μικρά ζώα, εξωτικά ζώα, ζώα ζωολογικών κήπων.

ΟΜΑΔΑ V. Οι ασχολούμενοι με πειραματόζωα (ερευνητές, παρασκευαστές κ.ά.).

ΟΜΑΔΑ VI. Οι ασχολούμενοι με τη δημόσια υγεία (γιατροί, κτηνίατροι).

ΟΜΑΔΑ VII. Όσοι βρίσκονται σε κατάσταση ανάγκης (πρόσφυγες, εμπόλεμοι).

ΟΜΑΔΑ VIII. Παιδιά ηλικίας μικρότερης των 9 ετών.

ΠΟΙΕΣ ΚΑΙ ΠΟΣΕΣ ΕΙΝΑΙ ΟΙ ΖΩΝΟΟΣΟΙ;

Όπως προαναφέρθηκε οι ζωνοόσοι που είναι γνωστές σήμερα υπολογίζεται ότι ξεπερνούν τις 180, και ο αριθμός τους αυξάνεται, με την ανακάλυψη νέων λοιμογόνων αιτίων, που μεταδίδονται μεταξύ ζώων και ανθρώπων. Στη δεκαετία του '70 ανακαλύφθηκε η νόσος Lyme, στη δεκαετία του '80 η ερλιχίωση, στη δεκαετία του '90 η κοκκιοκυτταρική ερλιχίωση και πρόσφατα ταυτοποιήθηκε και το αίτιο της νόσου εξ ονύχων γαλής, δηλ. το βακτήριο *Rochalimea henselae*. Οι σημαντικότερες ζωνοόσοι αναφέρονται στον πίνακα 1.

Η συχνότητα και η εξάπλωση των ζωνοόσων εξαρτάται από διάφορους παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν αφενός την κατανομή των τελικών και των ενδιάμεσων ξενιστών, και αφετέρου τα μέσα μεταφοράς και επιβίω-

σης των μικροβιακών αιτίων στο περιβάλλον^{1,7,8,13}. Πολλές ζωνοόσοι χαρακτηρίζονται από σποραδική μετάδοση στον άνθρωπο και από επιδημικές εξάρσεις που αφορούν όμως λίγα άτομα (π.χ. λεπτοσπείρωση, βρουκέλλωση). Υπάρχουν όμως και ζωνοόσοι που προκαλούν εκτεταμένες επιδημίες (π.χ. πνευμονική πανώλης πνευμονικός άνθρακας). Το πρόβλημα με τις ζωνοόσους είναι ότι συχνά η σημασία τους υποτιμάται, εξαιτίας απουσίας κατάλληλων εθνικών προγραμμάτων και διαγνωστικών υπηρεσιών, ικανών να διευκρινίζουν και να εντοπίζουν τα αίτια εμπύρετων νοσημάτων, διαρροϊκών συνδρόμων, νεφρίτιδων, εγκεφαλίτιδων κ.λπ. Πολλά από τα περιστατικά που χαρακτηρίζονται ως «αγνώστου αιτιολογίας» συχνά οφείλονται σε ζωνοόσους, που εμφανίζονται τοπικά, με σποραδική ή και επιδημική μορφή^{1,13,14}.

ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΑ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΤΩΝ ΖΩΝΟΟΣΩΝ

Οι υπηρεσίες δημόσιας υγείας αναγνωρίζουν μόνον τις πιο σοβαρές βακτηριακές και ιογενείς ζωνοόσους που προκαλούν σοβαρές λοιμώξεις στον άνθρωπο. Έτσι, υπάρχει εγγήγορη για τους αιμορραγικούς πυρετούς (Hantaan, Marbourg, Ebola), ενώ οι παρασιτώσεις είναι παραμελημένες¹⁵⁻¹⁷. Κατά τη διάγνωση μιας λοίμωξης συνήθως παραβλέπεται η πιθανότητα να οφείλεται σε ένα λοιμογόνο παράγοντα ζωικής προέλευσης. Τούτο οφείλεται στο ότι ορισμένες ζωνοόσοι είναι σχετικά σπάνιες, η διαφορική διάγνωσή τους από άλλα πιο κοινά και επικρατούντα νοσήματα είναι δύσκολη κλινικά, οι μέθοδοι εργαστηριακής διάγνωσής τους (απομόνωση του μικροβιακού αιτίου ή ορολογική διάγνωση) μπορεί να μην εμπίπτουν στη διαγνωστική ρουτίνα των μικροβιολογικών εργαστηρίων της περιοχής ενώ κατά τη λήψη του ιστορικού του ασθενούς μπορεί να μην αναφέρεται καθόλου ή ασαφώς η επαφή με κάποιο ζώο και ειδικά το τσίμπημα από αρθρόποδα^{1,7,8}.

Στις περισσότερες χώρες είναι ανεπαρκής η εκπαίδευση των σχετικών επιστημόνων (ιατρών και κτηνιάτρων) πάνω στις ζωνοόσους και ιδίως σχετικά με το ποιά ζώα είναι μόνιμοι ή παροδικοί φορείς ποιών μικροοργανισμών που μεταδίδονται και στον άνθρωπο^{1,19-21}. Αυτή η ανεπάρκεια γνώσεων έχει ως αποτέλεσμα να είναι συνήθως ανυποψίαστοι για το ποιά άτομα βρίσκονται σε μεγαλύτερο κίνδυνο (ομάδες υψηλού κινδύνου που προαναφέρθηκαν) και η διάγνωση να καθυστερεί

Πίνακας 1. Οι σημαντικότερες ζωνοόσοι κατά μικροβιακά αίτια (αλφαβητική σειρά)

Ιογενείς	Βακτηριακές	Μυκητιασικές	Παρασιτικές
Αιμορραγικοί πυρετοί (Αργεντινής, Βολιβίας, Κριμαίας - Κογκό, Όμσκ, με νεφρικό σύνδρομο)	Άνθρακας	Δερματοφυτίαση	Αγκυλοστομίωση
Αφρικανικοί αιμορραγικοί πυρετοί (Marburg, Ebola)	Αλλαντίαση	Τριχοφυτίαση	Ανισακίωση
Αφθώδης πυρετός	Αιμορραγικό αιμολυτικό σύνδρομο	Βλαστομύκωση	Ασκαριδίωση
Γρίπη χοίρων/πτηνών	Βρουκέλλωση	Ιστοπλάσμωση	Αμερικανική τρυπανοσωμίωση
Δάγγειος πυρετός	Γερσινιώσεις	Κοκκιδιομύκωση	Αφρικανική τρυπανοσωμίωση
Εγκεφαλίτιδα εξ ιπποειδών	Ερlichiosis	Ασπεργίλλωση	Γκιαρντίαση
Εγκεφαλίτιδα Καλιφόρνιας	Ερυσίπελας	Φυκομητίαση	Δικροκελίωση
Εγκεφαλίτιδα Δ. Νείλου	Καμυλοβακτηριδίαση	Καντιτιάσεις	Διφυλοβοθρίωση
Επιδημική πολυαρθρίτιδα	Κλωστρηδιάσεις	Κρυπτοκόκκωση	Διπυλιδίωση
Ιαπωνική εγκεφαλίτιδα	Λεπτοσπειρώσεις	Εχινοκόκκωση	
Ιογενής εγκεφαλομυοκαρδίτιδα	Λιστεριώσεις	Εχινostroμύωση	
Κίτρινος πυρετός	Μπορελίωση	Καπιλαρίωση	
Λοιμώδης έκθυμα ή Orf	Νόσος εξ ονύχων γαλής	Κλωνορχίωση	
Λύσσα	Νόσος Lyme	Κοινουρίωση	
Παραευνολογία	Νεκροβακίλλωση	Κρυπτοσποριδίωση	
Πυρετός του Κολοράντο	Πανώλη	Κυστιτέγκωση	
Πυρετός Λάσσα	Παστεριδίαση	Καπιλαρίωση	
Πυρετός κοιλάδας Rift	Σαλμονελλώσεις	Λεϊσμανιώσεις	
Φυσσαλιδώδης στοματίτιδα	Σταφυλοκοκκιάσεις	Μπαμπεσίωση	
Στρεπτοκοκκιάσεις	Παραγωγιμίαση		
Στρεπτοβακίλλωση	Προπλάσμωση		
Ρικετσιώσεις	Ταινίαση		
Τουλαραιμία	Τοξοπλάσμωση		
Τροφολοιμώξεις από δονάκια	Τριχινέλλωση		
Φυματίώσεις	Υμενολεπιδίωση		
Χλαμυδίαση	Φασιολίωση		
Χολέρα	Φιλαρίωση		
Ψευδομάλης			

ή και να μην τίθεται τελικά αιτιολογική διάγνωση.

το αναπνευστικό σύστημα αναφέρονται στους πίνακες 2-5.

ΠΟΙΕΣ ΖΩΝΟΟΣΟΙ ΠΡΟΣΒΑΛΛΟΥΝ ΤΟ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ;

Στο μακρύ κατάλογο των ζωνοόσων, περιλαμβάνονται και νοσήματα που αφορούν το αναπνευστικό σύστημα. Ορισμένα από αυτά είναι πολύ γνωστά (π.χ. φυματίωση, εχινοκόκκωση), ορισμένα όμως είναι σχετικά άγνωστα και ίσως παραμελημένα, είτε επειδή είναι σπάνια σε ορισμένες χώρες είτε επειδή θεωρείται ότι έχουν εξαιρεθεί¹⁹⁻²¹. Οι ζωνοόσοι που προσβάλλουν

ΤΡΟΠΟΙ ΠΡΟΛΗΨΗΣ ΚΑΙ ΕΛΕΓΧΟΥ ΤΩΝ ΖΩΝΟΟΣΩΝ

Οι ζωνοόσοι συνιστούν ένα σοβαρό πρόβλημα δημόσιας υγείας για ένα μεγάλο μέρος του ανθρώπινου πληθυσμού. Το πρόβλημα των ζωνοόσων είναι παγκόσμιο και για την αντιμετώπισή του χρειάζεται κινητοποίηση εθνικών και διεθνών πόρων και στην προσπάθεια αυτή πρωτοστατούν διεθνείς οργανισμοί όπως ο WHO, FAO, UNEP και EU.

Πίνακας 2. Ζωονόσοι του αναπνευστικού συστήματος οφειλόμενες σε παράσιτα

Α. Νηματώδεις ελμίνθες				
Νόσος Άλλες ονομασίες	Αίτιο Είδη	Αποθήκη/Ξενιστ. Μετάδοση	Επώαση Συμπτώματα	Διάγνωση Θεραπεία
Αγκυλοστομίαση Ancylostomiasis, Uncinariasis Hookworm disease, Hookworm anaemia, Cutaneous Larva migrans	Ancylostoma spp. A. duodenale A. caninum A. ceylanicum N. americanus	Σκύλοι, γάτες Διά του δέρματος & Διά των βλεννογόνων του Πεπτικού Συστήματος	Εβδομάδες-μήνες Ασυμπτωματική ή Δερματικές βλάβες, Αναμμία, τραχειίτις, βήχας	Παρασιτολογική κοπράνων Ανθελμινθικά
Ανισακίαση Anisakiasis Herring worm disease	Anisakis spp. Anisakis spp. Phocanema spp Contracaecum spp	Ψάρια Διά του Πεπτικού Συστήματος	Ώρες-εβδομάδες Πυρετός, κοιλιακό άλγος, εμετός, αιματέμεση, βήχας	Αναζήτηση προνυμφών στο στόμαχο Χειρουργική αφαίρεση των προνυμφών
Ασκαριδίαση	Ascaris spp.	Άνθρωπος, χοίρος, σκύλος, γάτα	Εβδομάδες-Μήνες	Αναζήτηση ωών ή ενηλίκων στα κόπρανα & προνυμφών στα πτύελα
Ascariasis, Roundworm infection, Toxocariasis Visceral larva migrans migrans, Larval granulomatosis, Oc, ular larval migrans	Ascaris lubricoides Ascaris suum Toxocara canis Toxocara cati	Διά του Πεπτικού Συστήματος	Ασυμπτωματική ή πυρετό, άσθμα, βήχα πνευμονίτιδα, κοιλιακά άλγη	Ανθελμινθικά
Καπιλαρίαση Capillariasis/osis	Capillaria spp. C. hepatica C. philippinensis C. aerophila	Σκύλος, γάτα, τρωκτικά Άνθρωπος, ψάρια, περιβάλλον	3-4 εβδομάδες Ηπατίτιδα, απώλεια βάρους, διάρροια, πυρετός, βήχας	Βιοψία, παρασιτολογική κοπράνων και πτυέλων Ανθελμινθικά
Στρογγυλοϊδίαση	Strogylodes spp.		Δερματικές βλάβες, πυρετός, βήχας, αιμόπτυση, βλεννώδης διάρροια, κοιλιακά άλγη	Παρασιτολογική κοπράνων Ανθελμινθικά
Strogylodiasis Strogylodiasis	S. stercoralis ¹ S. fuelleborni ²	¹ Σκύλος, γάτα, πάπια, ² Πιθηκοειδή Διά του δέρματος		
Β. Κεστώδεις ελμίνθες				
Σχιστοσωμίαση	Schistosoma spp. S. japonicum	Βοοειδή, ιπποειδή, σκύλοι, γάτες τρωκτικά, πίθηκοι, σαλιγκάρια, άνθρωπος	4-6 εβδομάδες	Παρασιτολογική κοπράνων, EL, ISA, IHA, IFA, CF
Schistosomiasis Bilharzia, Bilharziasis		Διά του δέρματος	Κνησμός στο σημείο εισόδου προνύμφης πυρετός κοιλ. άλγη βήχας απώλεια βάρους, δυσεντερία, κίρρωση διόγκωση ήπαρ/σπλην, Νευρολογικά Σ.	Ανθελμινθικά (Praziquantel)
Παραγονιμίαση	Paragonimus spp. P. westermani	Χοίροι, γάτες, σκύλοι, μαϊμούδες, άγρια ζώα, τρωκτικά, καβούρια	Ποικίλη	Παρασιτολογική κοπράνων, ακτίνες Χ.
Pulmonary distomatosis Endemic or oriental hemoptysis, Lung flake disease		Διά του Πεπτικού Συστήματος	Πυρετός βήχας, αιμόπτυση,	Ορολογικές δοκιμασίες

Πίνακας 3. Ζωνοόσοι του αναπνευστικού συστήματος οφειλόμενες σε μύκητες

Νόσος	Αίτιο	Αποθήκη/Ξενιστ.	Επώαση	Διάγνωση
Άλλες ονομασίες	Είδη	Μετάδοση	Συμπτώματα	Θεραπεία
Βλαστομύκωση Blastomycosis	¹ Blastomyces dermatitidis	^{1,2} Σκύλος, άνθρωπος	Ημέρες-εβδομάδες	Μικροσκοπική, ορολογικές δοκιμασίες
Ιστοπλάσμωση Histoplasmosis	² Histoplasma capsulatum	³ Σκύλος, άνθρωπος, ιπποειδή, χοίροι κ.λπ.	Δερματική εντόπιση Γενικευμένη (κυρίως πνεύμονες)	Αντιμυκητιασικά ευρέος φάσματος
Κοκκιδιομύκωση Coccidiomycosis	³ Coccidioides immitis	Διά του Αναπνευστικού Συστήματος	Ημέρες-εβδομάδες	Μικροσκοπική καλλιέργεια
Ασπεργύλλωση	Aspergillus fumigatus Mucor, Absidia, Phizopus,	Ζώα, άνθρωπος, περιβάλλον	Ημέρες-εβδομάδες	Μικροσκοπική καλλιέργεια
Φυκομυκητιάσεις	Mortierella Candida albicans Candida kruzei	Διά του Αναπνευστικού Συστήματος	Γενικευμένη (κυρίως πνεύμονες)	Αντιμυκητιασικά ευρέος φάσματος
Καντιντιάσεις	Cryptococcus neoformans			
Κρυπτοκόκκωση				

Οι στρατηγικές πρόληψης και ελέγχου των ζωνοόσων που προτείνονται είναι οι εξής:

- Εντοπισμός και θεραπεία των περιστατικών που οφείλονται σε ζωνοόσους
- Διακοπή της οδού μετάδοσης της λοίμωξης από τα ζώα στους ανθρώπους
- Διακοπή της οδού μετάδοσης από τα άγρια ζώα στα κατοικίδια ζώα
- Διακοπή της μετάδοσης από άνθρωπο σε άνθρωπο
- Τοπική ή περιφερειακή εξάλειψη της λοίμωξης από τα ζώα που είναι τα φυσικά υπόδοχά της
- Προστασία των περιοχών που είναι απαλλαγμένες από ορισμένες ζωνοόσους.

Για την επίτευξη αυτών των στρατηγικών ο WHO συνιστά την εφαρμογή των παρακάτω μέτρων:

- 1) Ανάπτυξη προγραμμάτων παρακολούθησης των ζωνοόσων.
- 2) Ανάπτυξη προγραμμάτων ελέγχου βασιζόμενα στα προηγούμενα και σε επιδημιολογικά δεδομένα.
- 3) Αποθάρρυνση της συλλογής και εμπορίας άγριων και εξωτικών ζώων.
- 4) Τα μικρά ζώα συντροφιάς να διατίθενται από άτομα που να έχουν άδεια.
- 5) Τα μικρά ζώα συντροφιάς πριν υιοθετηθούν να εξετάζονται από ειδικευμένο κτηνίατρο.
- 6) Σωστό Εθνικό Σύστημα Υγείας.
- 7) Σωστές υγειονομολογικά εγκαταστάσεις σφαγείων και αποθηκών συντήρησης προϊόντων κρέατος.
- 8) Ενημέρωση και εκπαίδευση των εργαζομένων για τους κινδύνους από τους χειρισμούς ζώων ή νεκρών ζώων ή τροφίμων ζωικής προέλευσης.
- 9) Εμβολιασμοί ανθρώπων και ζώων.
- 10) Τα ταξιδιωτικά γραφεία να ενημερώνουν τους πελάτες τους για τους πιθανούς κινδύνους και τα μέτρα πρόληψης σχετικά με τις ζωνοόσους που ενδημούν στις χώρες που επισκέπτονται.
- 11) Προστασία της υγείας των ζώων, καταστροφή των άρρωστων ζώων και απαγόρευση της μετακίνησης άρρωστων ζώων.
- 12) Διεθνής συνεργασία.

Πίνακας 4. Ζωνοόσοι του αναπνευστικού συστήματος οφειλόμενες σε βακτήρια

Νόσος Άλλες ονομασίες	Αίτιο Είδη	Αποθήκη/Ξενοστ. Μετάδοση	Επώαση Συμπτώματα	Διάγνωση Θεραπεία
Άνθρακας Woolsorsters disease Malignant pustule Charbon, Malignant oedema, splenic fever	Bacillus anthracis	Όλα τα ζώα Διά του Δέρματος Διά του Αναπνευστικού Συστήματος	3-10 ημέρες (Δερμ.) 1-5 ημέρες (Αναπν.) 2-5 ημέρες (Γαστρ.) Εντοπισμένη εξέλκωση, πυρετός, κεφαλαλγία, σηψαιμία, μηνιγγίτις Διάχυτη πνευμονία Οξεία γαστρίτις	Μικροσκοπική καλλιέργεια Αντιβιοτικά (Πενικιλίνη)
Ψιττάκωση Ορνίθωση Parrot fever	Chlamydia psittaci	Ψιττακοί, περιστέρια, πάπιες, γαλοπούλες, πρόβατα Διά του Αναπνευστικού Συστήματος	4-15 ημέρες Πυρετός, κεφαλαλγία, πόννοι μυών/αρθρώσεων, άτυπη πνευμονία, ενδοκαρδίτιδα, ηπατίτιδα	Ορολογικές δοκιμασίες Τετρακυκλίνη Ερυθρομυκίνη
Πυρετός Q, Βαλκανική γρίπη, Πυρετός Σφραγείων (Query fever, Balkan influenza, Balkan grippe, Abattoir fever, Pneumorrickettsiosis) Τουλαραιμία Francis disease, beer fly fever, rabbit fever Haraw disease	Coxiella burnettii Francisella tularensis	Ζώα (αγιοπρόβατα), κρότωνα Διά του Αναπνευστικού Συστήματος Διά του Πεπτικού Συστήματος Διά του Δέρματος (εξ επαφής ή νύγμα) Κουνέλια, λαγοί, κ.λπ. τρωκτικά, άγρια ζώα, πτηνά, κρότωνα, περιβάλλον Διά του Δέρματος (εξ επαφής ή νύγμα)	2-4 εβδομάδες Πυρετός, μυικοί πόνοι, κεφαλαλγία, βήχας, πνευμονίτιδα, ηπατίτιδα, ενδοκαρδίτιδα 1-10 ημέρες Ποικίλα ανάλογα με οδό μετάδοσης. Πυρετός, κεφαλαλγία, ερύθημα, πνευμονία κ.λπ.	Ορολογικές δοκιμασίες Τετρακυκλίνες Καλλιέργεια Ορολογικές δοκιμασίες Στρεπτομυκίνη
Νεκροβακίλλωση	Fusobacterium necrophorum	Αγιοπρόβατα, ίπποι, βοοειδή, χοίροι, πτηνά Διά λύσεων συνεχείας δέρματος	ημέρες Λεμφαδενίτιδα, αρθρίτιδα, πνευμονία	Καλλιέργεια Αντιβιοτικά
Λεπτοσπείρωση Νόσος Weil, Haemorrhagic jaundice, Canicola fever, Dairy worker fever, Swine herd's disease, Swamp fever, Mud fever Λιστερίωση/ίωση Listeriosis, Mononucleosis, Listerellosis, Circling disease	Leptospira spp L. interrogans L. icterohaemorrhagiae L. canicola L. hardjo Listeria monocytogenes	Τρωκτικά, κατοικίδια & άγρια θηλαστικά, ερπετά Εξ επαφής με μολυσμένα ζώα ή μολυσμένο περιβάλλον Άνθρωπος, ζώα, πτηνά, Περιβάλλον Τροφογενής	3-20 ημέρες Πυρετός, έμετος, κεφαλαλγία, αναιμία, μηνιγγίτιδα, πνευμονία, νεφρίτιδα, ηπατίτιδα, νεφρική ανεπάρκεια Μερικές ημέρες Πυρετός, κεφαλαλγία, ναυτία, έμετος, μηνιγγίτιδα, πνευμονία, σηψαιμία, ενδοκαρδίτις, αποβολές	Ορολογικές δοκιμασίες Καλλιέργεια Αντιβιοτικά ευρέος φάσματος (Πενικιλίνη, Στρεπτομυκίνη) Καλλιέργεια Αντιβιοτικά (Τετρακυκλίνες, Χλωραμφαινικόλη, Αμπικιλίνη, Γενταμυκίνη) Καλλιέργεια, Φυματινισμός Αντιφυματική αγωγή
Φυματώσεις, Βόειος φυματίωση, Άτυπες μυκοβακτηριδιώσεις	Mycobacte- rium spp. M. bovis M. avium M. marinum	Άνθρωπος, βοοειδή, πτηνά, ψάρια, Περιβάλλον (υδάτινο) Τροφογενής, Διά του Αναπνευστικού Συστήματος	Ποικίλη (Εβδομάδες-χρόνια) Σ. φυματίωσης	Καλλιέργεια Αντιβιοτικά ε.φ.
Παστερέλλωση Παστεριδίωση Pasteurellosis, Shipping/Transport fever, Haemorrhagic septicaemia	Pasteurella spp. P. multocida	Όλα τα ζώα & πτηνά Διά λύσεων συνεχείας δέρματος	48 ώρες Τοπική φλεγμονή, απόστημα, συστηματική λοίμωξη	Καλλιέργεια Αντιβιοτικά ε.φ.

Πίνακας 4 (συνέχεια). Ζωονόσοι του αναπνευστικού συστήματος οφειλόμενες σε βακτήρια

Νόσος Άλλες ονομασίες	Αίτιο Είδη	Αποθήκη/Ξενιστ. Μετάδοση	Επώαση Συμπτώματα	Διάγνωση Θεραπεία
Ψευδομάλης Glanders, Malleus Farcy	Pseudomonas spp. P. mallei P. pseudomallei	Ιπποειδή, περιβάλλον Εξ επαφής με μολυσμένα ζώα, περιβάλλον	1-14 ημέρες Πυρετός, κακουχία, πόνοι αρθρώσεων/μυών, πνευμονία, πλευρίτις, πυαιμία	Καλλιέργεια Δεσμοαντίδραση (μαλεινισμός) Ορολογικές δοκιμασίες CF, IHA Αντιβιοτικά Καλλιέργεια Αντιβιοτικά
Σταφυλοκοκκιάσεις Staphylococcal disease, Staphylococcal food poisoning, Staphylococcal enterotoxigenesis	Staphylococcus aureus	θηλαστικά (βοοειδή, ζώα συντροφιάς, άνθρωπος) Τροφογενής (εντεροτοξίνες)	Μερικές ώρες Πνευμονία, οστεομυελίτις, μαστίτις, ενδοκαρδίτις, σηψαιμία	Καλλιέργεια Αντιβιοτικά (Πενικιλίνη)
Στρεπτοκοκκιάσεις Streptococcosis, Streptococcal disease	Streptococcus spp. S. pyogenes S. suis	Ανθρωποι, θηλαστικά (βοοειδή, ιπποειδή, χοίροι) Τροφογενής, εξ επαφής με μολυσμένα ζώα	Μερικές ημέρες Πυρετός, Αναπνευστικό Σύστημα, πνευμονία, μηνιγγίτις, ενδοκαρδίτις, νεφρίτις	Καλλιέργεια Αντιβιοτικά (Πενικιλίνη)
Γερσινιώσεις Πανώλης Plague, Black Death Pseudotuberculosis	Yersinia spp. Y. pestis Y. pseudotuberculosis Y. enterocolitica	Άγρια & κατοικίδια ζώα, πτηνά, τρωκτικά Τροφογενής	2-5 ημέρες Πυρετός, διόγκωση λεμφαδένων, αιμορραγική βρογχοπνευμονία, έμετος, διάρροια, φαρυγγίτις, αρθρίτις, ερύθημα	Καλλιέργεια Αντιβιοτικά ευρέος φάσματος

Πίνακας 5. Ζωονόσοι του αναπνευστικού συστήματος οφειλόμενες σε ιούς

Ορθόμυξοι-ιοί				
Γρίπη Swine & Equine influenza, Avian influenza	Swine influenza virus A equi 2 influenza virus Avian H5N1 virus	Άνθρωποι, άγρια & κατοικίδια πτηνά, ιπποειδή, χοίροι Διά του Αναπνευστικού Συστήματος	1-3 ημέρες Τυπικά συμπτώματα γρίπης	Απομόνωση ιού Ορολογικές δοκιμασίες Συμπτωματική

SUMMARY

Zoonoses and the lung

Papadopoulou C.

Zoonoses are defined as infectious diseases transmitted naturally between vertebrates and man. It is estimated that there are currently over 180 zoonotic diseases, affecting significantly both public health and economy sector. During the last couple of decades zoonoses are emerging or re-emerging in areas where they had disappeared for years, the phenomenon being attributed to environmental global changes and social-behavioral changes of life style in the developed and developing countries worldwide. Tuberculosis, anthrax and echinococcosis are only three of the major zoonotic diseases infecting the lung. The zoonoses affecting the respiratory system are caused by various infectious agents including bacteria, fungi, parasites and viruses. For that reason WHO has issued a series of measures for prevention and control of emerging zoonoses. *Pneumon* 2002, 15(1):69-77.

Keywords: Zoonoses, lung, infectious diseases, respiratory system

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. WHO. Bacterial and viral zoonoses. Report of a WHO expert committee with the participation of FAO. WHO Geneva, 1982.
2. WHO. Salmonellosis control: the role of animal and product hygiene. Report of a WHO expert committee. Technical Report series 774. WHO Geneva, 1988.
3. WHO. Joint FAO/WHO expert committee on Brucellosis. Technical Report series 740. WHO Geneva, 1986.
4. WHO. Surveillance programme for control of food borne infections and intoxications in Europe. 5th Report 1985-1989. FAO/WHO Collaborating Center for Research and Training in Food Hygiene and Zoonoses. Berlin, Germany, 1989.
5. WHO. Surveillance programme for control of food borne infections and intoxications in Europe. 6th Report 1990-1992. FAO/WHO Collaborating Center for Research and Training in Food Hygiene and Zoonoses. Berlin, Germany, 1992.
6. WHO. The state of world health. World Health Report 1995-Executive Summary. WHO Geneva, 1995.
7. Bell J.C., Palmer S.R., Payne J.M. The Zoonoses. Infections transmitted from animals to man. London, UK: Hodder and Stoughton Ltd, 1988.
8. Fiennes R.N.W. Zoonoses and the origins and ecology of human diseases. London, UK: Academic Press, 1978.
9. Hubbert W.T., McCulloch W.F., Schnurrenberger P.R. Diseases transmitted from animals to man. 6th edition. C. Illinois, USA: Thomas Publications, 1975.
10. Παπαδοπούλου Χ. Ζωονόσοι. Το πρόβλημα και οι επιπτώσεις του. ΔΕΜΕ 1997, 42: 19-36.
11. Kennedy C.R. Ecological aspects of Parasitology. Amsterdam, Netherlands: North-Holland Publishing Co., 1976.
12. Donalson R.J. Parasites and Western Man. Lancaster, UK: MTP Press Ltd, 1979.
13. Mantovani A., Prosperi S. The Mediterranean and zoonoses. WHO Mediterranean Zoonoses Control Center, Information Circular. January 1995:1-16.
14. Abdou E.A. Overview of Parasitic zoonoses in the Mediterranean Countries. WHO Mediterranean Zoonoses Control Center, Information Circular. April 1995, 1-4.
15. Ozcel ALI M. Economic importance of parasitic diseases with special attention on zoonoses. WHO Mediterranean Zoonoses Control Center, Information Circular. April 1995, 4-7.
16. Gradoni L. Canine leishmaniasis of zoonotic visceral leishmaniasis in the mediterranean area: epidemiology and control. WHO Mediterranean Zoonoses Control Center, Information Circular. April 1995, 12-13.
17. Mantovani A., Poglayen G. Some relevant research and control contributions to helminthic zoonoses in Italy. WHO Mediterranean Zoonoses Control Center, Information Circular. April 1995, 14-18.
18. Karanis P. Parasitic zoonoses. Waterborne Parasitic diseases. WHO Mediterranean Zoonoses Control Center, Information Circular. July 1995, 2-3.
19. Cosivi O. Zoonotic aspects of Mycobacterium bovis infection in developing countries: Part I. WHO Mediterranean Zoonoses Control Center, Information Circular. December 1995, 2-4.
20. Wilson L. Focus on zoonoses. Medical Sciences Bulletin, Pharmaceutical Information Associates Ltd. October 1995.
21. Berkelman R.L. Emerging infections. Lecture. Tufts University's Education for Public Inquiry and International Citizenship 10th Anniversary celebration. March 1966, Massachusetts, USA.

Κλινική Μελέτη

Βραβευμένη Εργασία

Πανελλήνιο Συνεδριο Νοσημάτων Θώρακος - Θεσσαλονίκη 2001

Έκφραση περφορίνης και κυτταροτοξική δραστηριότητα των $CD8^+$ λεμφοκυττάρων στα πτύελα καπνιστών με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια

Γ. Χρυσοφάκης,
Ν. Τζανάκης,
Δ. Κυριάκου,
Ι. Τσιλιγιάνη,
Μ. Τσουμακίδου,
Ε. Παπαδοπούλη,
Δ. Μπούρος,
Ν.Μ. Σιαφάκας

Πνευμονολογική Κλινική Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου Κρήτης

Λέξεις-Κλειδιά: Χ.Α.Π., πρόκληση πτυέλων, περφορίνη, $CD8^+$ λεμφοκύτταρα

Αλληλογραφία:

Νικόλαος Τζανάκης, Επίκουρος Καθηγητής, Πνευμονολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ηρακλείου, E-mail: tzanakis@med.uoc.gr, Τηλ.: 0810 392 433, Fax: 0810 542 650

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Είναι γνωστό ότι το κάπνισμα αποτελεί τον κύριο αιτιολογικό παράγοντα που σχετίζεται με την ανάπτυξη Χρόνιας Αποφρακτικής Πνευμονοπάθειας (Χ.Α.Π.). Η Χ.Α.Π. χαρακτηρίζεται από παθολογική φλεγμονώδη απάντηση των αεραγωγών σε διάφορα ερεθίσματα, στην οποία συμμετέχουν ουδετερόφιλα, Τ-λεμφοκύτταρα, μακροφάγα και ηωσινόφιλα. Σκοπός αυτής της μελέτης ήταν να ερευνήσει τη συμμετοχή των κυτταροτοξικών $CD8^+$ λεμφοκυττάρων στη φλεγμονώδη διαδικασία που χαρακτηρίζει τη νόσο. Ιδιαίτερα μελετήθηκαν η έκφραση της περφορίνης των κυτταροτοξικών $CD8^+$ λεμφοκυττάρων και η κυτταροτοξική τους δραστηριότητα. Στη μελέτη συμμετείχαν 36 άνδρες καπνιστές με Χ.Α.Π., 25 άνδρες καπνιστές χωρίς Χ.Α.Π. και 10 υγιείς μη καπνιστές. Ο προσδιορισμός των κυτταροτοξικών $CD8^+$ λεμφοκυττάρων στο πτύελο πραγματοποιήθηκε με ανοσοκυτταροχημεία χρησιμοποιώντας μονοκλωνικά αντισώματα αντί- $CD3$ -F.I.T.C και αντί- $CD8$ -F.I.T.C. Η έκφραση της περφορίνης αξιολογήθηκε με κυτταρομετρία ροής, χρησιμοποιώντας αντίσωμα αντί - περφορίνη-F.I.T.C. Η κυτταροτοξική δραστηριότητα των $CD8^+$ λεμφοκυττάρων προσδιορίστηκε επώάζοντας τα $CD8^+$ λεμφοκύτταρα με κύτταρα στόχους (K562). Βρέθηκε ότι το ποσοστό και ο απόλυτος αριθμός των κυτταροτοξικών $CD8^+$ λεμφοκυττάρων ήταν στατιστικά σημαντικά αυξημένος στους καπνιστές με Χ.Α.Π. σε σύγκριση με τους καπνιστές χωρίς Χ.Α.Π. ($p = 0,005$) και τους υγιείς μη καπνιστές ($p = 0,0001$). Οι καπνιστές με Χ.Α.Π. παρουσίασαν επίσης στατιστικά σημαντική αύξηση της έκφρασης της περφορίνης και αυξημένη κυτταροτοξική δραστηριότητα των $CD8^+$ λεμ-

φοκυττάρων σε σχέση με τις άλλες δύο ομάδες της μελέτης ($p < 0,05$). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα $CD8^+$ λεμφοκύτταρα στο πτύελο ασθενών με Χ.Α.Π. εκφράζουν μεγαλύτερη κυτταροτοξικότητα σε σχέση με τους καπνιστές χωρίς Χ.Α.Π. Η κυτταροτοξικότητα πιθανόν ασκείται μέσω της αυξημένης απελευθέρωσης περφορίνης. Πνεύμων 2002, 15(1)78-87.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (Χ.Α.Π.) χαρακτηρίζεται από μη πλήρως αναστρέψιμη απόφραξη των αεραγωγών, η οποία σχετίζεται με μια παθολογική φλεγμονώδη αντίδραση των αεραγωγών σε διάφορα τοξικά σωματίδια ή αέρια¹. Αν και το κάπνισμα είναι ο κύριος παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη της Χ.Α.Π., μόνο μια υποομάδα καπνιστών αναπτύσσουν κλινικά σημαντική απόφραξη των αεραγωγών². Φλεγμονώδη κύτταρα, όπως ουδετερόφιλα, μακροφάγα και Τ-λεμφοκύτταρα (ιδιαίτερα κυτταροτοξικά $CD8^+$), συμμετέχουν στη φλεγμονώδη διαδικασία που χαρακτηρίζει τη νόσο. Τα ενεργοποιημένα φλεγμονώδη κύτταρα με τη σειρά τους απελευθερώνουν μια ποικιλία μεσολαβητών, που περιλαμβάνουν την ιντερλευκίνη-8 (IL-8), τον παράγοντα νέκρωσης όγκου (TNF- α), τα λευκοτριένια B4 (LTB4) καθώς και άλλους παράγοντες οι οποίοι είναι ικανοί να καταστρέψουν το πνευμονικό παρέγχυμα και να συντηρήσουν την ουδετεροφιλική φλεγμονή των αεραγωγών που χαρακτηρίζει τη νόσο³⁻⁵.

Τα κυτταροτοξικά $CD8^+$ λεμφοκύτταρα πιστεύεται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της Χ.Α.Π. Πρόσφατα αρκετές μελέτες σε βιοψίες βρόγχου εστιάζονται στο ρόλο των παραπάνω κυττάρων στους κεντρικούς και περιφερικούς αεραγωγούς καπνιστών με Χ.Α.Π.^{6,7} Σε σύγκριση με καπνιστές, που δεν παρουσιάζουν περιορισμό της ροής του αέρα, οι ασθενείς με Χ.Α.Π. έχουν αυξημένους αριθμούς κυτταροτοξικών $CD8^+$ λεμφοκυττάρων στους μικρούς και στους μεγάλους αεραγωγούς. Τα παραπάνω κύτταρα έχουν βρεθεί επίσης να διηθούν το πνευμονικό παρέγχυμα και τις πνευμονικές αρτηρίες, αποδεικνύοντας τη συστηματικότητα της φλεγμονώδους αντίδρασης που οδηγεί στην ανάπτυξη της νόσου. Η επικράτηση των $CD8^+$ κυττάρων, τόσο στις βιοψίες βρόγχου όσο και στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα, αποτελεί μια σαφή διαφορά μεταξύ καπνιστών με Χ.Α.Π. και καπνιστών χωρίς περιορισμό

της ροής του αέρα. Παρ' όλα αυτά, ο ακριβής ρόλος και ο μηχανισμός δράσης των κυτταροτοξικών $CD8^+$ λεμφοκυττάρων στη φλεγμονώδη διαδικασία που χαρακτηρίζει τη νόσο παραμένουν αδιευκρίνιστοι. Μελέτες που επικεντρώνονται στην κυτταροτοξική

δραστηριότητα των $CD8^+$ λεμφοκυττάρων, αναφέρουν ότι τα συγκεκριμένα κύτταρα μπορούν να προκαλέσουν κυτταρόλυση και απόπτωση των κυψελιδικών επιθηλιακών κυττάρων μέσω της απελευθέρωσης περφορίνης και του παράγοντα νέκρωσης όγκου (TNF- α)⁸.

Στην παρούσα μελέτη ερευνήθηκε η συμβολή των κυτταροτοξικών $CD8^+$ κυττάρων στην παθογένεια της χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας σε δείγματα πτυέλων ασθενών με Χ.Α.Π. που είχαν ληφθεί κατόπιν διαδικασίας πρόκλησης, με εισπνοή αερολύματος υπέρτονου διαλύματος χλωριούχου νατρίου. Η κυτταροτοξική δραστηριότητα των $CD8^+$ λεμφοκυττάρων σε καπνιστές με Χ.Α.Π. συγκρίθηκε με αυτή καπνιστών χωρίς Χ.Α.Π. και υγιών μη καπνιστών.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

Μελετήθηκαν συνολικά 71 άτομα. Από αυτά, τα τριάντα έξι (36) ήταν άνδρες καπνιστές με Χ.Α.Π. Η διάγνωσή τους βασίστηκε σε δημοσιευμένα κριτήρια ομοφωνίας². Οι ασθενείς δεν είχαν οξεία παρόξυνση της νόσου τις τελευταίες τέσσερις εβδομάδες πριν τη μελέτη και κανένας δεν είχε λάβει αντιβιοτικά ή κορτικοστεροειδή συστηματικά κατά την αντίστοιχη χρονική περίοδο. Επιπρόσθετα μελετήθηκε μια ομάδα 25 καπνιστών χωρίς Χ.Α.Π. και μια ομάδα 10 υγιών μη καπνιστών. Οι εθελοντές καπνιστές χωρίς Χ.Α.Π. δεν είχαν ιστορικό καρδιακής ή αναπνευστικής νόσου και είχαν φυσιολογική πνευμονική λειτουργία. Το πρωτόκολλο εγκρίθηκε από την Επιτροπή Δεοντολογίας του Νοσοκομείου και όλοι οι συμμετέχοντες στη μελέτη έδωσαν τη συγκατάθεσή τους.

Σπιρομέτρηση

Η σπιρομέτρηση πραγματοποιήθηκε με ένα αυτοματοποιημένο σύστημα (Master Lab, Jaeger 2.12, Germany) σύμφωνα με προτυποποιημένες οδηγίες⁹. Οι συμμετέχοντες δεν χρησιμοποίησαν βρογχοδιασταλτικά

βραχείας δράσεως τις τελευταίες 6 ώρες πριν από τις μετρήσεις και δεν είχαν καπνίσει ή πει τσάι ή καφέ το πρωί της μέτρησης. Χρησιμοποιήθηκαν οι προβλεπόμενες τιμές που αναφέρονται στα νέα πρότυπα των δοκιμασιών της πνευμονικής λειτουργίας⁹.

Πρόκληση πτυέλων (Sputum induction)

Η πρόκληση πτυέλων έγινε με εισπνοή υπέρτονου διαλύματος χλωριούχου νατρίου, το οποίο παραγόταν από νεφελοποιητή υπερήχων (Ultra Neb 2000, DeVilbiss, Sormeset, PA, USA), σύμφωνα με προτυποποιημένη μέθοδο¹⁰. Ο νεφελοποιητής ρυθμίστηκε σε ροή 1,5 ml/min και τα παραγόμενα σωματίδια είχαν διάμετρο 4,5 μm. Νεφελοποιήθηκαν διαλύματα χλωριούχου νατρίου 3%, 4% και 5% σε θερμοκρασία δωματίου (20-25° C) και χορηγήθηκαν με σωλήνα μήκους 100 cm και εσωτερικής διαμέτρου 22 mm. Τα δείγματα πτυέλων τοποθετήθηκαν σε αποστειρωμένο πλαστικό τρυβλίο και σε θερμοκρασία 4° βαθμών Κελσίου μέχρι την επεξεργασία τους. Η διαδικασία της πρόκλησης τερματιζόταν μετά από τρεις περιόδους εισπνοής υπέρτονου διαλύματος χλωριούχου νατρίου διάρκειας 7 min ή μετά από πτώση του FEV₁ >20% από την αρχική τιμή του ασθενούς.

Επεξεργασία πτυέλων

Το πτύελο επεξεργαζόταν μέσα σε 15 min από τον τερματισμό της διαδικασίας της πρόκλησης. Στη συνέχεια τα βύσματα βλέννης απομακρύνθηκαν από το πτύελο ακολουθώντας συγκεκριμένο πρωτόκολλο¹⁰. Μετρήθηκε το βάρος των βυσμάτων και προστέθηκε διθειοθρεϊτόλη 0,1% (Sputolysin, Calbiochem, La Jolla, CA, USA) διπλάσιου βάρους από το βάρος των βυσμάτων. Τα δείγματα ανακινήθηκαν σε αναμικτήρα μέσα σε ένα ευρύ πλαστικό δοκιμαστικό σωλήνα και τοποθετήθηκαν σε ανακινούμενο υδατόλουτρο θερμοκρασίας 37° C για 15 min ώστε να εξασφαλιστεί πλήρης ομογενοποίηση. Μετά την πλήρη τους ομογενοποίηση προστέθηκε καλλιεργητικό διάλυμα (R.P.M.I.-1640) και 10% F.C.S. (Fetal calf serum) όγκου διπλάσιου από τον όγκο του ομογενοποιημένου δείγματος. Στη συνέχεια τα δείγματα διηθήθηκαν μέσω ενός νάιλον φίλτρου με διάμετρο πόρων 48 μm (Thompson, Ontario, Canada) και ανακινήθηκαν σε αναμικτήρα. Στο φιλτραρισμένο δείγμα μετρήθηκε ο ολικός αριθμός κυττάρων και ελέγχθηκε η βιωσιμότητα

των κυττάρων με τη μέθοδο αποκλεισμού με Trypan Blue. Στη συνέχεια το εναιώρημα φυγοκεντρήθηκε στα 400 g για 5 min και το ίζημα επαναδιαλύθηκε με 500 μl R.P.M.I. – 1640 και 10% F.C.S. Το υπερκείμενο αναρροφήθηκε και αποθηκεύθηκε σε σωληνάκια Eppendorf στους – 80° C.

Τα κύτταρα αραιώθηκαν σε συγκέντρωση $0,35 \times 10^6$ κύτταρα/ml. Ακολούθησε φυγοκέντρωση χρησιμοποιώντας 50 μl του εναιωρήματος των κυττάρων τα οποία τοποθετήθηκαν στους υποδοχείς κυτταροφυγόκεντρου (Aerospray, Wescor, Utah, USA) στις 3000 στροφές με βραδεία επιβράδυνση για 5 min. Ακολούθησε χρώση σε δύο αντικειμενοφόρες πλάκες με May – Grunwald/Giemsa (M.G.G.) για προσδιορισμό του κυτταρικού τύπου. Στη συνέχεια μετρήθηκαν 500 μη πλακώδη κύτταρα από κάθε δείγμα με τυφλό τρόπο από δύο παρατηρητές. Ο μέσος όρος των δύο υπολογισμών χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό του απόλυτου αριθμού κυττάρων ανά γραμμάριο του αρχικού εναιωρήματος πτυέλων.

Απομόνωση των λεμφοκυττάρων από τα πτύελα

Μετά την παραπάνω διαδικασία το ίζημα των κυττάρων επαναδιαλύθηκε σε R.P.M.I.-1640 και 10% F.C.S. ενισχυμένο με 100 U/ml πενικιλίνης, 100 mg/ml στρεπτομυκίνης και 0,02 mg/ml φλουκοναζόλης. Στη συνέχεια τα λεμφοκύτταρα απομονώθηκαν χρησιμοποιώντας σύστημα κλιμακούμενης πυκνότητας (Lymphoprep), (Nycomed, Oslo). Τα λεμφοκύτταρα που απομονώθηκαν τοποθετήθηκαν σε πινακίδια 24 βοθρίων σε συγκέντρωση 2×10^6 κύτταρα/ml και διεγέρθηκαν επί 5 ώρες στους 37° C υπό 5% CO₂, μέσα σε R.P.M.I.-1640 και 10% F.C.S. παρουσία phorbol 12-myristate 13-acetate (P.M.A.) 25 ng/ml, ionomycin 1 μmole/ml και brefeldin A 10 μg/ml (Sigma). Στη συνέχεια τα λεμφοκύτταρα φυγοκεντρήθηκαν σε κυτταροφυγόκεντρο, το ίζημα στέγνωσε στον αέρα και φυλάχτηκε στους – 80° C.

Ανοσοκυτταροχημική ανάλυση

Μέτρηση των κυτταροτοξικών CD8⁺ λεμφοκυττάρων

Ο προσδιορισμός των CD3⁺, CD4⁺ και CD8⁺ λεμφοκυττάρων έγινε με ανοσοκυτταροχημεία¹¹. Μετά την απόψυξή τους, τα κύτταρα μονιμοποιήθηκαν σε ακετόνη για 10 λεπτά, επανυδατώθηκαν με P.B.S (phosphate buffer saline) και επεξεργάστηκαν για χρώση¹². Τα anti-

CD3, anti-CD4 (Caltag) “αντί-ανθρώπινα” μονοκλωνικά αντισώματα από ποντίκι και το anti-mouse IgG-F.I.T.C [ανοσοσφαιρίνη έναντι της IgG ποντικίου σημασμένη με F.I.T.C. (fluoroisothiocyanate)] αντίσωμα από κουνέλι χρησιμοποιήθηκαν σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.

Ανίχνευση της περφορίνης

A) Σήμανση των κυττάρων

Η έκφραση της περφορίνης των κυτταροτοξικών CD8⁺ κυττάρων ανιχνεύθηκε με κυτταρομετρία ροής. Τα παρακάτω “αντί-ανθρώπινα” μονοκλωνικά αντισώματα από ποντίκι, χρησιμοποιήθηκαν για τη σήμανση των κυττάρων: anti-CD3-PCy5, anti-CD8-(PE) και anti-perforin-F.I.T.C. (Serotec). Χρησιμοποιήθηκαν επίσης και μη σημασμένα anti-human-perforin αντισώματα για την ενδοκυττάρια ανίχνευση της περφορίνης. Επίσης anti-mouse αντισώματα από ποντίκι, ισотυπικά ανάλογα με τα F.I.T.C-, PE-, PCy-5 συζευγμένα αντισώματα, χρησιμοποιήθηκαν σαν αντισώματα ελέγχου.

Για την ενδοκυττάρια σήμανση της περφορίνης, τα CD8⁺ λεμφοκύτταρα (500.000 κύτταρα) ξεπλύθηκαν με P.B.S και 10% F.C.S. και επώασθηκαν με anti-CD8-PE για 30 λεπτά στους 4° C. Μετά από διπλό ξέπλυμα με P.B.S/F.C.S τα κύτταρα μονιμοποιήθηκαν με το “kit” μονιμοποίησης Intraprep (Beckman-Coulter) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Στη συνέχεια, τα σημασμένα αντισώματα κατά της περφορίνης χρησιμοποιήθηκαν σε μοριακή περίσσεια ως μονάδες ελέγχου, προστέθηκε anti-perforin-F.I.T.C. χωρίς ξέπλυμα και έγινε επώαση για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου¹³. Μετά τη χρώση όλα τα δείγματα ξεπλύθηκαν με διάλυμα P.-B.S. και F.C.S., το ίζημα επαναδιαλύθηκε με 1000 μl διαλύματος παραφορμαλδεύδης 2% και τα δείγματα φυλάχθηκαν στους 4° C μέχρι την ανάλυσή τους.

B) Ανάλυση με κυτταρομετρία ροής

Τα δείγματα (λεμφοκύτταρα πτυέλου) που προετοιμάστηκαν όπως περιγράφηκε παραπάνω, αναλύθηκαν σε κυτταρομετρητή ροής EPICS ELITE. Τουλάχιστον 100.000 κύτταρα αναλύθηκαν σε κάθε περίπτωση. Το κατάλληλο σήμα ελέγχου χρησιμοποιήθηκε για απόσβεση του φόντου. Τα ποσοστά μονοχρωματικών, διχρωματικών και τριχρωματικών κυττάρων και η σχετική ένταση του φωσφορισμού (Relative Fluorescence Inte-

nsity-R.F.I.) που αντιστοιχούσε στην πυκνότητα του αντιγόνου, υπολογίστηκαν (Εικόνες 3, 4).

Προσδιορισμός της κυτταροτοξικής δραστηριότητας των CD8⁺ λεμφοκυττάρων

Προκειμένου να αναγνωρίσουμε εάν τα CD8⁺ κύτταρα είναι λειτουργικά ικανά να αναγνωρίσουν καρκινικά κύτταρα και να δράσουν σαν κυτταροτοξικά κύτταρα εφαρμόσαμε τεχνικές κυτταροτοξικότητας. Τα κύτταρα στόχοι (K562) επώασθηκαν μαζί με τα λεμφοκύτταρα σε αναλογίες 3/1 έως 50/1 για χρονικό διάστημα τεσσάρων ωρών και σε θερμοκρασία 37° C. Η κυτταροτοξικότητα καθορίστηκε σύμφωνα με προτυποποιημένη μέθοδο.

Στατιστική ανάλυση

Τα κλινικά χαρακτηριστικά παρουσιάζονται ως μέση τιμή ενώ τα κυτταρικά ως διάμεσος (μέγιστος-ελάχιστος). Οι διαφορές ανάμεσα στις τρεις ομάδες των ατόμων της μελέτης αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας το τεστ Kruskal Wallis με συγκρίσεις ανά ζεύγη (Posthoc ανάλυση) που έγιναν με τη μέθοδο Conover-Inman. Η σχέση ανάμεσα στις κυτταρικές και φυσιολογικές μεταβλητές αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας το συντελεστή συσχέτισης του Sperman. Το στατιστικό λογισμικό StartSDirect χρησιμοποιήθηκε για όλες τις αναλύσεις. Τιμή $p < 0,05$ θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα δημογραφικά και σπυρομετρικά χαρακτηριστικά των ατόμων φαίνονται στον πίνακα 1. Οι ασθενείς με Χ.Α.Π. είχαν απόφραξη των αεραγωγών, όπως φαίνεται από τη στατιστικά σημαντικά χαμηλότερη τιμή του δυναμικά εκπνεόμενου όγκου αέρα στο πρώτο δευτερόλεπτο [F.E.V₁ (ως % του προβλεπόμενου)], σε σχέση με τις ομάδες των ατόμων χωρίς Χ.Α.Π. ($p < 0,01$), (Πίνακας 1). Η κυτταρική σύνθεση του πτυέλου παρουσιάζεται στον πίνακα 2.

Υποπληθυσμοί των λεμφοκυττάρων στο πτύελο

Τα ποσοστά και οι απόλυτοι αριθμοί των CD8⁺ λεμφοκυττάρων ήταν σημαντικά υψηλότερα στους ασθενείς με Χ.Α.Π. σε σχέση τόσο με τους καπνιστές χωρίς Χ.Α.Π. όσο και με τους υγιείς μη καπνιστές (Πίνακας

Πίνακας 1. Δημογραφικά και σπιρομετρικά δεδομένα των ομάδων που μελετήθηκαν

	Ομάδα Α ΧΑΠ	Ομάδα Β Καπνιστές (χωρίς ΧΑΠ)	Ομάδα Γ Μη καπνιστές (υγιείς)
Αριθμός	36	25	10
Φύλο (Α/Γ)	36/0	26/0	10/0
Ηλικία (x±SD) χρόνια	61±6.5	55.5±6.6	49±9
Κάπνισμα [πακέτα x χρόνια (x±SD)]	50±10	45±10	-
FEV1/FVC	56±11	84±6*	87±5*
FEV1 (% προβλ.)	42.7±18.9	91±6.4*	100±9**
ΔFEV1 (% προβλ.) (μετά βρογχοδιαστολή)	3.4±1.1	5±1.4	4.2±0.8

*p<0.01, **p<0.001

3). Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των καπνιστών χωρίς Χ.Α.Π. και των υγιών μη καπνιστών όσον αφορά στο ποσοστό και τον απόλυτο αριθμό των CD8⁺ κυττάρων (Πίνακας 3). Σημαντικά χαμηλότερα ποσοστά CD4⁺ κυττάρων βρέθηκαν στους ασθενείς με Χ.Α.Π. σε σύγκριση με τους καπνιστές χωρίς Χ.Α.Π. (p = 0,0001) και τους υγιείς μη καπνιστές (p = 0,0001), (Πίνακας 3). Αντιθέτως, δεν βρέθηκε σημαντική διαφορά στα CD4⁺ κύτταρα ανάμεσα στους καπνιστές χωρίς νόσο και τους υγιείς μη καπνιστές. Οι ασθενείς με Χ.Α.Π. είχαν σημαντικά χαμηλότερο λόγο CD4⁺/CD8⁺ σε σχέση είτε με τους καπνιστές χωρίς περιορισμό της ροής του αέρα (p = 0,001), είτε με τους υγιείς μη καπνιστές (p=0,008), (Πίνακας 3). Αντιθέτως, ο λόγος CD4⁺/CD8⁺ δεν διέφερε μεταξύ καπνιστών

χωρίς Χ.Α.Π. και υγιών μη καπνιστών, (Πίνακας 3).

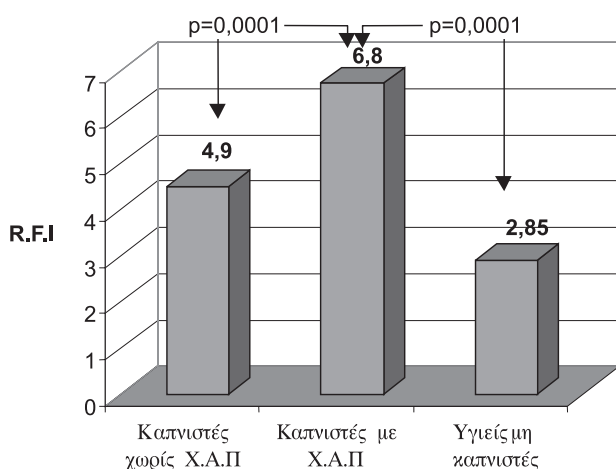
Έκφραση περφορίνης και κυτταροτοξικότητα των CD8⁺ Τ-λεμφοκυττάρων

Η έκφραση της περφορίνης, εκφραζόμενη ως σχετική ένταση του φωσφορισμού (Relative fluorescence intensity-R.F.I), ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη στους καπνιστές με Χ.Α.Π. σε σχέση με τους καπνιστές χωρίς νόσο, [διάμεσος (ελάχιστος-μέγιστος)] [6,8(5,7-8,2)] έναντι [4,9(2-6,5)], (p=0,0001) και τους υγιείς μη καπνιστές [2,85(2-4,1)], (p=0,0001). Επίσης η έκφραση της περφορίνης ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη στους καπνιστές χωρίς περιορισμό της ροής του αέρα [4,9 (2-6,5)] σε σχέση με τους υγιείς [2,85(2- 4,1)], (p=0,0001) (Εικόνες 1, 3, 4).

Η κυτταροτοξικότητα (%) των CD8⁺ λεμφοκυττάρων βρέθηκε να είναι στατιστικά σημαντικά υψηλότερη στους καπνιστές με Χ.Α.Π. σε σχέση είτε με τους καπνιστές χωρίς Χ.Α.Π. [διάμεσος (ελάχιστος-μέγιστος)] [38(12-48)] έναντι [18(11-36)], (p=0,001) και τους μη καπνιστές υγιείς [8(5-15)], p=0,001. Το ίδιο βρέθηκε να ισχύει όσον αφορά στη σχέση μεταξύ καπνιστών χωρίς Χ.Α.Π. [18(11-36)] και υγιών μη καπνιστών [8 (5-15)], p=0,001 (Εικόνα 2).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι το κάπνισμα είναι η κύρια αιτία της φλεγμονώδους διαδικασίας που χαρακτηρίζει τη χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια¹⁴⁻¹⁹. Παρ' όλα αυτά μόνο το 15% των καπνιστών αναπτύσσουν κλινικά σημαντική νόσο²⁰. Διαφορές στην κυτταρική σύνθεση ανάμεσα στους καπνιστές που αναπτύσ-



Εικόνα 1. Έκφραση περφορίνης των κυτταροτοξικών CD8⁺ λεμφοκυττάρων σε καπνιστές με ΧΑΠ, καπνιστές μη ΧΑΠ και υγιείς μη καπνιστές (R.F.I=Relative fluorescence intensity).

Πίνακας 2. Κυτταρικοί πληθυσμοί στα πτύελα ασθενών με ΧΑΠ, καπνιστών χωρίς ΧΑΠ και μη καπνιστών υγιών. Οι τιμές εκφράζονται σαν διάμεσος (ελάχιστη - μέγιστη), ΜΣ:Μη σημαντικό.

	ΚΑΠΝΙΣΤΕΣ		ΜΗ ΚΑΠΝΙΣΤΕΣ		P (ANOVA)	P (Posthoc analysis)
	ΧΑΠ (Ομάδα Α, n=36)	Χωρίς ΧΑΠ (Ομάδα Β n=25)	(Ομάδα Γ, n=10)			
Ολικός αριθμός x10 ⁷ cells/gr	8.15 (1.1-18)	4.4 (0.66-7.7)	1.13 (0.21-2.2)	0.0001		A vs. B: 0.001, B vs. C: 0.05, A vs. C: 0.0001
Ουδετερόφιλα, x10 ⁷ cells/gr	6.35 (0.33-16.87)	1.73 (0.31-4.85)	0.41 (0.1-1.2)	0.0001		A vs. B: 0.0001, B vs. C: ΜΣ, A vs. C: 0.0001
Μακροφάγα, x10 ⁷ cells/gr	0.87 (0.087-3.37)	1.36 (0.05-4.41)	0.60 (0.09-1.5)	0.01		A vs. B: ΜΣ, B vs. C: 0.008, A vs. C: ΜΣ
Λεμφοκύτταρα, x10 ⁷ cells/gr	0.13 (0-1.24)	0.11 (0.005 - 0.8)	0.07 (0.007-0.15)	0.1		A vs. B: ΜΣ, B vs. C: ΜΣ, A vs. C: 0.05
Ηωσινοφίλα, x10 ⁷ cells/gr	0.09 (0-2.016)	0.08 (0-1.4)	0.006 (0-0.022)	0.2		A vs. B: ΜΣ, B vs. C: ΜΣ, A vs. C: ΜΣ
Ουδετερόφιλα, %	80.7 (30-96)	54.7 (17-96)	37.9 (27-53)	0.0001		A vs. B: 0.0001, B vs. C: 0.02, A vs. C: 0.0001
Μακροφάγα, %	14.5 (1-70)	38.4 (2-80)	53.5 (39-68)	0.0001		A vs. B: 0.0001, B vs. C: 0.01, A vs. C: 0.0001
Λεμφοκύτταρα, %	1.6 (0-9.4)	3.1 (0.3-10)	6.85 (2.6-12)	0.002		A vs. B: ΜΣ, B vs. C: 0.009, A vs. C: 0.0001
Ηωσινοφίλα, %	1.2 (0-18)	2.2 (0-38)	0.85 (0-2.2)	0.00		A vs. B: ΜΣ, B vs. C: 0.01, A vs. C: ΜΣ

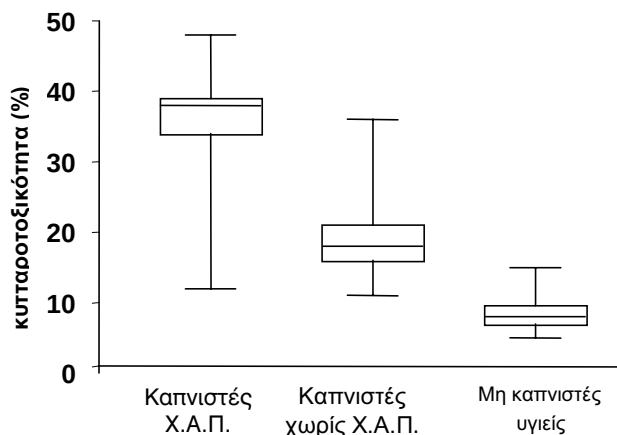
Πίνακας 3. Υποπληθυσμοί Τ-λεμφοκυττάρων στα πτύελα ασθενών με ΧΑΠ, καπνιστών χωρίς ΧΑΠ και μη καπνιστών. Οι τιμές εκφράζονται σαν διάμεσος (ελάχιστη - μέγιστη), ΜΣ:Μη σημαντικό.

	ΚΑΠΝΙΣΤΕΣ		ΜΗ ΚΑΠΝΙΣΤΕΣ		P (ANOVA)	P (Posthoc analysis)
	ΧΑΠ (Ομάδα Α, n=36)	Χωρίς ΧΑΠ (Ομάδα Β n=25)	(Ομάδα Γ, n=10)			
CD8, x10 ⁴ cells/gr	40.9 (2-322)	13.9 (1-82)	16.9 (1.6-29)	0.006		A vs. B: 0.005, B vs. C: ΜΣ, A vs. C: 0.01
CD4, x10 ⁴ cells/gr	44 (2-483)	38.9 (4-415)	32.4 (5-94)	0.4		A vs. B: ΜΣ, B vs. C: ΜΣ, A vs. C: ΜΣ
CD8, % of lymphocytes	46 (24-58)	31 (4-50)	27.4 (24-41)	0.0001		A vs. B: 0.0001, B vs. C: ΜΣ, A vs. C: 0.0001
CD4, x10 ⁴ cells/gr	52 (40-71)	64 (3-86)	71 (42-77)	0.0001		A vs. B: 0.0001, B vs. C: ΜΣ, A vs. C: 0.0001
CD4/CD8	1.1 (0.7-2.5)	2.01 (1-7.4)	2.44 (1.4-3.3)	0.0001		A vs. B: 0.0001, B vs. C: ΜΣ, A vs. C: 0.008

σουν Χ.Α.Π. και σε αυτούς που δεν αναπτύσσουν τη νόσο έχουν αναφερθεί σε βρογχικές βιοψίες και στο βρογχικό έκπλυμα ^{6,7}. Από τις μελέτες αυτές γίνεται εμφανές ότι τα κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα ($CD8^+$) θα μπορούσαν να έχουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της νόσου.

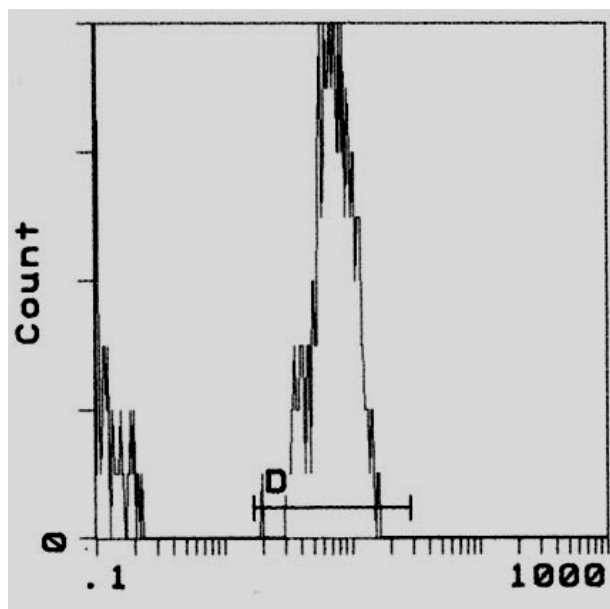
Χρησιμοποιήσαμε τη διαδικασία της πρόκλησης πτυέλων για να ερευνήσουμε τις διαφορές στις κυτταρικές παραμέτρους σε ασθενείς με Χ.Α.Π. και να τις συγκρίνουμε με αυτές σε καπνιστές χωρίς Χ.Α.Π. και υγιείς μη καπνιστές (Πίνακας 2). Ιδιαίτερα μελετήσαμε τα κυτταροτοξικά Τ-λεμφοκύτταρα ($CD8^+$), την έκφραση της περφορίνης τους και την κυτταροτοξική τους δραστηριότητα στις τρεις ομάδες. Τα ευρήματα αυτής της μελέτης έδειξαν ότι η πρόκληση πτυέλων αποτελεί μια μη επεμβατική, ασφαλή μέθοδο, που μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη μελέτη της φλεγμονής των αεραγωγών που χαρακτηρίζει τη νόσο. Τα αποτελέσματά μας επίσης έδειξαν ότι οι ασθενείς με Χ.Α.Π. παρουσιάζουν μεγαλύτερη κυτταροβοθρία $CD8^+$ λεμφοκυττάρων, σε σχέση με τις άλλες δύο ομάδες της μελέτης. Βρέθηκε επίσης ότι η κυτταροτοξική δραστηριότητα των $CD8^+$ κυττάρων ήταν μεγαλύτερη στους καπνιστές με Χ.Α.Π. Το ίδιο παρατηρήθηκε και στην περίπτωση της έκφρασης της περφορίνης.

Το ποσοστό και ο απόλυτος αριθμός των κυτταροτοξικών $CD8^+$ λεμφοκυττάρων στο πτύελο στους καπνιστές με Χ.Α.Π. ήταν σημαντικά υψηλότερα σε σύγκριση

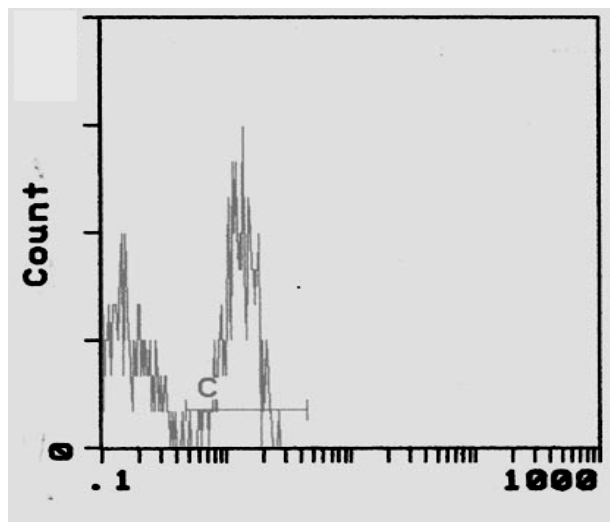


Εικόνα 2. Κυτταροτοξικότητα (%) των $CD8^+$ λεμφοκυττάρων σε καπνιστές με ΧΑΠ, καπνιστές χωρίς ΧΑΠ και υγιείς μη καπνιστές.

με τους καπνιστές χωρίς Χ.Α.Π. και τους υγιείς μη καπνιστές (Πίνακας 3). Περίπου το 50% των λεμφοκυττάρων στο πτύελο ασθενών με Χ.Α.Π. ήταν κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα ($CD8^+$). Τα αποτελέσματά μας είναι



Εικόνα 3. Έκφραση περφορίνης των κυτταροτοξικών $CD8^+$ λεμφοκυττάρων σε καπνιστή χωρίς ΧΑΠ (κυτταρομετρητής EPICS ELITE).



Εικόνα 4. Έκφραση περφορίνης των κυτταροτοξικών $CD8^+$ λεμφοκυττάρων σε καπνιστή με ΧΑΠ (κυτταρομετρητής EPICS ELITE).

σε συμφωνία με ήδη γνωστές μελέτες σε βιοψίες βρόγχου, επισημαίνοντας τη συμβολή των παραπάνω κυττάρων στην παθογένεια της νόσου^{6,7}. Επιπλέον, ο λόγος των κυττάρων $CD4^+/CD8^+$ βρέθηκε να είναι στατιστικά σημαντικά χαμηλότερος σε ασθενείς με Χ.Α.Π, σε σύγκριση με τους καπνιστές χωρίς περιορισμό της ροής του αέρα και τους υγιείς μη καπνιστές. Η αναλογία $CD4^+/CD8^+$ δε διέφερε ανάμεσα στους καπνιστές χωρίς Χ.Α.Π. και τους υγιείς μη καπνιστές. Τα παραπάνω ευρήματα δείχνουν ότι η παθολογική φλεγμονώδης διεργασία που χαρακτηρίζει τη χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια θα μπορούσε να είναι το αποτέλεσμα μιας διαταραχής της ισορροπίας ανάμεσα στα κυτταροτοξικά $CD8^+$ και τα $CD4^+$ λεμφοκύτταρα.

Επιπλέον μελετήσαμε την κυτταροτοξική δραστηριότητα των $CD8^+$ λεμφοκυττάρων επωάζοντάς τα με καρκινικά κύτταρα. Βρέθηκε ότι τα $CD8^+$ λεμφοκύτταρα στους καπνιστές με Χ.Α.Π, είναι περισσότερο κυτταροτοξικά σε σχέση με εκείνα των καπνιστών χωρίς αποφρακτική συνδρομή και των υγιών μη καπνιστών. Τα $CD8^+$ λεμφοκύτταρα εκφράζουν έντονη κυτταροτοξική δραστηριότητα στους καπνιστές με Χ.Α.Π, η οποία φαίνεται να συμβάλλει αρχικά στην άμυνα έναντι των ιογενών λοιμώξεων. Οι μελέτες της “αντιϊικής” δραστηριότητας των $CD8^+$ κυττάρων δείχνουν ότι η κυτταρολυτική αυτή δραστηριότητα είναι αναγκαία και ικανή για τη λύση των ιογενών μολυσμένων κυττάρων στόχων²⁰. Σε μια πρόσφατη ανασκόπηση η Saetta και οι συνεργάτες της αναφέρουν ότι η άθροιση των κυτταροτοξικών $CD8^+$ λεμφοκυττάρων που παρατηρείται στη Χ.Α.Π. θα μπορούσε να είναι το αποτέλεσμα της απάντησης σε ένα αυτοαντιγονικό ερέθισμα που προκαλείται από το κάπνισμα και όχι απαραίτητα απάντηση σε ιογενή λοίμωξη²⁰.

Για να ερευνήσουμε περαιτέρω την κατάσταση της δραστηριότητας των κυτταροτοξικών $CD8^+$ λεμφοκυττάρων στα πτύελα των καπνιστών με Χ.Α.Π. μελετήσα-

με την έκφραση της περφορίνης σε αυτά τα κύτταρα. Η έκφραση της περφορίνης προσδιορίστηκε με κυτταρομετρία ροής και εκφράστηκε ως σχετική ένταση φθορισμού (R.F.I= Relative Fluorescence Intensity). Τα ευρήματά μας δείχνουν ότι η έκφραση της περφορίνης των κυτταροτοξικών $CD8^+$ λεμφοκυττάρων στους καπνιστές με νόσο ήταν μεγαλύτερη συγκριτικά με εκείνους χωρίς Χ.Α.Π. και τους υγιείς μη καπνιστές. Η αυξημένη έκφραση περφορίνης που παρατηρήθηκε στους καπνιστές με Χ.Α.Π. αποτελεί ένα ισχυρό στοιχείο ότι τα $CD8^+$ κύτταρα είναι ενεργοποιημένα σε αυτούς. Είναι γνωστό ότι τα ενεργοποιημένα κυτταροτοξικά $CD8^+$ λεμφοκύτταρα προκαλούν βλάβη του κυψελιδικού επιθηλίου μέσω απελευθέρωσης περφορίνης και άλλων πρωτεολυτικών ενζύμων καθώς και μέσω της έκκρισης του παράγοντα νέκρωσης όγκου (TNF- α)^{21,22}. Ο παραπάνω μηχανισμός θα μπορούσε να ερμηνεύσει τον τρόπο δράσης των $CD8^+$ λεμφοκυττάρων στην παθογένεια της νόσου.

Η παρουσία ενεργοποιημένων $CD8^+$ κυττάρων στα μεσοδιαστήματα των εξάρσεων σε ασθενείς με Χ.Α.Π, υποδηλώνει ότι αυτά δεν αντιδρούν μόνο σε ένα λοιμογόνο παράγοντα, αλλά ίσως και σε ενδογενή ερεθίσματα²⁰. Το κάπνισμα φαίνεται ότι δεν αποτελεί το μόνο ερέθισμα που διεγείρει τα κυτταροτοξικά $CD8^+$ λεμφοκύτταρα. Ίσως άλλα απροσδιόριστα ερεθίσματα ή γενετικοί παράγοντες ευθύνονται για την “υπερανταπόκριση” των $CD8^+$ κυττάρων στη φλεγμονή που χαρακτηρίζει τη νόσο. Τα ευρήματά μας δείχνουν μια διαφορετική φλεγμονώδη ανταπόκριση στο κάπνισμα τόσο στο επίπεδο της κυτταροτοξικής δραστηριότητας των $CD8^+$ λεμφοκυττάρων, όσο και στο επίπεδο της έκφρασης της περφορίνης μεταξύ καπνιστών με Χ.Α.Π., καπνιστών χωρίς περιορισμό της ροής του αέρα και υγιών μη καπνιστών. Απαιτείται όμως περαιτέρω έρευνα για τη διεύκρινση του μηχανισμού δράσης των κυτταροτοξικών $CD8^+$ στην παθογένεια της νόσου.

SUMMARY

*Expression of perforin and cytotoxic activity of CD8⁺ cells in induced sputum from current smokers with COPD**Chrysafakis G., Tzanakis N., Kyriakou D., Tsiligianni I., Tsoumakidou M., Papadopoulou E., Bouros D., Siafakas N.M.*

Smoking is a recognised major risk factor for the development of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). COPD is characterized by abnormal inflammatory response of the airways to various stimuli, in which T-lymphocytes, macrophages and neutrophils are involved. The objective of this study was to assess the role of cytotoxic CD8⁺ lymphocytes in the inflammatory process associated with COPD. In particular, expression of perforin and the cytotoxic activity of cytotoxic CD8⁺ lymphocytes were examined. The study included 36 male smokers with COPD, 25 male smokers without COPD and 10 male healthy non-smokers. Cytotoxic CD8⁺ cell count in induced sputum was determined by immunocytochemical methods using monoclonal anti-CD3-FITC and anti-CD8-FITC antibodies. The expression of perforin was assessed by flow cytometry using anti-perforin-FITC antibody. The cytotoxic activity of CD8⁺ lymphocytes was assessed in their cultures with appropriate target-cells (K562). The percentage and the absolute number of cytotoxic CD8⁺ cells were significantly higher in smokers with COPD compared to both smokers without COPD ($P = .005$) and healthy non smokers ($P = .0001$). Smokers with COPD showed also significantly higher levels of perforin expression and cytotoxic activity of CD8⁺ lymphocytes in comparison to the other two study groups ($P < .05$). The results of this study indicate that CD8⁺ cells in induced sputum obtained from patients with COPD are more cytotoxic in relation to those obtained from smokers without obstruction. It is considered likely that their cytotoxic activity is a result of increased perforin release. **Pneumon 2002, 15(1):78-87.**

Key words: COPD, sputum induction, perforin, CD8⁺ lymphocytes

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Romain A, Pauwels A, Buist S, Peter MA, Calverley P.MA et al. On behalf of the GOLD Scientific Committee Global. Strategy for the diagnosis, management and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLI/WHO Global initiative for chronic obstructive lung disease (GOLD) Workshop Summary. Am J Respir Crit Care Med 2001; 1256-1276.
2. Siafakas NM, Vermeire P, Pride NB, et al. On behalf of the Task Force. Optimal assessment and management of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Eur Respir J 1995; 8:1398-1420.
3. Keatings VM, Collins PD, Scott DM, Barnes PJ. Differences in interleukine-8 and tumor necrosis factor-alpha in induced sputum from patients with chronic obstructive pulmonary disease or asthma. Am J Respir Crit Care Med 1996; 153:530-534.
4. Pesci A, Balbi B, Majori M, Cacciani G, Bertacco S, Alciato P, Donner CF. Inflammatory cells and mediators in bronchial lavage of patients with chronic obstructive pulmonary disease. Eur Respir J 1998;12:380-386.
5. Yamamoto C, Yoneda T, Yoshikawa M, Fu A, Tokyama T, Tsukaguchi K, Narita N. Airway inflammation in COPD assessed by sputum levels of interleukin-8. Chest 1997; 112:505-510.
6. O'Shaughnessy TC, Ansari TW, Barnes NC, Jeffery PK. Inflammation in bronchial biopsies of subjects with chronic bronchitis: inverse relationship of CD8⁺ T-lymphocytes with FEV₁. Am J Respir Crit Care Med 1997; 155:852-857.
7. Sate M, Di Stefano A, Turato G, Facchini FM, Corbino L, Mapp CE, Maestrelli P, Ciaccia A, Fabri LM. CD8⁺ lymphocytes in the peripheral airways of smokers with both symptoms of chronic bronchitis and airflow limitation.
8. Ning Liu A, Mohammed AZ, Ward R, Rice, Fiedelley DT, Liebermann JS et al. Perforin-independent CD8⁺ T-cell-mediated cytotoxicity of alveolar epithelial cells is preferentially mediated by tumor necrosis factor- α relative insensitivity to fas ligand. Am J Respir Cell Mol Biol

- 1999, Vol 20, pp. 849-858,
9. Quanjer PH, Tammeling GJ, Cotes JE, Fabbri LM, Matthys H, Pedersen OF, Peslin R, Roca J, et al. Symbols, abbreviations and units. Working Party Standardization of Lung Function Tests, European Community of Steel and Coal. *Eur Respir J Suppl* 1993 Mar; 16:85-100.
 10. Kips JC, Fahy JV, Hargreave FE, Ind PW, In'tveen JC. Methods for sputum induction and analysis of induced sputum: a method for assessing airway inflammation in asthma.
 11. Kyriakou D, Karkavitsas N, Eliopoulos G, Spandidos DA. Immunohistochemical analysis of the ras p12 oncoprotein in Hashimoto's thyroiditis. *Anticancer Res* 1992, 12(4):1189-94.
 12. Ito N, Nakamura H, Tanaka Y, Ohgi S. Lung carcinoma: analysis of T helper type 1 and 2 cells and T cytotoxic type 1 and 2 cells by intracellular cytokine detection with flow cytometry. *Cancer* 1999, 1; 85(11): 2359-67.
 13. Vukmanovic-Stejić M, Gorak-Stolinska P, Noble A, Kemeny DM. Human Tc1 and Tc2/Tc0 CD8 T-cells clones display distinct cell surface and functional phenotypes. *Blood* 2000, 1; 95(1): 231-40.
 14. Jeffery PK. Morphology of the airway wall in asthma and in chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 143:1152-1158.
 15. Mullen JBM, Wright B, Wiggs PD, Pare Hogg JC. Re-assessment of inflammation of airways in chronic bronchitis. *Br Med J* 291:1235-1239.
 16. Niewoehner DE, Kliererman J, Rice D. Pathological changes in the peripheral airways of young cigarette smokers. *N Eng J Med* 1974; 291:755-758.
 17. Diener CF, Burrows B. Further observations on the course and the prognosis of chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1975; 111:719-724.
 18. Dool R, Peto R. Mortality in relation to smoking: 20 years observation on British male doctors. *BMJ* 1976; 2:1525-1535.
 19. Fletcher C, Peto R. The natural history of chronic airflow obstruction. *BMJ* 1976; 2:1525-1535.
 20. Saetta G.M., Turrato P, Maestrelli CE, Mapp, Fabbri LM. Cellular and structural bases of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001, Vol 163, pp 1304-1309.
 21. Lichtenheld MG, Olsen KJ, Lu P, Lowrey DM, Hameed A, Hengartner H, Podack ER. Structure and function of human perforin. *Nature* 1988; 355:448-451.
 22. Nakata M, Kawasaki A, Azuma M, Tsuji K, Matsuda H, Shinkai Y, Yagita H, Okumura K. Expression of perforin and cytolytic potential of human peripheral blood lymphocyte subpopulations. *Int Immunol* 1992; 1049-1054.

Πέντε περιπτώσεις ορομεταστροφής για *Ehrlichia chaffeensis* σε ασθενείς με εξωνοσοκομειακή πνευμονία

Κ. Κατσούλης¹,
Λ. Γκαναβίας¹,
Σ. Αλεξίου²,
Α. Ναλμπάντης¹,
Β. Γκιόκας¹

¹Πνευμονολογική Κλινική 424 Γενικού Στρατιωτικού Νοσοκομείου Θεσσαλονίκης, ²Μικροβιολογικό Εργαστήριο Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης

Λέξεις κλειδιά:
Ehrlichia, εξωνοσοκομειακή πνευμονία, Ρικέτσιες, μη μικροβιακή πνευμονία

ΠΕΡΙΛΗΨΗ. Παρουσιάζονται πέντε περιπτώσεις στρατιωτών οι οποίοι νοσηλεύτηκαν με εικόνα εξωνοσοκομειακής πνευμονίας και στους οποίους διαπιστώθηκε ορομεταστροφή για *Ehrlichia chaffeensis* σε τέσσερις και μόνιμη αύξηση του τίτλου αντισωμάτων σε έναν. Η *Ehrlichia* είναι ένας μικροοργανισμός που ανήκει στην οικογένεια των Ρικετσιών και προκαλεί συχνά νόσο στους σκύλους μεταδιδόμενη με δάγμα κρότωνος. Με τον ίδιο όμως τρόπο προσβάλλει και τον άνθρωπο, σε σαφώς μικρότερο ποσοστό, προκαλώντας συστηματική νόσο με αιματολογικές διαταραχές αλλά και προσβολή του αναπνευστικού συστήματος σε ορισμένες περιπτώσεις. Θεραπεία εκλογής είναι η δοξυκυκλίνη. Τα περισσότερα περιστατικά έχουν καταγραφεί στην Αμερική, αλλά μεμονωμένα περιστατικά αναφέρθηκαν και στην Ευρώπη. Η διάγνωση γίνεται κυρίως με την ανίχνευση αντισωμάτων στον ορό και συμβατή κλινική εικόνα. Στις περιπτώσεις που παρουσιάζουμε, οι ασθενείς είχαν αρνητικό ορολογικό έλεγχο για ιούς και “άτυπα” μικρόβια, παρουσίασαν σημαντική και ταχεία κλινική βελτίωση με χορήγηση δοξυκυκλίνης, ενώ η έκθεση σε δάγματα από κρότωνες θεωρήθηκε πολύ πιθανή λόγω διαβίωσής τους στην ύπαιθρο στα πλαίσια στρατιωτικών δραστηριοτήτων. Με βάση αυτά τα κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα η νόσος των ασθενών αυτών από *Ehrlichia* ή άλλο συγγενές είδος θεωρήθηκε πολύ πιθανή, χωρίς απ’ ό,τι γνωρίζουμε να έχουν αναφερθεί μέχρι στιγμής άλλα περιστατικά στην Ελλάδα. *Πνεύμων* 2002, 15(1)96-101.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η *Ehrlichia* είναι ένας μικρός ενδοκυττάριος Gram αρνητικός μικροοργανισμός, που προκαλεί συχνά νόσο στον σκύλο μεταδιδόμενη με δάγμα κρότωνος. Η πρώτη αναφορά για νόσο και στον άνθρωπο έγινε στις ΗΠΑ το 1987, από ένα νέο είδος *Ehrlichia* που ονομάστηκε

Αλληλογραφία:
Κατσούλης Κωνσταντίνος, Λαχανά 30, Θεσσαλονίκη 54638, Τηλ. 0310-858910, e-mail: kfocus@otenet.gr

*Ehrlichia chaffeensis*¹.

Από μικροβιολογικής πλευράς κατατάσσεται στις Ρικέτιες. Αναλόγα με το κύτταρο-στόχον έχουν αναγνωριστεί δύο είδη που προκαλούν νόσο στον άνθρωπο. Η *E. chaffeensis* που προσβάλλει τα μονοκύτταρα και η *E. equi* που προσβάλλει τα κοκκιοκύτταρα^{1,2}.

Η μετάδοση στον άνθρωπο γίνεται μετά από δήγμα κρότωνος, με είσοδο του μικροοργανισμού στο δέρμα και εν συνεχεία αιματογενή διασπορά σε όλο το σώμα. Η ενδοκυττάρια λοίμωξη εντοπίζεται κυρίως στα φαγοσώματα των μακροφάγων και σε όργανα όπως σπλήνας, ήπαρ, λεμφαδένες, μυελός οστών, πνεύμονες, νεφροί και ΕΝΥ³. Οι περισσότερες περιπτώσεις νόσου από *Ehrlichia* στον άνθρωπο έχουν αναφερθεί στις ΗΠΑ^{4,5}. Ανάλογα όμως περιστατικά έχουν αναφερθεί επίσης στην Ευρώπη και την Αφρική⁶, καθιστώντας πιθανή την παρουσία και άλλων ξενιστών πέραν αυτών που απαντώνται στις ΗΠΑ ή άλλων οργανισμών αντιγονικά συγγενικών με την *Ehrlichia*.

Στη δική μας εργασία παρουσιάζουμε την εμπειρία μας από πέντε ασθενείς με πνευμονία και ορολογικό έλεγχο συμβατό με νόσο από *E. chaffeensis* καθώς και τον προβληματισμό μας σχετικά με την πιθανότητα παρουσίας της νόσου και στη χώρα μας.

ΑΣΘΕΝΕΙΣ – ΜΕΘΟΔΟΣ

Περιγραφή περιπτώσεων:

Περιγράφονται πέντε διαδοχικές περιπτώσεις στρατιωτών, μέσης ηλικίας 20 ετών, οι οποίοι νοσηλεύτηκαν στην Πνευμονολογική Κλινική του 424 Γενικού Στρατιωτικού Νοσοκομείου Θεσσαλονίκης με εικόνα εξωνοσοκομειακής πνευμονίας.

Τα περιστατικά αυτά καταγράφηκαν την ίδια χρονιά και κατά τους μήνες Μάρτιο, Απρίλιο και Μάιο.

Όλοι οι ασθενείς διαβιούσαν στον ευρύτερο χώρο της Βόρειας Ελλάδας και δεν έπασχαν από κανένα υποκείμενο νόσημα. Όλοι επίσης οι ασθενείς είχαν διαβιώσει στην ύπαιθρο τους τελευταίους μήνες και για αρκετό χρονικό διάστημα στα πλαίσια στρατιωτικών ασκήσεων.

Περίπτωση 1^η: Ασθενής ηλικίας 25 ετών με εμπύρετο έως 40°C από τριημέρου και συνοδό βήχα με βλεννοπυώδη απόχρεμψη, αυχεναλγία και πλευροδυνία. Ο εργαστηριακός έλεγχος ήταν εντός φυσιολογικών ορίων

με αριθμό λευκών αιμοσφαιρίων αίματος 5.900/κ.χιλ (πολυμορφοπύρηνα: 62%, λεμφοκύτταρα: 22%, μονοπύρηνα: 15%). Η ακτινογραφία θώρακος παρουσίαζε τμηματική πύκνωση με προσβολή κυρίως του διαμέσου ιστού και μικρή υπεζωκοτική αντίδραση. Από την κλινική εξέταση διαπιστώθηκαν περιορισμένοι τριζόντες στην αντίστοιχη περιοχή. Ο ασθενής τέθηκε σε αγωγή με δοξυκυκλίνη σε δόση 100mg x 2 από το στόμα και παρουσίασε ταχεία βελτίωση με πτώση του πυρετού μέχρι απυρεξίας σε διάστημα δύο ημερών. Στην καλλιέργεια πτυέλων αναπτύχθηκε κοινή χλωρίδα στοματοφάρυγγα.

Περίπτωση 2^η: Ασθενής ηλικίας 19 ετών με εμπύρετο έως 39°C από τριημέρου και συνοδό βήχα με βλεννώδη απόχρεμψη, κεφαλαλγία, καταρροή, πλευροδυνία και μυαλγίες. Ο εργαστηριακός έλεγχος ήταν φυσιολογικός με αριθμό λευκών 6.500/κ.χιλ (πολυμορφοπύρηνα: 61%, λεμφοκύτταρα: 31%, μονοπύρηνα: 5%). Η ακτινογραφία θώρακος παρουσίαζε τμηματική διήθηση διαμέσου τύπου χωρίς ευρήματα από την κλινική εξέταση. Ο ασθενής τέθηκε σε αγωγή με δοξυκυκλίνη 100mg x 2 από το στόμα με ταχεία πτώση του πυρετού σε ένα εικοσιτετράωρο.

Περίπτωση 3^η: Ασθενής ηλικίας 20 ετών με εμπύρετο έως 38,5°C από εβδομάδος και συνοδό βήχα με βλεννοπυώδη απόχρεμψη, καταβολή και αδυναμία. Ο εργαστηριακός έλεγχος ανέδειξε ήπια λευκοκυττάρωση 10.560/κ.χιλ (πολυμορφοπύρηνα: 67,3% λεμφοκύτταρα: 30%, μονοπύρηνα: 2,5%). Η ακτινογραφία θώρακος παρουσίαζε ετερόπλευρες βρογχοπνευμονικές διηθήσεις με καθ'υπεροχήν προσβολή του διαμέσου ιστού. Από την κλινική εξέταση διαπιστώθηκαν αραιοί ρεγχάζοντες. Ο ασθενής τέθηκε σε αγωγή με δοξυκυκλίνη 100mg x 2 από το στόμα και απυρέτησε την τρίτη ημέρα νοσηλείας. Στην καλλιέργεια πτυέλων αναπτύχθηκε κοινή χλωρίδα στοματοφάρυγγα.

Περίπτωση 4^η: Ασθενής ηλικίας 19 ετών με εμπύρετο έως 39°C και συνοδό βήχα με βλεννώδη απόχρεμψη από τριημέρου, καταρροή και αδυναμία. Ο εργαστηριακός έλεγχος ήταν φυσιολογικός με αριθμό λευκών 7.000/κ.χιλ και φυσιολογικό τύπο κυττάρων. Η ακτινογραφία θώρακος παρουσίαζε τμηματική πύκνωση με προσβολή κυρίως του διαμέσου ιστού και χωρίς ευρήματα από την κλινική εξέταση. Ο ασθενής τέθηκε σε αγωγή με δοξυκυκλίνη 100mg x 2 και απυρέτησε τη δεύτερη ημέρα νο-

σηλείας του.

Περίπτωση 5^η: Ασθενής ηλικίας 19 ετών με εμπύρετο έως 39,5⁰ C από τριημέρου με συνοδό πυώδη απόχρεμψη, ρίγος, καταρροή και πνευροδυνία. Ο εργαστηριακός έλεγχος ανέδειξε λευκοκυττάρωση (33.000/κ. χιλ) με πολυμορφοπυρήνωση (89%). Η ακτινογραφία θώρακος ανέδειξε τμηματική πύκνωση με συνοδό μικρή υπεζωκοτική αντίδραση. Από την κλινική εξέταση διαπιστώθηκαν ρεγχάζοντες και τρίζοντες ρόγχοι συστοίχως. Ο ασθενής τέθηκε σε αγωγή αρχικά με πενικιλίνη ενδοφλεβίως και στη συνέχεια με κεφαλοσπορίνη 2^{ης} γενιάς σε συνδυασμό με αμινογλυκοσίδη λόγω μη υποχώρησης του πυρετού. Απυρεξία παρατηρήθηκε την πέμπτη ημέρα νοσηλείας. Συγκεντρωτικά τα κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα περιγράφονται στον πίνακα 1.

Στα πλαίσια ερευνητικού πρωτοκόλλου της κλινικής μας για τη διερεύνηση το αιτιολογικού παράγοντα σε ασθενείς με εξωνοσοκομειακή πνευμονία, εκτός από χρώση Gram και καλλιέργεια πτυέλων έγινε και ορολογικός έλεγχος σε δύο δείγματα ορού με μεσοδιάστημα

περίπου 10 ημερών. Ο ορολογικός έλεγχος που έγινε σε όλους τους ασθενείς αφορούσε σε ιούς και “άτυπα” μικρόβια τα οποία είναι γνωστό ότι προκαλούν μη μικροβιακή (άτυπη) πνευμονία (Πίνακας 2).

ΜΕΘΟΔΟΣ – ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Χρησιμοποιήθηκε η αντίδραση συνδέσεως συμπληρώματος (CFT) για την ανίχνευση αντισωμάτων έναντι αντιγόνων του ιού Γρίπης Α και Β, Παραϊνφλουέντζας 1 και 3, Ιού Αναπνευστικού Συγκυτίου (RSV), Αδενοϊού, ιού του Απλού Έρπητα, Μεγαλοκυτταροϊού, Μυκοπλάσματος Πνευμονίας, Χλαμυδίων Πνευμονίας και Κοξίέλλας Μπουρνέτι. Χρησιμοποιήθηκαν αντιγόνα του οίκου Virion σε τίτλους καθορισμένους από τους κατασκευαστές. Συμπλήρωμα και αιμολυσίνη (Bio-Mericux) χρησιμοποιήθηκαν σε τίτλο ο οποίος προσδιορίστηκε μετά από διασταυρωτή τιτλοποίηση (Chess-board titration). Σε κάθε εξέταση περιελήφθησαν ως μάρτυρες θετικοί οροί γνωστού τίτλου. Οι οροί εξετάστηκαν έναντι όλων των αντιγόνων σε αραιώσεις 1:8 και 1:16 σε

Πίνακας 1. Κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα

Ασθενής	Συμπτώματα	Φυσική Εξέταση	Εργαστηριακά Ευρήματα	Ακτινογραφία Θώρακος
1	Βήχας, βλεννοπυώδης απόχρεμψη, πυρετός έως 40° C Καταρροή, ανορεξία	Μη μουσικοί ρόγχοι	Λευκά: 5.900 SGOT: 34 SGPT: 66 Αιμοπετ: 150.000	Πύκνωση τμηματική (διαμέσου τύπου) + υπεζωκοτική αντίδραση
2	Βήχας, βλεννώδης απόχρεμψη, πυρετός έως 39° C, κεφαλαλγία, μυαλγίες	Χωρίς ιδιαίτερα ευρήματα	Λευκά: 6.500 SGOT: 28 SGPT: 16 Αιμοπετ: 155.000	Πύκνωση τμηματική (διαμέσου τύπου)
3	Βήχας, βλεννοπυώδης απόχρεμψη, πυρετός έως 39° C, ανορεξία	Μη μουσικοί ρόγχοι	Λευκά: 10.560 SGOT: 22 SGPT: 17 Αιμοπετ: 337.000	Πύκνωση τμηματική (διαμέσου τύπου)
4	Βήχας, βλεννώδης απόχρεμψη, πυρετός έως 38,5° C	Μη μουσικοί ρόγχοι	Λευκά: 7000 SGOT: 25 SGPT: 20 Αιμοπετ: 160.000	Πύκνωση τμηματική (διαμέσου τύπου)
5	Βήχας, πυώδης απόχρεμψη, πυρετός έως 39° C, ανορεξία, μυαλγίες, πνευροδυνία	Μη μουσικοί + μουσικοί ρόγχοι	Λευκά: 33.000 SGOT: 28 SGPT: 23 Αιμοπετ: 276.000	Πύκνωση τμηματική + υπεζωκοτική αντίδραση

Πίνακας 2. (Μικροοργανισμοί για τους οποίους έγινε ορολογικός έλεγχος)

1. Γρίπη Α	7. Παραϊνφλουέντζα 1
2. Γρίπη Β	8. Παραϊνφλουέντζα 3
3. Αδενοϊός	9. Χλαμύδια
4. Ιός RS	10. Κοξϊέλλα Μπουρνέτι
5. Μεγαλοκυτταροϊός	11. Μυκόπλασμα Πνευμονίας
6. Ιός Απλού Ερπητα	12. Λετξιονέλλα

ένα αρχικό screening test. Οι θετικοί οροί, έναντι ενός από τα αντιγόνα, στην αραιώση 1:16 (50% αιμόλυση), εξετάστηκαν σε υψηλότερες διαδοχικές αραιώσεις για το αντίστοιχο αντιγόνο. Τα ζεύγη των δειγμάτων ορού εξετάστηκαν παράλληλα. Τα κριτήρια για την ορολογική διάγνωση ήταν η τετραπλάσια αύξηση του τίτλου των αντισωμάτων ή μονίμως υψηλός τίτλος αντισωμάτων μεγαλύτερος ή ίσος με 1:64 και στα δύο δείγματα ορού.

Η δοκιμασία εμμέσου ανοσοφθορισμού (IFA) χρησιμοποιήθηκε για την ορολογική διάγνωση της λοιμώξεως από Λετξιονέλλα. Ως αντιγόνο χρησιμοποιήθηκε Λετξιονέλλα ορολογικής ομάδας 1 καλλιιεργημένη σε λεκιθικό σάκο εμβρύου όρνιθας και αδρανοποιημένη με φορμαλίνη. Σαν θετικός μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε θετικός ορός του εργαστηρίου. Η μέθοδος του εμμέσου ανοσοφθορισμού χρησιμοποιήθηκε επίσης για την ανίχνευση αντισωμάτων έναντι Ρικετσιών (ως αντιγόνα χρησιμοποιήθηκαν έτοιμες πλάκες του εμπορίου του οίκου Biomerieux).

Τα αποτελέσματα του ελέγχου αυτού ήταν αρνητικά για τους μικροοργανισμούς που αναφέρθηκαν, παρά το γεγονός ότι στους τέσσερις από τους πέντε ασθενείς η κλινική και εργαστηριακή εικόνα ήταν συμβατή με μη μικροβιακή πνευμονία και συνεπώς θα ήταν λογικό να είχε ανιχνευθεί ο αιτιολογικός παράγοντας. Έτσι σε συνεργασία με το Μικροβιολογικό Εργαστήριο του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, όπου έγι-

νε ο αρχικός έλεγχος, τα δείγματα ορών στάλθηκαν και στο Center of Disease Control (C.D.C.) στις ΗΠΑ όπου επίσης ο έλεγχος για κοινά παθογόνα ήταν αρνητικός.

Έκπληξη όμως προκάλεσε το γεγονός της ανιχνεύσεως αντισωμάτων για *E. chaffeensis*. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν αυτή του εμμέσου ανοσοφθορισμού. Το αντιγόνο που χρησιμοποιήθηκε παρασκευάζεται στο Center of Disease Control, Viral and Rickettsial Diseases, Atlanta, USA. Συγκεκριμένα διαπιστώθηκε ορομεταστροφή σε τέσσερις ασθενείς και μόνιμη αύξηση του τίτλου στον ένα (Πίνακας 3).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι περισσότερες αναφορές νόσου από *Ehrlichia* στον άνθρωπο έχουν καταγραφεί στις ΗΠΑ και ερευνηθεί στο CDC (Center for Disease Control). Από την εμπειρία των περιστατικών αυτών προκύπτει ότι η νόσος δεν παρουσιάζει διαγνωστικά κλινικά χαρακτηριστικά. Η κλινική εικόνα ποικίλει από την υποκλινική έως τη θανατηφόρο μορφή, η τελευταία σε ποσοστό έως και 3%, και με συμπτώματα γενικά όπως πυρετός, ανορεξία, κεφαλαλγία, μυαλγίες, αλλά και ειδικότερα όπως εμέτους, κοιλιακά άλγη, λεμφαδενοπάθεια, βήχα, σύγχυση κ.ά. Ο εργαστηριακός έλεγχος αναδεικνύει συνήθως λευκοπενία, θρομβοπενία και αυξημένα ηπατικά ένζυμα^{4,5}. Πιο συγκεκριμένα τα συμπτώματα περιλαμβάνουν κατά σειρά συχνότητας πυρετός (97%), κεφαλαλγία (81%), μυαλγία (68%), ανορεξία (66%), ναυτία (48%), εμέτους (37%), βήχα (26%), φαρυγγαλγία (26%), διάρροια (25%), λεμφαδενοπάθεια (25%), κοιλιακό άλγος (22%) και σύγχυση (20%)⁴. Σε ότι αφορά στο αναπνευστικό σύστημα αναφέρεται πύκνωση στην ακτινογραφία θώρακος στους μισούς σχεδόν από τους ασθενείς και μάλιστα με εικόνα διάμεσης πνευμονίας και σπανιότερα πνευμονική αιμορραγία ή αναπνευστική ανεπάρκεια⁴.

Πίνακας 3. Ορολογικός έλεγχος για Ερλίχια

	Λευκά	Τίτλος αντισωμάτων	
Ασθενής 1	5.900	1ο δείγμα= <1:63	2ο δείγμα=1:64
Ασθενής 2	6.500	1ο δείγμα= αρνητικό	2ο δείγμα=1:64
Ασθενής 3	10.500	1ο δείγμα= αρνητικό	2ο δείγμα=1:64
Ασθενής 4	7.000	1ο δείγμα= 1:256	2ο δείγμα=1:256
Ασθενής 5	33.000	1ο δείγμα= αρνητικό	2ο δείγμα=1:64

Ορισμένα από αυτά τα συμπτώματα, και μάλιστα από τα πιο συχνά, εμφάνιζαν και οι ασθενείς τους οποίους παρουσιάζουμε.

Η διάγνωση θα πρέπει να θεωρείται πιθανή σε κάθε εμπύρετο ασθενή ο οποίος έχει εκτεθεί σε δήγμα κρότωνος κατά τις τρεις τελευταίες εβδομάδες, ειδικά όταν συνυπάρχουν λευκοπενία και θρομβοπενία⁴. Η επιβεβαίωση γίνεται κυρίως με την ανίχνευση αντισωμάτων με τη μέθοδο του ανοσοφθορισμού, θεωρώντας διαγνωστική μια τετραπλάσια αύξηση ή μείωση του τίτλου σε δύο διαδοχικά δείγματα με μεσοδιάστημα περίπου 15 ημερών ή τίτλο μεγαλύτερο ή ίσο του 1:64^{7,8}. Η ίδια μέθοδος και τα ίδια κριτήρια για την ορολογική διάγνωση χρησιμοποιήθηκαν και στους δικούς μας ασθενείς. Σπανίως είναι δυνατή η απομόνωση της *Ehrlichia*, ενώ και η μέθοδος της αλυσιδωτής αντιδράσεως της πολυμεράσης (PCR) δεν είναι ιδιαιτέρως διαδεδομένη⁹. Τέλος, η ανοσοϊστοχημεία είναι διαγνωστική σε ελάχιστες περιπτώσεις και η ανίχνευση χαρακτηριστικών εγκλείστων στα λευκά αιμοσφαίρια πολύ δύσκολη³. Η θεραπεία εκλογής είναι η δοξυκυκλίνη, αν και η *E. chaffeensis* είναι ευαίσθητη και στη ριφαμπικίνη¹⁰.

Αρκετές περιπτώσεις νόσου από *Ehrlichia* με επιδημική μορφή έχουν περιγραφεί σε παίκτες του γκόλφ και σε κατασκηνωτές, εντοπίζοντας τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου μετά από δραστηριότητες στην ύπαιθρο λόγω της πιθανότητας εκθέσεως σε κρότωνα. Επίσης ένα ποσοστό 66% των περιστατικών που έχουν καταγραφεί εντοπίζεται σε αγροτικές περιοχές και με εποχιακή κατανομή, κυρίως κατά την άνοιξη, με τα 3/4 των ασθενών να είναι άνδρες^{4,11}. Τέλος, 83% των ασθενών αναφέρουν έκθεση ή δήγμα από κρότωνα σε χρονικό διάστημα τριών εβδομάδων μέχρι την εμφάνιση των συμπτωμάτων⁴.

Τα περισσότερα από τα δεδομένα αυτά καταγράφηκαν και στα περιστατικά τα οποία παρουσιάζουμε, δεδομένου ότι και οι πέντε ήταν άνδρες, νοσηλεύτηκαν διαδοχικά κατά τους μήνες Μάρτιο έως Μάιο και παρά το γεγονός ότι δεν γνωρίζουμε τεκμηριωμένα εάν είχαν υποστεί δήγμα από κρότωνα, θεωρούμε πολύ πιθανή την έκθεσή τους σε αυτά τα παράσιτα λόγω της διαβίωσης σε περιοχές εκτός πόλεων και παραμονής στην ύπαιθρο στα πλαίσια στρατιωτικών ασκήσεων. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει στο σημείο αυτό και μία μελέτη που αναφέρεται σε ορομεταστροφή για *E. chaf-*

feensis σε ποσοστό 1,3% μεταξύ 1.187 στρατιωτών κατά τη διάρκεια εκπαιδευτικών ασκήσεων στις ΗΠΑ¹².

Συνοπτικά, τα τέσσερα από τα περιστατικά που παρουσιάζουμε είχαν εικόνα μη μικροβιακής πνευμονίας και παρουσιάζαν αρκετά από τα κλινικά και επιδημιολογικά στοιχεία νόσου από *Ehrlichia*, χωρίς να παρουσιάζουν χαρακτηριστικά διαγνωστικά εργαστηριακά ευρήματα, εκτός βέβαια από την ορομεταστροφή στους τρεις και τη μόνιμη αύξηση του τίτλου αντισωμάτων για *E. chaffeensis* στον τέταρτο. Επίσης όλοι οι ασθενείς είχαν αρνητικό ορολογικό έλεγχο για γνωστά "άτυπα" μικρόβια, αν και οι τέσσερις από αυτούς παρουσίαζαν χαρακτηριστική κλινικοεργαστηριακή εικόνα άτυπης (μη μικροβιακής) πνευμονίας και συνεπώς ήταν λογικά αναμενόμενη η ανίχνευση αντισωμάτων έναντι κάποιου κοινού "άτυπου" παθογόνου. Ακόμη στους ασθενείς αυτούς που εκτιμήθηκαν ότι πάσχουν από μη μικροβιακή πνευμονία χορηγήθηκε ως θεραπεία δοξυκυκλίνη, που όπως αναφέρθηκε είναι η θεραπεία εκλογής και για την *E. Chaffeensi* και όλοι τους εμφάνισαν θεαματική βελτίωση με την αγωγή αυτή. Στο πέμπτο περιστατικό, παρά την ορομεταστροφή για *E. chaffeensis*, δεν υπήρχε συμβατή κλινικοεργαστηριακή εικόνα και η θεραπεία ήταν προσανατολισμένη σε αίτια μη μικροβιακής πνευμονίας.

Συμπερασματικά, από την εμπειρία αυτών των περιστατικών προκύπτει έντονος προβληματισμός για πιθανή παρουσία της νόσου και στη χώρα μας, στην οποία απ' ό,τι γνωρίζουμε δεν έχει αναφερθεί άλλο περιστατικό. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός της αυξημένης επιζωοτίας της νόσου σε σκύλους στη Βόρειο Ελλάδα από την *E. canis*, η οποία έχει κοινά στοιχεία με την *E. chaffeensis*, όπως για παράδειγμα ότι προσβάλλεται το ίδιο είδος κυττάρων και από τους δύο μικροοργανισμούς.

Η πιθανότητα, επίσης, παρουσίας της νόσου και στη χώρα μας ενισχύεται και από την καταγραφή μεμονωμένων περιστατικών στην Ευρώπη και την πιθανότητα η νόσος στη δική μας ήπειρο να μεταδίδεται με διαφορετικό ξενιστή ή να οφείλεται σε είδη συγγενικά με την *E. chaffeensis*.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Anderson BE, Dawson JE, Jones DC, Wilson KH. Ehr-

- lichia chaffeensis, a new species associated with human ehrlichiosis. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 2838-42.
2. Chen S-M, Dumler JS, Bakken JS, Walker DH. Identification of a granulocytotropic Ehrlichia species as the etiologic agent of human disease. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 589-95.
 3. Dumler JS, Brouqui P, Aronson J, Taylor JP, Walker DH. Identification of Ehrlichia in human tissue. *N Engl J Med* 1991; 325: 1109-10.
 4. Fishbein DB, Dawson JE, Robinson LE. Human ehrlichiosis in the United States, 1985 to 1990. *Ann Intern Med* 1994;120:736-43.
 5. Eng TR, Harkess JR, Fishbein DB, Dawson JE, Greene CN, Redus MA. Epidemiologic, clinical and laboratory findings of human ehrlichiosis in the United States. *JAMA* 1990; 264:2251-8.
 6. Morais JD, Dawson JE, Greene C, Filipe AR, Galhardas LC, Bacellar F. First European case of ehrlichiosis. *Lancet* 1991;338:633-4.
 7. Dawson JE, Fishbein DB, Eng TR, Redus MA, Greene NR. Diagnosis of human ehrlichiosis with the indirect fluorescent antibody test: kinetics and specificity. *J Infect Dis* 1990;162:91-5.
 8. Baken J, Dumler S. Human Granulocytic Ehrlichiosis. *Clinical Infectious Diseases* 2000; 31: 554-560.
 9. Everett ED, Evans KA, Henry RB, McDonald G. Human ehrlichiosis in adults after tick exposure: diagnosis using polymerase chain reaction. *Ann Intern Med* 1994;120:730-5.
 10. Brouqui P, Raoult D. In vitro antibiotic susceptibility of the newly recognized agent of ehrlichiosis in humans, Ehrlichia chaffeensis. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36:2799-803.
 11. Stahdaert SM, Dawson JE, Schaffner W, Childs JE, Biggie KL, Sinlgeton Jr J, et al. Ehrlichiosis in a golf-oriented retirement community. *N Engl J Med* 1995;333: 420-5.
 12. Yevich SJ, Sanchez JL, DeFraites RF, Rives CC, Dawson JE, Uhaa IJ, et al. Seroepidemiology of infections due to spotted fever group Rickettsiae and Ehrlichia species in military personnel exposed in areas of the United States where such infections are endemic. *J Infect Dis* 1995;171 : 1266-73.
 13. Κοντός Β, Αθανασίου Λ, Μπιτχαβά Δ. Ορολογική διερεύνηση της Ερλικιώσεως σε σκύλους πάσχοντες από Λεϊσμανίαση. Πρακτικά 5^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Κτηνιατρικής Μικρών Ζώων, Μάρτιος 1999.

Ακτινομυκητίαση πνεύμονα σε έδαφος ακτινικής πνευμονίτιδας

Χ. Φορούλης¹,
Δ. Παπαδόπουλος³,
Σ. Διβάνη²,
Α. Βαρδούλη²,
Α. Λιούπης¹,
Κ. Γουργουλιάνης³

¹Χειρουργός Θώρακος, ¹“Αχιλλοπούλειο” Γενικό Νομαρχιακό Νοσοκομείο Βόλου, Χειρουργική Κλινική και
²Κυτταρολογικό Εργαστήριο
³Πνευμονολόγος, ³Ιατρικό Τμήμα Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Πνευμονολογική Κλινική

Λέξεις-Κλειδιά: Ακτινομυκητίαση πνεύμονα, ακτινική πνευμονίτιδα, κυτταρολογική εξέταση πτυέλων, βρογχογενές καρκίνωμα πνεύμονα, ευκαιριακή λοίμωξη πνεύμονα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ. Παρουσιάζεται μια περίπτωση ακτινομυκητίασης πνεύμονα, στο δεξιό άνω λοβό, μετά από αριστερή άνω λοβεκτομή με συναφαίρεση των τριών πρώτων πλευρών, για αδеноκαρκίνωμα της κορυφής του αριστερού πνεύμονα με διήθηση του θωρακικού τοιχώματος, μετεγχειρητική ακτινοβολία, μετακτινική πνευμονίτιδα και λήψη κορτικοειδών για 3 μήνες. Ο ασθενής παρουσίασε εν συνεχεία εξάντληση, θωρακικό άλγος, αιμόφυρτα πτύελα και 2 σκιάσεις στο δεξιό άνω λοβό στην ακτινογραφία θώρακα. Η αξονική τομογραφία θώρακα έθετε την υποψία της μεταστατικής νόσου και η βρογχοσκόπηση ήταν αρνητική. Ο ασθενής παρουσίασε επιδείνωση της αιμόπτυσης και οι κυτταρολογικές πτυέλων έδειξαν “σωρούς από ακτινομύκητες”. Έλαβε πενικιλίνη-G ενδοφλεβίως για 10 ημέρες και ακολούθως πενικιλίνη-V από του στόματος για 6 μήνες, με βελτίωση της κλινικής και ακτινολογικής εικόνας. *Πνεύμων 2002, 15(1)107-111.*

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

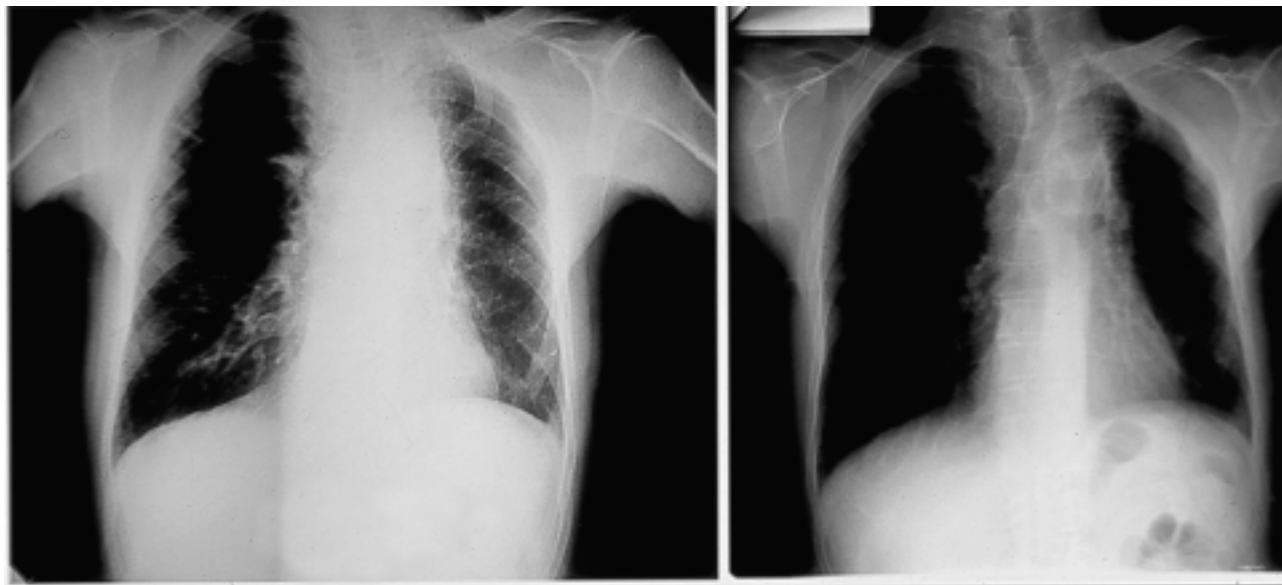
Η πνευμονική ακτινομυκητίαση είναι η σπανιότερη από τις 3 μορφές της νόσου (τραχηλική: 60%, κοιλιακή: 25%, θωρακική: 15%)¹⁻³. Η ακτινομυκητίαση είναι σπάνια νόσος, της οποίας ο αιτιολογικός παράγοντας είναι μη οξεάντοχο, αναερόβιο, Gram (+) βακτήριο, νηματοειδές και μη σπορογόνο³. Ανευρίσκεται στη φυσιολογική χλωρίδα του στόματος ανθρώπων και ζώων, δεν ανευρίσκεται ελεύθερο στη φύση, η δε ακτινομυκητίαση είναι συχνά ευκαιριακή λοίμωξη³. Παρουσιάζεται μια περίπτωση πνευμονικής ακτινομυκητίασης, που εμφανίστηκε μετά από πολύμηνη χορήγηση κορτικοειδών για θεραπεία πνευμονίτιδας μετά ακτινοβολία, με σκοπό να τονιστεί η δυσκολία στη διαφορική διάγνωση από δευτεροπαθείς εντοπίσεις του χειρουργηθέντος πρωτοπαθούς καρκινώματος του πνεύμονα και η σημασία της έγκαιρης διάγνωσης στην καλή έκβαση της νόσου.

Αλληλογραφία:
Χριστόφορος Ν. Φορούλης, Γαρέφη 12, 11525
Αθήνα, τηλ.: 010-6779693 και 0944-910343

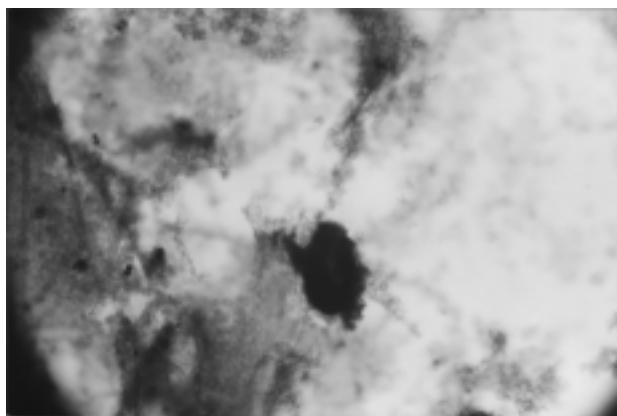
ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΩΣ

Πρόκειται για άνδρα ηλικίας 74 ετών, βαρύ καπνιστή (54 πακέτα/χρόνια), με ιστορικό χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας, που εμφάνισε σκίαση της κορυφής του αριστερού πνεύμονα προ 18 μηνών. Ο ασθενής υπεβλήθη σε ανεπίπλεκτη αριστερή άνω λοβεκτομή με συναφαίρεση της 1ης και των οπίσθιων τμημάτων της 2ης και 3ης πλευράς. Η εκτομή έγινε επί υγιών ιστών και η ιστολογική εξέταση έδειξε “νεκρωτικό, συμπαγές καρκίνωμα πνεύμονα αδενικού τύπου, χαμηλής διαφοροποίησης, με διήθηση των οστέινων τμημάτων των πλευρών και των μεσοπλευριών μυών”. Οι εξαιρεθέντες λεμφαδένες Νο 10, 5, 6, 7 ήταν ελεύθεροι νεοπλασματικής διήθησης και η χειρουργική σταδιοποίηση του νεοπλασματος ήταν $T_3N_0M_0$ (IIIB). Λόγω της διήθησης του θωρακικού τοιχώματος, ο ασθενής υπεβλήθη σε συμπληρωματική ακτινοθεραπεία με 4.000 rads. Μετά την ολοκλήρωση της ακτινοθεραπείας ο ασθενής παρουσίασε κλινική και ακτινολογική εικόνα ακτινικής πνευμονίτιδας στα ανώτερα πνευμονικά πεδία άμφω και δύσπνοια στην προσπάθεια. Ο ασθενής έλαβε μεθυλπρεδνιζολόνη για 3 περίπου μήνες (32 mg ημερησίως για 6 εβδομάδες και σταδιακή μείωση στη συνέχεια), με αποτέλεσμα βελτίωση της ακτινολογικής και κλινικής εικόνας. Τέσ-

σερις μήνες μετά τη διακοπή των κορτικοειδών εμφάνισε θωρακικό άλγος, βήχα, εφιδρώσεις, ανορεξία, καταβολή δυνάμεων και αιμόφυρτα πτύελα. Τα λευκά αιμοσφαίρια κατά την εισαγωγή ήταν $4.000/mm^3$ και το 80% αυτών ήταν πολυμορφοπύρηνα. Η ακτινογραφία θώρακα έδειχνε 2 σκιάσεις στο δεξιό άνω λοβό, 0,5 και 1,5 cm μέγιστης διαμέτρου και αλλοιώσεις ακτινικής πνευμονίτιδας (Εικόνα 1α). Η αξονική τομογραφία θώρακα έδειχνε εικόνες συμβατές με 2 μεταστατικές εστίες στο δεξιό άνω λοβό. Η βρογχοσκόπηση με εύκαμπτο όργανο δεν ανέδειξε ενδοαυλική βλάβη και η βρογχική έκπλυση και το υλικό ψήκτρας δεν ανέδειξαν κακοήγη κύτταρα. Οι καλλιέργειες πτυέλων ήταν αρνητικές. Ο ασθενής υπεβλήθη σε επανειλημμένες κυτταρολογικές εξετάσεις πτυέλων με χρώση κατά Παπανικολάου, το αποτέλεσμα των οποίων ήταν: “άφθονα φλεγμονώδη κύτταρα, κυρίως πολυμορφοπύρηνα και ιστιοκύτταρα, με φαγοκυτταρώσεις και ράκη. Στο υπόστρωμα βρέθηκαν άφθονα ερυθροκύτταρα, σωροί ακτινομυκήτων και κερατινοποιημένα κύτταρα με μικρούς ομαλούς πυρήνες. Στοιχεία κακοήθειας δεν βρέθηκαν στο αποσταλέν υλικό” (Εικόνα 2). Με τα δεδομένα αυτά ο ασθενής έλαβε πενικιλίνη-G ενδοφλεβίως για 10 ημέρες (24.000.000 IU ημερησίως) και ακολούθως πενικιλίνη-V από του στόματος για έξι μήνες (6.000.000 IU ημερησίως), με



Εικόνα 1. Η ακτινογραφική εικόνα του ασθενή που περιγράφεται, προ της έναρξης της θεραπείας (1α) και μετά από εξαήμερη χορήγηση πενικιλίνης (1β).



Εικόνα 2. Κυτταρολογικό επίχρισμα πτυέλων του ασθενή που περιγράφεται (χρώση Παπανικολάου X 400): σωρός ακτινομυκήτων.

αποτέλεσμα σημαντική βελτίωση της κλινικής εικόνας και μείωση της διαμέτρου των σκιάσεων στο ήμισυ (Εικόνα 1β). Τα αιμόφυρτα πτύελα συνεχίστηκαν για δύο περίπου μήνες μετά την έναρξη της θεραπείας.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι ακτινομύκητες θεωρούνταν μέχρι το 1970 μύκητες στη βιβλιογραφία³. Παρά την ομοιότητα με τους μύκητες όμως, πρόκειται για γνήσια βακτήρια, σύμφωνα με τη σύνθεση του κυτταρικού τους τοιχώματος, τον τρόπο αναπαραγωγής, την έλλειψη πυρηνικής μεμβράνης και μιτοχονδρίων και την ευαισθησία σε αντιμικροβιακά φάρμακα και όχι σε αντιμυκητησιακά³.

Η ακτινομυκητίαση είναι μια χρόνια φλεγμονή, που προκαλείται συνήθως από τον *Actinomyces israelii* και σπανιότερα από τον *A. bovis* (υπάρχουν όμως και τα γένη *A. viscosus*, *A. odontolyticus*, *A. naeslundii*, *A. meyerli*, *Arachnia prorionica*)^{2,3}. Η ακτινομυκητίαση χαρακτηρίζεται από χρόνια διαπύηση, σχηματισμό χρονίων κοιλοτήτων, την έξοδο πυώδους υλικού που περιέχει καφεκίτρινα κοκκία θείου και επέκταση της φλεγμονής στους ιστούς, χωρίς σεβασμό των φυσιολογικών ανατομικών φραγμών¹⁻³.

Η θωρακική μορφή της νόσου προσβάλλει κυρίως άνδρες στο 67-80% των περιπτώσεων, συνδυάζεται με κακή υγιεινή στόματος και τερηδονισμένους οδόντες και εκδηλώνεται με πυρετό, νυχτερινές εφιδρώσεις, απώλεια βάρους, δύσπνοια, θωρακικό άλγος και παραγω-

γικό βήχα¹⁻³. Η παρουσία αιμόφυρτων πτυέλων σημαίνει καταστροφή πνευμονικού παρεγχύματος, όπως στον ασθενή που περιγράφεται³. Στο ιστορικό των ασθενών υπάρχει συνήθως πνευμονική φυματίωση, χρόνια βρογχίτιδα, εμφύσημα, βρογχεκτασίες και χρόνια πνευμονίτιδα, όπως είναι και η ακτινική πνευμονίτιδα³.

Η διάγνωση είναι δύσκολη γιατί η νόσος είναι σπάνια και οι καλλιέργειες των αναερόβιων οργανισμών, όπως ο ακτινομύκητας, είναι δύσκολη λόγω των συνθηκών λήψης και καλλιέργειας^{3,4}. Τμηματικές πυκνώσεις που εμπεριέχουν αραιωτικές περιοχές κεντρικά, με παρακείμενη λάχυνση του υπεζωκότα είναι συνηγορητικές ακτινομυκητίασης στην αξονική τομογραφία θώρακα, όπως διαπιστώθηκε σε μια πρόσφατη αναδρομική μελέτη 22 περιπτώσεων ακτινομυκητίασης⁶. Η διάγνωση όμως γίνεται συχνά με θωρακοτομή λόγω της ακτινολογικής ομοιότητας των βλαβών με καρκίνωμα πνεύμονα¹⁻⁶. Σε δύο μεγάλες σειρές στη βιβλιογραφία (Weese & Smith το 1975 με 57 περιπτώσεις και Brown το 1973 με 40 περιπτώσεις) η συχνότητα της ορθής διάγνωσης, πριν την εφαρμογή επεμβατικών μεθόδων, ήταν μικρότερη από 10%¹. Σε πρόσφατα δημοσιευμένη σειρά 7 περιπτώσεων από τον Tasterpe (1998) η διάγνωση της νόσου έγινε μετά από ερευνητική θωρακοτομή σε όλες⁷. Η διαβρογχική βιοψία πνεύμονα δεν είναι πάντα διαγνωστική, όταν όμως η βλάβη είναι προσπελάσιμη μπορεί να επιχειρηθεί πριν από την ανοιχτή βιοψία.^{5,8} Η μικροβιολογική εξέταση πτυέλων μπορεί να βοηθήσει στη διάγνωση ή να προκαλέσει σύγχυση, γιατί το δείγμα μπορεί να επιμολυνθεί από τη φυσιολογική χλωρίδα του στόματος, ακόμα και αν ληφθεί με ενδοτράχειο αναρρόφηση ή βρογχοκυψελιδική έκπλυση⁴. Γι' αυτό όλα τα δείγματα πρέπει να εξετάζονται αρχικά με μια χρώση κατά Gram, για να διαχωρίζονται δείγματα που είναι κυρίως σίελο από κατάλληλα δείγματα πτυέλων. Αν στο δείγμα υπάρχουν πάνω από 25 επιθηλιακά πλακώδη κύτταρα ανά οπτικό πεδίο, το δείγμα είναι επιμολυσμένο και ακατάλληλο. Αν υπάρχουν λιγότερα από 10 επιθηλιακά πλακώδη κύτταρα ανά οπτικό πεδίο, το δείγμα είναι κατάλληλο και μπορεί να καλλιερηθεί⁴. Στα κυτταρολογικά επιχρίσματα με τη χρώση Παπανικολάου, οι ακτινομύκητες φαίνονται σαν αραχνοειδή ινίδια, τα οποία σχηματίζουν σωρούς⁹. Τα ινίδια στο κέντρο των σωρών είναι πυκνά, ενώ στην περιφέρεια είναι αραιά και προβάλλονται έξω από την περιφέρεια

των σωρών⁹. Το εξετασθέν υλικό στην περιγραφείσα περίπτωση περιελάμβανε πνευμονικά ιστιοκύτταρα και κύτταρα του βρογχικού επιθηλίου, διατεταγμένα μεμονωμένα κυρίως και επομένως πληρούσε τα κριτήρια επάρκειας υλικού που προέρχεται από τους βρόγχους. Πρέπει να τονιστεί όμως ότι η απομόνωση ακτινομύκητα σε καλλιέργεια ή κυτταρολογική εξέταση πτυέλων πρέπει να συνεκτιμηθεί με την κλινική εικόνα του ασθενή, πριν από την εγκατάσταση διάγνωσης. Η βελτίωση της κλινικής και ακτινολογικής εικόνας με τη χορήγηση πενικιλίνης, όπως στον ασθενή που περιγράφεται, ενισχύει ακόμη περισσότερο τη διάγνωση της νόσου, όταν δεν υπάρχει ιστολογική επιβεβαίωση.

Λόγω της αδυναμίας απομόνωσης του ακτινομύκητα, πολλοί ασθενείς παρουσιάζουν εμπύημα θώρακα, αποστήματα, προσβολή και καταστροφή οστών, προσβολή του περικαρδίου και εξωτερικά συρίγγια με εκροή πύου, προ της εγκατάστασης διάγνωσης¹⁻³. Στις περιπτώσεις αυτές η φαρμακευτική θεραπεία δεν είναι αρκετή και η επιπρόσθετη χειρουργική διερεύνηση είναι επιβεβλημένη¹⁻³. Λοβεκτομή ή και πνευμονεκτομή μπορεί να απαιτηθεί για τη θεραπεία, η δε ανεπαρκής χειρουργική εκρίζωση της νόσου μπορεί να οδηγήσει σε βρογχοπλευρικό συρίγγιο, εμπύημα θώρακα και αιματογενή διασπορά¹⁻³. Η θωρακική μορφή της νόσου, συχνότερα από τις άλλες μορφές, μπορεί να οδηγήσει σε αιματογενή διασπορά, σε 10% των περιπτώσεων περίπου³. Για τους παραπάνω λόγους η έγκαιρη διάγνωση και έναρξη θεραπείας με ενδοφλέβια χορήγηση κατ' αρχήν πενικιλίνης-G ($\geq 20.000.000$ IU ημερησίως) ή ιμπενέμης είναι μεγάλης σημασίας³. Η θεραπεία συνεχίζεται με από του στόματος πενικιλίνη-V για 3 ως 6 μήνες¹⁻³. Η χρήση προκαϊνούχου πενικιλίνης για τη συνέχιση της

θεραπείας μετά τη διακοπή της ενδοφλέβιας χορήγησης έχει επίσης εφαρμοστεί με επιτυχία⁶. Εναλλακτικά μπορεί να χρησιμοποιηθούν οι τετρακυκλίνες, η ερυθρομυκίνη και η κλινδαμυκίνη, η μακροχρόνια χορήγηση τους όμως συνδέεται με ανεπιθύμητες ενέργειες, ιδίως της κλινδαμυκίνης³. Η ακτινομυκητίαση είναι σε αρκετές περιπτώσεις ευκαιριακή λοίμωξη, όπως στον ασθενή της περιγραφείσας περίπτωσης που είχε λάβει υψηλές δόσεις κορτικοειδών επί τριμήνο στο πρότερο χρονικό διάστημα και ανέπτυξε τη νόσο σε έδαφος ακτινικής πνευμονίτιδας. Σημειώνεται ότι με βάση βιβλιογραφικά δεδομένα μέση χορηγούμενη δόση πρεδνιζόνης μεγαλύτερη από 20 mg ημερησίως και συνολικά χορηγούμενη ποσότητα πρεδνιζόνης μεγαλύτερη από 700 mg σχετίζονται με ανοσοκαταστολή και αυξημένο κίνδυνο σοβαρών φλεγμονών¹⁰. Η σημασία της έγκαιρης διάγνωσης αποκτά μεγαλύτερη σημασία σε ασθενείς με ανοσοκαταστολή από διάφορα αίτια.

Η ακτινομυκητίαση συμπερασματικά, μπορεί να προσβάλλει πνευμονικό παρέγχυμα που παρουσιάζει αλλοιώσεις μετακτινικής πνευμονίτιδας, όπως σε ασθενείς με χειρουργηθέν καρκίνωμα του πνεύμονα που έχουν υποβληθεί σε συμπληρωματική ακτινοθεραπεία. Η κλινική και ακτινολογική εικόνα μπορεί να μοιάζει με αυτή των δευτεροπαθών εντοπίσεων. Η σπάνια αυτή νόσος πρέπει να είναι στη σκέψη των πνευμονολόγων, ογκολόγων και θωρακοχειρουργών που ασχολούνται με τη θεραπεία και μακρόχρονη παρακολούθηση των ασθενών με καρκίνωμα του πνεύμονα, γιατί μόνο η υποψία της νόσου και ο κατάλληλος προσανατολισμός του διαγνωστικού ελέγχου, μπορούν να αποτρέψουν τις δυσάστες επιπλοκές μιας καλοήθους νόσου.

SUMMARY

Pulmonary actinomycosis in the presence of radiation pneumonitis: A case report

C. Foroulis, D. Papadopoulos, S. Divani, A. Vardouli, A. Lioupis, K. Gourgoulianis

We present a case of pulmonary actinomycosis of the right upper lobe, which was secondary to radiation pneumonitis. One-year ago the patient underwent an uncomplicated left upper lobectomy en bloc with the 1st-2nd-3rd ribs and adjuvant radiotherapy, for a stage T₃N₀M₀ (IIb) superior sulcus, adenocarcinoma. Radiation pneumonitis complicated his late postoperative course and he received steroids for 3 months. Four months later he suffered from thoracic pain, exhaustion and minor hemoptysis. Chest x-ray showed two lesions, 0.5 and 1.5 cm of maximal diameter, located in the right upper lobe. CT

*scan showed evidence of metastatic disease and bronchoscopy was negative for intraluminal findings. The patient had exacerbation of hemoptysis and repeated Papanikolaou stained cytological examination of the sputum sample revealed "piles of actinomyces". The patient was treated with penicillin for 6 months. Clinical condition was improved and the diameter of right upper lobe lesions has decreased by half. **Pneumon 2002, 15(1):107-111.***

Key words: Pulmonary actinomycosis, radiation pneumonitis, sputum cytology, bronchogenic carcinoma, opportunistic infection of the lung

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Scott SM, Takaro T. Actinomyces Infections. In Baue AE, Geha AS, Hammond GL, Laks H, Naunheim KS (eds), Glenn's Thoracic and Cardiovascular Surgery, 5th edition, Apppeton & Lange, Connecticut 1991, volume I, chapter 17: 261-263.
2. Lucke JC. Thoracic Actinomycetic Infections. In Shields TW, LoCicero J, Ponn RB (eds), General Thoracic Surgery, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia 1999, Volume I, chapter 86: 1100-1101.
3. Tedder M, Wolfe WG. Actinomycosis and nocardial infections. Chest Surg Clin North Am 1993, 3(4): 657.
4. Talbot EA, Hicks CB. Opportunistic thoracic infections. Chest Surg Clin North Am 1999, 9(1): 167-192.
5. Sarodia BD, Farver C, Erzurum S, Maurer JR. A young man with two large masses. Chest 1999, 116: 814-8.
6. Cheon JE, Im JG, Kim MY, Lee JS, Choi GM, Yeon KM. Thoracic actinomycosis: CT findings. Radiology 1998, 209(1): 229-33.
7. Tastepe AI, Ulasan NG, Liman ST, Demircan S, Uzar A. Thoracic actinomycosis. Eur J Cardiothorac Surg 1998, 14(6): 578-83.
8. Bakhtawr I, Scafer RF, Salian N. Utility of Wang needle aspiration in the diagnosis of actinomycosis. Chest 2001, 119(6): 1966-8.
9. Lazzari G, Vineis C, Cugini A. Cytologic diagnosis of primary pulmonary actinomycosis: report of two cases. Acta Cytol 1981, 25: 299-301.
10. Gutierrez MG, Kirkpatrick CH. Recognition of the immunocompromised patient. Chest Surg Clin North Am 1999, 9(1): 1-18.

ΚΟΙΝΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΕΚΔΗΛΩΣΗ

**ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΝΕΥΜΟΝΟΛΟΓΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ (ΕΠΕ)
&
AMERICAN COLLEGE OF CHEST PHYSICIANS (ACCP)**

**Ξενοδοχείο Apollon-Divani, Καβούρι
26-28 Ιουνίου 2002**

- Δηλώσεις συμμετοχής έως 31 Μαρτίου 2002 (περιορισμένος αριθμός συμμετεχόντων)
- Κόστος Σεμιναρίου: 30.000 δραχ. (Ευρώ 89.00)

ΞΕΝΟΙ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΕΣ

Dr Prakash U.

Dr Mehta A.

Dr Kvale P.

Dr Costabel U.

Το Σεμινάριο, το οποίο περιλαμβάνει θεωρητικό και πρακτικό μέρος, θα συμμετάσχουν ως ομιλητές Έλληνες και ξένοι πνευμονολόγοι. Κατά το πρακτικό μέρος οι συμμετέχοντες, σε ομάδες των πέντε ατόμων, θα εκπαιδευθούν από τους ξένους εκπαιδευτές αλλά και πολλούς διακεκριμένους Έλληνες βρογχοσκόπους, στις σύγχρονες βρογχοσκοπικές τεχνικές επί προπλάσμάτων.

Πληροφορίες:

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΝΕΥΜΟΝΟΛΟΓΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ

Δευτέρα, Τρίτη και Πέμπτη, 4.00-8.00 μ.μ. (τηλ. 010-7487723)

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΝΕΥΜΟΝΟΛΟΓΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ (ΕΠΕ)

«ΠΡΩΤΟΠΑΘΗΣ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ»

3^ο Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο

28-29 Σεπτεμβρίου 2002

Αμφιθέατρο 251 Γενικού Νοσοκομείου Αεροπορείας

Οργανωτές:

Ογκολογική και Θωρακοχειρουργική Ομάδα Ελληνικής Πνευμονολογικής Εταιρείας