

# Διάγνωση και θεραπεία των διάχυτων διαμέσων πνευμονοπαθειών υπό το φως της νέας ταξινόμησης

Σ.Η. Κωνσταντόπουλος

Καθηγητής Πνευμονολογίας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

**Λέξεις κλειδιά:** Διάχυτη διάμεση, πνευμονοπάθεια, ιδιοπαθή πνευμονική ίνωση (ΙΠΙ), συνήθης διάμεση πνευμονία (UIP), μη ειδική διάμεση πνευμονία (NSIP)

Αλληλογραφία:  
Καθ. Σταύρος Κωνσταντόπουλος, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιατρική Σχολή, Ιωάννινα 45110

Εν αρχή ην ο Hamman και ο Rich<sup>1</sup> όταν πριν 65 χρόνια περιέγραψαν 4 ασθενείς που πέθαναν μέσα σε λίγες εβδομάδες (4-24) από διάχυτη διάμεση ίνωση των πνευμόνων αγνώστου αιτιολογίας. Ονόμασαν τη νόσο τους "κεραυνοβόλο διάχυτο διάμεσο ίνωση των πνευμόνων" και έτσι τα νοσήματα του διαμέσου πνευμονικού ιστού (ΔΠΙ) μπήκαν στη ζωή μας<sup>1,2</sup>.

Η οξεία, κεραυνοβόλος εικόνα των ασθενών αυτών μας κυνηγάει ακόμη και σήμερα. Ακόμη και σήμερα πολλοί ιατροί ονομάζουν σύνδρομο Hamman-Rich οιαδήποτε παθολογία του διαμέσου ιστού. Αυτό βέβαια δεν είναι ορθό. Πέραν του ότι πιθανότατα πολλοί ασθενείς των Hamman και Rich είχαν στοιχεία αυτοάνοσου ρευματικού νοσήματος (σκληρόδερμα), αυτοί αποτελούν την πολύ μικρή μειοψηφία των ασθενών με παθήσεις του ΔΠΙ, αυτών που σήμερα αναγνωρίζουμε υπό την οντότητα "οξεία διάμεση πνευμονία". Άλλωστε ένα από τα κλασικά χαρακτηριστικά των νοσημάτων του διαμέσου πνευμονικού ιστού είναι η αργή, βαθμιαία προσβολή του πνεύμονα. Με εξαίρεση βέβαια την οξεία διάμεση πνευμονία.

Τη δεκαετία του '60 ο Liebow<sup>3,4</sup> έδωσε μεγάλη ώθηση στην κατανόηση των παθήσεων του ΔΠΙ, όταν ισχυρίστηκε κάτι, που ύστερα από αμφισβητήσεις δεκαετιών επανέρχεται σήμερα και αποτελεί τη βάση της αντιμετώπισης των νοσημάτων αυτών. Ισχυρίστηκε ότι μορφολογικά (ιστολογικά) χαρακτηριστικά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να ταξινομήσουμε τα διάφορα αυτά νοσήματα, που εμφανίζονται με τυπικές αλλά όχι παθολογικές κλινικές εκδηλώσεις.

Η ταξινόμηση αυτή των Liebow και Carrington<sup>5</sup> που φαίνεται στον πίνακα 1 δεν καθιερώθηκε. Όχι απλώς δεν καθιερώθηκε αλλά έγινε αντικείμενο λαιμοδείας από τους τότε ηγέτες της παγκόσμιας Πνευμονολογίας, όπως τον Fishman που σε άρθρο σύνταξης αναφέρεται ειρωνικά στις "UIP, DIP and all that..."<sup>6</sup>. Ήταν η εποχή των "lumpers" αυτών δηλ. που έβαζαν (βάζαμε) όλα αυτά τα νοσήματα μαζί. Που έλεγαν (λέγαμε) ότι όλες αυτές οι ποικιλίες του Liebow δεν αποτελούν παρά διάφορα χρώματα του φάσματος της ίδιας κλινικής οντότητας<sup>7</sup>.

Έτσι τη δεκαετία του '70 καθιερώθηκε στις μεν ΗΠΑ ο όρος "ιδιοπα-

Πίνακας 1. Ταξινόμηση των "ιδιοπαθών διαμέσων πνευμονιών" από τους Liebow και Carrington (βιβλ. 5)

|                                                  |                                                              |
|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| 1. Συνήθης διάμεση πνευμονία                     | (usual interstitial pneumonia = UIP)                         |
| 2. Αποφρακτική βρογχιολίτις με διάμεση πνευμονία | (bronchiolitis obliterans with interstitial pneumonia = BIP) |
| 3. Αποφολιδωτική διάμεση πνευμονία               | (desquamative interstitial pneumonia = DIP)                  |
| 4. Λεμφοειδής διάμεση πνευμονία                  | (lymphoid interstitial pneumonia = LIP)                      |
| 5. Γιγαντοκυτταρική διάμεση πνευμονία            | (giant cell interstitial pneumonia = GIP)                    |

θής πνευμονική ίνωση" (= ΙΠΠ, idiopathic pulmonary fibrosis = IPF), στη δε Μ. Βρετανία ο όρος "κρυπτογενής ινοποιός κυψελιδίτις" (cryptogenic fibrosing alveolitis)<sup>8</sup>. Όροι που περιελάμβαναν όλες τις ιδιοπαθείς μορφές των παθήσεων του ΔΠ οι οποίες κατέληγαν σε ίνωση.

Η θεωρία των "lumpers" βασιζόταν στις εξής παραδοχές<sup>2</sup>: i) τα ιστολογικά ευρήματα της ΙΠΠ είναι μη ειδικά και επιπλέον, ii) μπορούν να εμφανιστούν κάτω από τις ίδιες κλινικές συνθήκες. Κατά συνέπεια, iii) όλες οι περιπτώσεις που χαρακτηρίζονται από επικράτηση, ιστολογικά, εικόνας ινώσεως αγνώστου αιτιολογίας, μπορούν να συμπεριληφθούν στην κατηγορία αυτή.

Ως όπλο για την υποστήριξη της θεωρίας τους οι "lumpers" χρησιμοποίησαν ένα νέο εργαλείο που αναπτύχθηκε στις αρχές του '80, τη βρογχοκυψελδική έκπλυση (Bronchoalveolar Lavage = BAL)<sup>9</sup>. Με το BAL ισχυρίστηκαν ότι απεδείχθη η ορθότης της θεωρίας "κυψελιδίτις → ίνωση" δηλαδή ότι όλες αυτές οι παθήσεις που συλλήβδην έβραζαν στο ίδιο καζάνι της ΙΠΠ άρχιζαν ως κυψελιδίτις και κατέληγαν υποχρεωτικά σε ίνωση.

Αυτό έχει καταρριφθεί σήμερα αφού γνωρίζουμε από πολλές μελέτες<sup>10</sup> μεταξύ των οποίων και δικές μας<sup>11,12</sup> ότι η κυψελιδίτις, ιδιαίτερα η λεμφοκυτταρική, όχι μόνο δεν καταλήγει πάντοτε σε ίνωση, αλλά μπορεί να είναι και "η ορθή" αντίδραση του πνεύμονα σε ποικίλους εισβολείς (π.χ. αμύαντος) αλλά ακόμη και να είναι εκδήλωση προστασίας έναντι νεοπλασίας<sup>13,14</sup>.

Παρ' όλα αυτά πέρασε μια δεκαετία ηρεμίας ως τα μέσα του '80 μέχρι να εμφανισθούν οι πρώτες ρωγμές στο οικοδόμημα των "lumpers"<sup>2</sup>. Κάποιες από τις οντότητες που ο Liebow είχε ξεχωρίσει εδείχθη ότι δεν ήταν καθόλου ιδιοπαθείς. Άρα δεν θα μπορούσαν να περιχαρκαθούν υπό το γενικό όρο "ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση". Πιο συγκεκριμένα, η γιγαντοκυτταρική διάμεση πνευμονία (GIP) απεδείχθη ότι οφείλεται σε έκθεση σε βαρέα μέταλλα<sup>15</sup>, ενώ η λεμφοκυτταρική (ILP) συνδέθηκε με λεμφοϋπερπλαστικά σύνδρομα αλλά και με το σύνδρομο ανοσοανεπάρκειας<sup>16-18</sup>. Αλλά και η BIP

ξεχώρισε, αφού φάνηκε ότι αποτελεί ετερογενή ομάδα, με πολλές από τις περιπτώσεις της να ανήκουν σε αυτό που ο Epler ονόμασε BOOP (bronchiolitis obliterans organizing pneumonia)<sup>19</sup> και που στην Ευρώπη ονομάζουμε COP (cryrogenic organizing pneumonia)<sup>20</sup>.

Δεν είναι λοιπόν όλα ίδια, δεν είναι όλα ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση. Και οι επίγονοι του Liebow με σημαιοφόρο την Anna-Luise Katzenstein επιχείρησαν και επέβαλαν τελικά νέα ταξινόμηση των ΔΠΠ, βασιζόμενη σε αυτήν του πατριάρχη τους. Βοηθήθηκαν σε αυτό από την εν τω μεταξύ μεγάλη ανάπτυξη των απεικονιστικών μεθόδων και ιδιαίτερα της υπολογιστικής τομογραφίας υψηλής ευκρίνειας που έδωσε απεικονιστικά ισοδύναμα των ιστολογικών ταξινομήσεων. Η νέα ταξινόμηση όμως καθιερώθηκε κυρίως από το γεγονός ότι κατόρθωσε να ξεχωρίσει οντότητες με διαφορετική ιστολογική/ακτινολογική εικόνα που είχαν διαφορετική πρόγνωση. Επιστέγασμα ήταν η απόσχιση της πολύ καλοηθέστερης NSIP από την UIP.

Η νέα ταξινόμηση Katzenstein<sup>5</sup> φαίνεται αναλυτικά στον πίνακα 2, ενώ ο πίνακας 3 αντιπαραθέτει περιληπτικά τις δύο ταξινομήσεις (Liebow και Katzenstein) για να υπογραμμιστούν οι κοινές καταβολές και διαφοροποιήσεις.

Όπως φαίνεται από το συγκριτικό πίνακα 3:

- i) Η UIP του Liebow παραμένει UIP στην Katzenstein αλλά αποχωρίζεται δύο κομμάτια της που έχουν πολύ διαφορετική εικόνα (ιστολογική, απεικονιστική, πρόγνωση), την AIP (οξεία διάμεση), δηλαδή τη γνωστή μας από παλαιά κερανοβοόλο νόσο Hamman-Rich και τη NSIP (μη ειδική διάμεση), που ενώ η κλινική της εικόνα είναι ολόϊδια με τη UIP, εν τούτοις έχει πολύ καλύτερη πρόγνωση.
- ii) Η DIP παραμένει ίδια και συμπεριλαμβάνει και τη RBILD (respiratory bronchiolitis interstitial lung disease) που ουσιαστικά είναι η ίδια εικόνα, μόνο που αντί να κυριαρχούν οι κυψελίδες κυριαρχούν τα αναπνευστικά βρογχιόλια.

Πίνακας 2. Παθολογοανατομική ταξινόμηση ιδιοπαθούς πνευμονικής ίνωσης από Katzenstein 1998 (βιβλ. 5)

1. Συνήθης διάμεση πνευμονία (usual interstitial pneumonia = UIP)
2. Αποφολιδωτική διάμεση πνευμονία/διάμεση πνευμονοπάθεια-βρογχιολίτις αναπνευστικών βρογχιολίων (desquamative interstitial pneumonia = respiratory bronchiolitis interstitial lung disease = DIP/RBILD)
3. Οξεία διάμεση πνευμονία = v. Hamman-Rich (acute interstitial pneumonia = AIP)
4. Μη ειδική διάμεση πνευμονία (non specific interstitial pneumonia = NSIP)

iii) Η BIP, η LIP και η GIP του Liebow φεύγουν αφού δεν θεωρούνται πια ιδιοπαθείς.

Η νέα ταξινόμηση έχει το μεγάλο πλεονέκτημα ότι ξεχωρίζει ευδιάκριτες οντότητες χρησιμοποιώντας ιστολογικά κριτήρια, που όμως ευτύχισαν να έχουν απεικονιστικά και κλινικά ισοδύναμα. Δηλαδή η ιστολογική εικόνα της UIP διαφέρει σαφώς από αυτή της NSIP. Όχι όμως μόνον αυτό. Υπάρχει και χαρακτηριστική απεικονιστική εικόνα της UIP που διαφέρει από τη χαρακτηριστική απεικονιστική εικόνα της NSIP. Το σημαντικότερο όμως είναι ότι διάγνωση NSIP ή UIP έχει κλινική σημασία αφού η NSIP έχει θεραπεία (κορτικοειδή) και καλή πρόγνωση, ενώ η UIP ούτε θεραπεία έχει ούτε καλή πρόγνωση. Η ταξινόμηση δηλαδή προσδίδει κλινική αξία στα ιστολογικά ευρήματα.

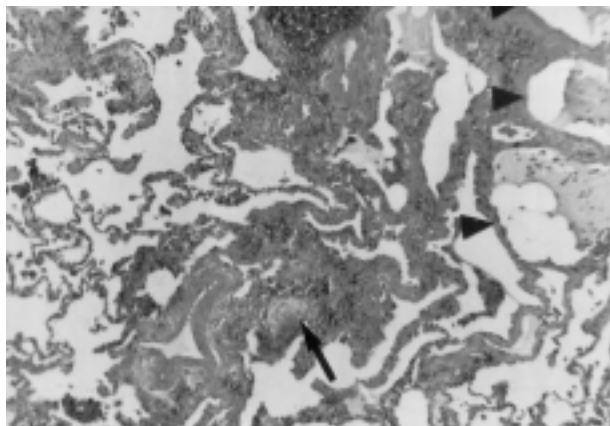
Από τις 4 οντότητες της νέας ταξινόμησης της Katzenstein οι πιο συχνές και πιο σημαντικές είναι η UIP (περίπου 60%) και η NSIP (περίπου 20-30%), ενώ πολύ πιο σπάνιες είναι η DIP και η AIP<sup>21,22</sup>. Τα αντιπαθητικά ακρωνύμια καθώς και οι χαρακτηρισμοί "συνήθης" (UIP)

και "μη ειδική" (NSIP) αδικούν τις δύο αυτές οντότητες αφού τους δίνουν την εικόνα της ασαφούς ("μη ειδική", "συνήθης") ενώ είναι απολύτως διακριτές κλινικές/παθολογοανατομικές οντότητες και αποτελούν δύο διαφορετικές παθήσεις με διαφορετική πρόγνωση.

Αυτό ελπίζω να φανεί στη σύντομη περιγραφή των τεσσάρων αυτών οντοτήτων που ακολουθεί, εστιάζοντας στα ιστολογικά χαρακτηριστικά.

Το ιστολογικό χαρακτηριστικό της UIP (Εικόνα 1) είναι η ετερογένεια. Στο ίδιο οπτικό πεδίο βλέπει κανείς περιοχές έντονης ίνωσης που φθάνει μέχρι μικροσκοπική εικόνα μελικηρύθρας (κορυφή αριστερά) και δίπλα-δίπλα περιοχές υγιούς πνευμονικού ιστού (κάτω δεξιά). Αυτό δηλώνει τη χρονική ετερογένεια της βλάβης. Ένα άλλο χαρακτηριστικό είναι οι ινοβλαστικές εστίες (κέντρο) που αντιπροσωπεύουν περιοχές ενεργού ινώσεως, σε αντίθεση με την κάποιας ηλικίας ανενεργό κολλαγονικού τύπου ίνωση (αριστερά).

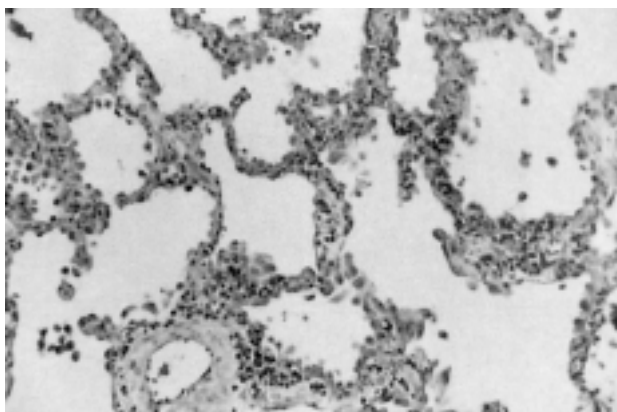
Ακόμα και κάποιοι μη ειδικός όπως ο γράφων, δύσκολα θα μπόρεσε την εικόνα αυτή της UIP με την εικόνα της NSIP που αντιπαρατίθεται (Εικόνα 2). Αντίθετα με την UIP, στην NSIP υπάρχει μια ανιαρή ομοιομορφία. Σαν να έγιναν όλα την ίδια στιγμή και να αναπτύσσονται συγχρόνως. Δεν υπάρχουν εδώ ούτε περιοχές ίνωσης ούτε μελικηρύθρας αλλά ούτε και φυσιολογικός διάμεσος πνευμονικός ιστός. Υπάρχει μια διάχυ-



Εικόνα 1. Ιστολογική εικόνα UIP (από Katzenstein 1998, βιβλ. 5). Χαρακτηριστική ποικιλία από τη μια περιοχή στην άλλη. Άνω αριστερά ανενεργός ίνωση κολλαγονικού τύπου μελικηρύθρας<sup>4</sup>, περιοχές ενεργού ινώσεως με ινοβλαστική εστία στο κέντρο (→) και φυσιολογικός διάμεσος πνευμονικός ιστός κάτω δεξιά.

Πίνακας 3. Συγκριτική, σύντομη αντιπαράθεση ταξινομήσεων Liebow και Katzenstein

| Ταξινόμηση Liebow | Ταξινόμηση Katzenstein |
|-------------------|------------------------|
| UIP=              | UIP                    |
|                   | NSIP                   |
|                   | AIP                    |
| DIP=              | DIP/RBILD              |
| BIP               |                        |
| LIP=              | ΕΞΩ                    |
| GIP               |                        |

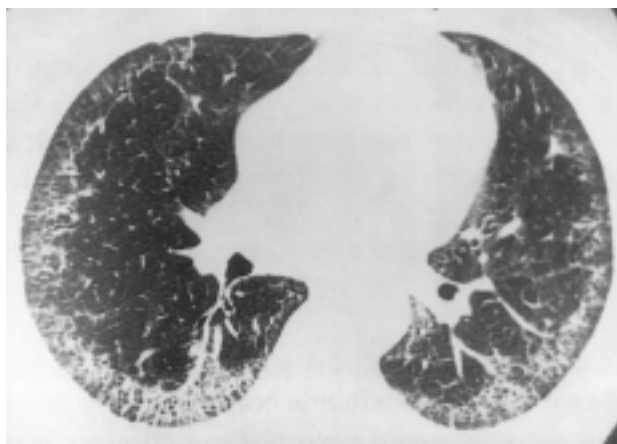


Εικόνα 2. Ιστολογική εικόνα NSIP (από Katzenstein 1998, βιβλ. 5). Διάχυτη, ομοιογενής διήθηση κυψελιδικών διαφραγμάτων από κυτταροβριθές διήθημα (λεμφοκύτταρα, πλασματοκύτταρα).

τη ομοιογενής πάχυνση των κυψελιδικών διαφραγμάτων από μία κυτταροβριθέστατη διήθηση με λεμφοκύτταρα και πλασματοκύτταρα.

Να γιατί οι παλαιότερες σειρές ανέφεραν ασθενείς με καλύτερη πρόγνωση, ιδίως μετά χορήγηση κορτικοειδών σε περιπτώσεις UIP με λεμφοκύτταρα (αντί ουδετερόφιλα ως όφειλε) στο BAL. Φαίνεται ότι δεν ήταν UIP αλλά NSIP την οποία τότε αγνοούσαμε.

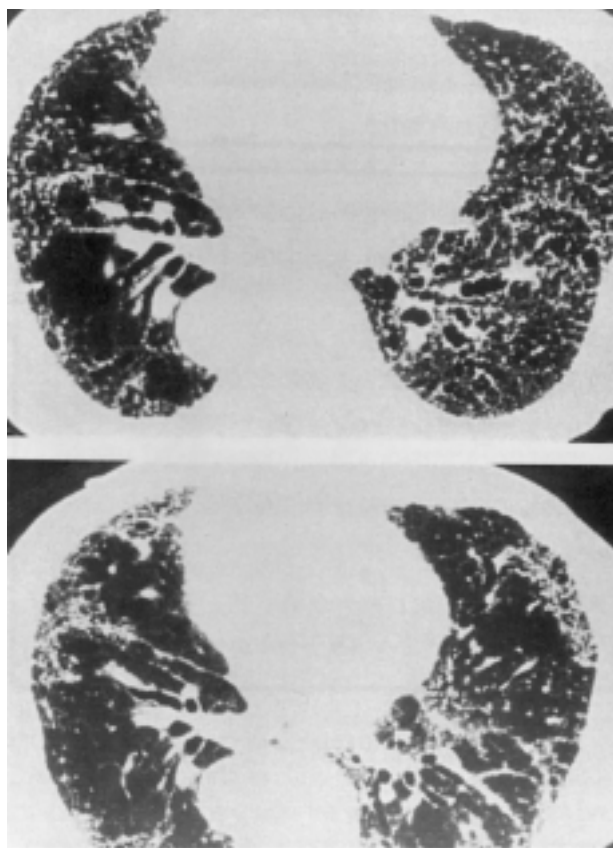
Οι ιστολογικές αυτές διαφορές ανάμεσα στην UIP και της NSIP εκφράζονται και απεικονιστικά στην αξονική τομογραφία υψηλής ευκρίνειας. Το χαρακτηριστικό της UIP (Εικόνα 3) είναι οι ενδολοβιδιακές (intral-



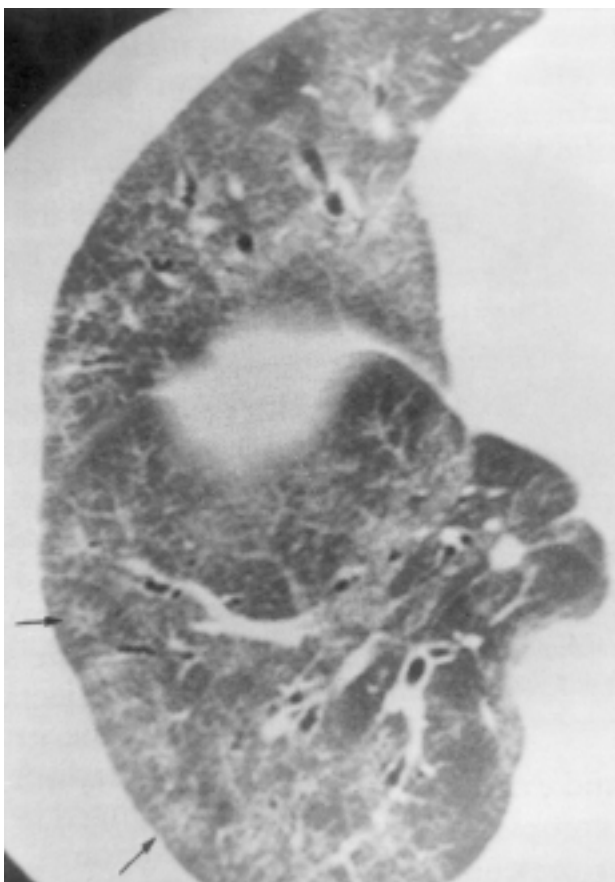
Εικόνα 3. Αξονική τομογραφία σε UIP (από βιβλ. 23, βλέπε κείμενο).

obular) δικτυωτές γραμμές με κατανομή κυρίως στην περιφέρεια του πνεύμονα, στις βάσεις και υποϋπεζωκοτικά<sup>23,24</sup>. Η εικόνα αυτή προχωράει ανελέητα προς την εικόνα μελικηρύθρας (Εικόνα 4).

Η εικόνα της NSIP στην αξονική είναι πολύ διαφορετική. Εδώ το κυτταροβριθές διήθημα των κυψελιδικών διαφραγμάτων έχει το απεικονιστικό του ισοδύναμο, την εικόνα θαμβής υάλου (Εικόνα 5). Έτσι η εικόνα θαμβής υάλου που είχαμε συνηθίσει να θεωρούμε "αρχόμενη" UIP αποδίδεται σήμερα κατά κύριο λόγο στην NSIP. Μπορεί να εμφανισθεί και στην UIP, αν όμως κυριαρχεί στην εικόνα (>30% του πνεύμονα), ακόμη και αν η λοιπή εικόνα οδηγεί σε UIP πρέπει να σκεφθούμε άλλη διάγνωση και κυρίως NSIP ή DIP<sup>26</sup>. Η αξονική τομογραφία δηλαδή μπορεί να μας οδηγήσει μακριά από την UIP σε οντότητες που ανταποκρίνονται στα κορτικοειδή. Η ανταπόκριση αυτή φαίνεται στην ει-



Εικόνα 4. Αξονική τομογραφία σε UIP μεσαίον προς τελικό στάδιο, με πάχυνση των μεσολοβιδίων διαστημάτων και εικόνα μελικηρύθρας (από βιβλ. 24, βλέπε κείμενο).



Εικόνα 5. Αξονική τομογραφία NSIP με τη χαρακτηριστική εικόνα θαμβής υάλου (από βιβλ. 25).

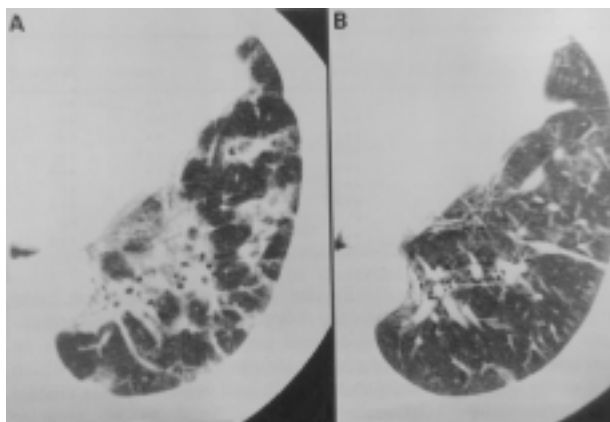
κόνα 6 και αποκλείει επίσης UIP.

Είναι φανερό ότι ο συνδυασμός της χαρακτηριστικής ιστολογικής εικόνας και των ευρημάτων της αξονικής μπορεί να διαφοροδιαγνώσει δύο οντότητες (UIP και NSIP) που κλινικά δεν διακρίνονται. Έχουν ακριβώς την ίδια εικόνα: βαθμιαία επιδεινούμενη δύσπνοια, βήχα με τριζόντες και πληκτροδακτυλία.

Η διάκριση αυτή έχει μεγάλη σημασία αφού η πρώτη (UIP) ουσιαστικά δεν θεραπεύεται ενώ η δεύτερη (NSIP) ανταποκρίνεται στα κορτικοστεροειδή και γενικά έχει πολύ καλύτερη πρόγνωση. Έτσι, ενώ στην UIP έχουμε μόνο 20% επιβίωση, στη NSIP έχουμε 80%. Στα 15 έτη οι αριθμοί είναι αντίστοιχα 3% και 42%<sup>27</sup>.

Οι άλλες δύο οντότητες της νέας ταξινόμησης (DIP/RBILD και AIP) είναι πολύ σπάνιες και το σημαντικότερο, δύσκολα συγχέονται με UIP.

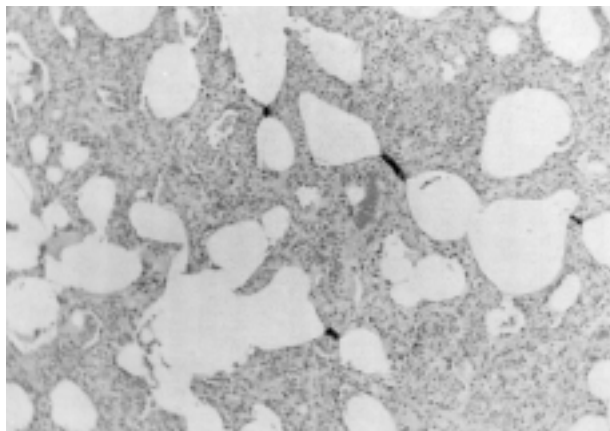
Η οξεία διάμεση πνευμονία (AIP) είναι αυτό που



Εικόνα 6. Αξονική τομογραφία NSIP που δείχνει βελτίωση των παρεγχυματικών αλλοιώσεων (B= ένα μήνα μετά την A) (από βιβλ. 25).

περιέγραψαν οι Hamman και Rich πριν 65 χρόνια, μια κεραυνοβόλος προσβολή του διάμεσου πνευμονικού ιστού που επιφέρει το θάνατο σε λίγες εβδομάδες. Η ιστολογική εικόνα είναι χαρακτηριστική με κυτταροβριθέστατη διήθηση από μονοπύρρηνα (Εικόνα 7). Η όλη εικόνα θυμίζει περισσότερο ARDS και δύσκολα συγχέεται με UIP<sup>28</sup>.

Τέλος, η "αποφολιδωτική διάμεση πνευμονία" (DIP) είναι επίσης πολύ σπάνια αλλά πρέπει να αναφερθεί γιατί η κλινική της εικόνα είναι παρόμοια με της UIP (βαθμιαία επιδεινούμενη δύσπνοια και βήχας, συνήθως σε καπνιστές) αλλά η ιστολογική εικόνα την ξεχωρίζει. Στο μικροσκόπιο βλέπουμε τη χαρακτηριστική εικόνα



Εικόνα 7. Ιστολογική εικόνα AIP με τη χαρακτηριστική εντονότατη διήθηση από μονοπύρρηνα κύτταρα (από βιβλ. 5).

κυψελίδων γεμάτες κύτταρα. Τα κύτταρα αυτά είχαν αρχικά θεωρηθεί ότι είναι "αποφολιδωμένα" επιθηλιακά κύτταρα από τα κυψελιδικά διαφράγματα. Εξ ου και ο όρος "αποφολιδωτική διάμεση πνευμονία". Σήμερα γνωρίζουμε ότι πρόκειται για κυψελιδικά μακροφάγα γι' αυτό και η οντότητα αυτή ονομάζεται πλέον όχι DIP αλλά AMP = alveolar macrophage pneumonia (πνευμονία κυψελιδικών μακροφάγων)<sup>2</sup>. Όταν η διήθηση αυτή αφορά κυρίως τα αναπνευστικά βρογχιόλια και τον πέριξ διάμεσο ιστό ονομάζεται RBILD = respiratory bronchiole interstitial lung disease = διάμεση πνευμονοπάθεια αναπνευστικών βρογχιολίων.

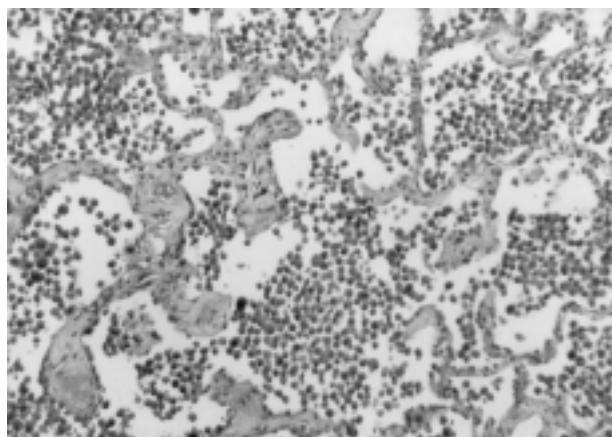
Φαίνεται λοιπόν ότι, μετά είκοσι έτη εντατικής έρευνας, η ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση (ΙΠΙ) δεν είναι πια αυτή που ήταν το 1980. Τότε ο όρος αναφέρονταν σε μια ετερογενή ομάδα παθήσεων του διάμεσου πνευμονικού ιστού αγνώστου αιτιολογίας, ύστερα από αποκλεισμό άλλων πιο σαφών κλινικά οντοτήτων (σαρκοείδωση, πνευμοκονίωση, αυτοάνοσα ρευματικά νοσήματα, κ.ά.).

Σήμερα η ΙΠΙ είναι μια σαφής κλινική οντότητα με συγκεκριμένα κλινικά, ακτινολογικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά και συγκεκριμένη εικόνα συνήθους διάμεσης πνευμονίας (UIP) σε ανοικτή βιοψία<sup>26</sup>. Δηλαδή η UIP είναι το παθολογοανατομικό ισοδύναμο της ΙΠΙ. Δηλαδή όλες οι ΙΠΙ = UIP. Το αντίθετο δεν ισχύει υποχρεωτικά (π.χ. η αμιάντωση ιστολογικά δίνει επίσης UIP). Όλες οι κλινικά παρόμοιες καταστάσεις (DIP, AIP, NSIP) θεωρούνται ξεχωριστές νοσολογικές οντότητες. Επειδή οι πιο πολλές έχουν καλύτερη πρόγνωση από την ΙΠΙ και ανταποκρίνονται στα κορτικοστεροειδή, πρέπει να γίνει κάθε δυνατή προσπάθεια να τις διαφοροδιαγνώσουμε, εν ανάγκη με ανοικτή βιοψία.

Το αν όμως πρέπει να κάνουμε πάντοτε ανοικτή βιοψία φαίνεται στον αλγόριθμο που ακολουθεί (Εικόνα 9)<sup>21</sup>. Όπως φαίνεται, στηρίζομαστε πάντοτε στο ιστορικό και τη φυσική εξέταση. Εμείς οι Πνευμονολόγοι σ' αυτά συμπεριλαμβάνουμε και την ακτινογραφία θώρακα και τις αναπνευστικές δοκιμασίες.

Αν αυτά τα βασικά μας διαγνωστικά εργαλεία δεν δώσουν υποψία ΙΠΙ αλλά άλλης νόσου (σαρκοείδωση, λοίμωξη, νεοπλασία), θα κάνουμε βρογχοσκόπηση (με διαβρογχική βιοψία και BAL) και αξονική.

Αν υποψιαζόμαστε ΙΠΙ θα στηριχθούμε στην αξονική. Αν αυτή δίνει επικράτηση δικτυωτού προτύπου (>25% επιφανείας πνεύμονα), η διάγνωση είναι μάλ-



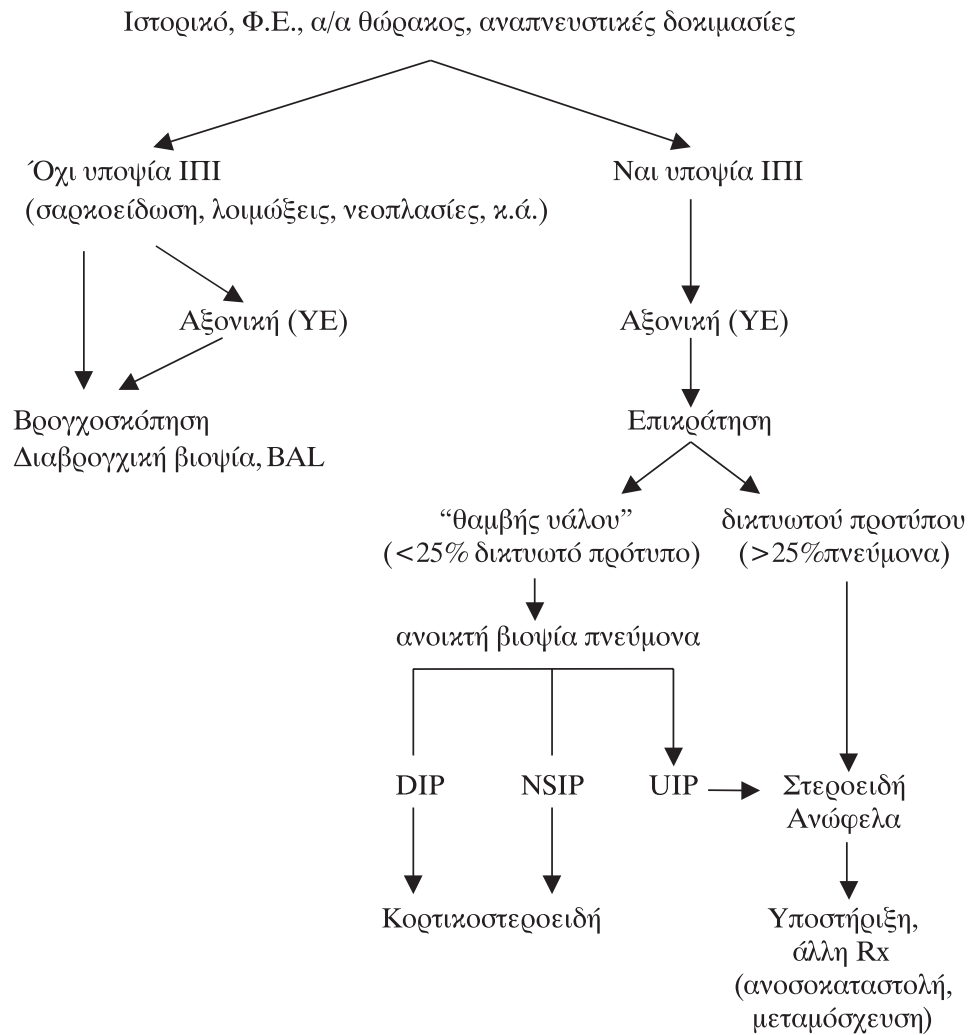
Εικόνα 8. Ιστολογική εικόνα DIP με τη χαρακτηριστική πλήρωση των κυψελίδων από "αποφολιδωμένα" κύτταρα, που στην πραγματικότητα είναι κυψελιδικά μακροφάγα (από βιβλ. 5).

λον ΙΠΙ, και πάντως η χορήγηση κορτικοστεροειδών είναι ανώφελη. Θα κάνουμε υποστηρικτική αγωγή (οξυγόνο, κ.ά.) και θα σκεφθούμε εναλλακτικές λύσεις, όπως ανοσοκατασταλτικά ή και μεταμόσχευση πνεύμονα.

Αν υποψιαζόμαστε ΙΠΙ και η αξονική τομογραφία δίνει κυρίως εικόνα θαμβής υάλου, έχουμε μεγάλη πιθανότητα DIP και NSIP χωρίς να αποκλείεται UIP. Θα αναγκαστούμε να προχωρήσουμε σε ανοικτή βιοψία γιατί, όπως επανειλημμένως έχουμε τονίσει, η NSIP και η DIP ανταποκρίνονται στα κορτικοειδή. Αν η βιοψία δείξει UIP χάσαμε ...

Λεπτομέρειες για τα κριτήρια διάγνωσης και για την αντιμετώπιση της ΙΠΙ υπάρχουν στην έκθεση ομοφωνίας των ATS, ACCP και ERS και παρατίθενται περιληπτικά στην περιεκτικότερη πρόσφατη εισήγηση των U. Costabel και J.F. King στο ERJ (Πίνακας 4)<sup>26</sup>. Πέραν των κριτηρίων, αυτά που τονίζονται κυρίως για τη θεραπεία της ΙΠΙ είναι ότι: i) δεν υπάρχουν αρκετά στοιχεία που να υποστηρίζουν ότι κάποια από τις σύγχρονες θεραπευτικές προσεγγίσεις ωφελεί τον ασθενή, ii) η θεραπεία δεν ενδείκνυται για όλους τους ασθενείς με ΙΠΙ, αλλά, αν είναι να γίνει, πρέπει να γίνει νωρίς με την πρώτη κλινική/φυσιολογική ένδειξη ή την πρώτη ένδειξη επιδείνωσης και iii) ίσως η μεταμόσχευση πνεύμονα είναι η λύση για κάποιους από τους ασθενείς.

Οι σημερινές συστάσεις για θεραπεία φαίνονται στον πίνακα 5. Είναι θεραπεία συνδυασμού κορτικοστεροειδών και αζαθειοπρίνης ή κυκλοφωσφαμίδης, χορηγεί-



Εικόνα 9. Αλγόριθμος για διάγνωση και αντιμετώπιση ΙΠΙ (από βιβλ. 21).

Πίνακας 4. Κριτήρια κλινικής διάγνωσης ΙΠΙ (από βιβλ. 26)

#### Μείζονα

- 1) Αποκλεισμός άλλων γνωστών αιτίων (π.χ. φάρμακα, επαγγελματικά, αυτοάνοσα)
- 2) Διαταραχή ανταλλαγής αερίων και περιορισμός στις αναπνευστικές δοκιμασίες
- 3) Δικτυωτό πρότυπο στις βάσεις με ελάχιστες διηθήσεις "θαμβής υάλου" στην αξονική
- 4) Η διαβρογχική βιοψία ή το BAL να μην δίνουν πιθανότητα άλλης διαγνώσεως

#### Ελάσσονα

- 1) Ηλικία άνω των 50 ετών
- 2) Βαθμιαία έναρξη ανεξήγητης δύσπνοιας στην κόπωση
- 3) Διάρκεια νόσου πάνω από 3 μήνες
- 4) Εισπνευστικοί τριζόντες στις βάσεις

Πίνακας 5. Συνιστώμενη θεραπεία ΙΠΙ (από βιβλ. 26)

Κορτικοστεροειδή (πρεδνιζόνη ή ισοδύναμο)

0,50 mg/kg/24h p.o. x 4 εβδομάδες

0,25 mg/kg/24h p.o. x 8 εβδομάδες

Σταδιακή μείωση σε 0,125 mg/kg/24h\*

#### συν

Αζαθειοπρίνη

2-3 mg/kg/24h (μεγίστη = 150 mg)\*\*

#### ή

Κυκλοφωσφαμίδη

2 mg/kg/24h (μεγίστη = 150 mg)\*\*\*

\* ή 0,25 mg/kg μέρα παρά μέρα

\*\* Αρχική δόση 25-50 mg/24h αυξάνοντας ανά 25 mg κάθε 1-2 εβδομάδες

\*\*\* Αρχική δόση 25-50 mg/24h αυξάνοντας ανά 25 mg κάθε 1-2 εβδομάδες

ται σε ασθενείς με κάποια πιθανότητα ανταπόκρισης (Πίνακας 6) και πρέπει να έχει διάρκεια τουλάχιστον 6 μήνες<sup>26</sup>. Κατά καιρούς έχουν χρησιμοποιηθεί κολχικίνη, D-πενικιλλαμίνη, N-ακετυλ-κυστεΐνη και πιο πρόσφατα

ιντερφερόνη-β και ιντερφερόνη-γ, αλλά η αξία τους δεν έχει αποδειχθεί.

Κλείνοντας, επιτρέψτε μου κάποια υποκειμενικά συμπεράσματα (με ολίγη αντιγραφή από τους Costabel και King)<sup>26</sup>:

- i) Η ΙΠΙ είναι μια σαφώς καθορισμένη νόσος που ιστολογικά χαρακτηρίζεται από UIP.
- ii) Η "απόσχιση" της καλοήστερης NSIP σημαίνει ότι πολλές παλαιές "καλοήθεις" ΙΠΙ ήταν στην πραγματικότητα NSIP. Γι' αυτό είχαν λεμφοκύτταρα στο BAL. Γι' αυτό πήγαιναν καλά με κορτιζόνη.
- iii) Η διάγνωση ΙΠΙ μπορεί να γίνει και χωρίς ανοικτή βιοψία όταν πληρούνται τα κριτήρια (ιδίως απουσία "θαμβής υάλου" στην αξονική). Όταν όμως η κλινική/ακτινολογική εικόνα δεν είναι βέβαιη, η ανοικτή βιοψία είναι υποχρεωτική, αφού ελπίζουμε να μας δείξει NSIP ή DIP.
- iv) Αν είναι να θεραπεύσουμε, να θεραπεύσουμε όσο πιο γρήγορα γίνεται.

Πίνακας 6. Ενδείξεις καλύτερης πρόγνωσης (μακρύτερη επιβίωση ασθενών με ΙΠΙ) (από βιβλ. 26)

- 1) Ηλικία κάτω των 50
- 2) Γένος θηλυκό
- 3) Βραχεία περίοδος συμπτωμάτων (< 1 έτος) με λιγότερη δύσπνοια και σχετικά καλές αναπνευστικές δοκιμασίες
- 4) Παρουσία διηθήσεων θαμβής υάλου μαζί με το δικτυωτό πρότυπο στην αξονική
- 5) Λεμφοκυττάρωση (20-25%) στο BAL
- 6) Καλή απάντηση ή σταθερή νόσος 3-6 μήνες μετά αρχική αγωγή με κορτικοστεροειδή
- 7) Κάπνισμα την εποχή της διαγνώσεως (ανεξήγητο εύρημα)

## SUMMARY

### *Diagnosis and therapy of diffuse interstitial lung disease according to the recent classification*

*St. Konstantopoulos*

*Many things have changed since Hamman and Rich's first description of fulminant "diffuse interstitial lung fibrosis" in the 1930's. The most recent classification of Katzenstein follows the logic of Leibow, a logic that has been ignored for decades. The main differentiation is the separation from usual interstitial pneumonitis (UIP) of a specific disease entity with similar clinical characteristics "non specific interstitial pneumonitis" (NSIP). This entity has also characteristic CT appearance and most importantly much better prognosis since it responds to treatment with corticosteroids. The new classification has changed our diagnostic and therapeutic strategy for the diffuse interstitial lung diseases. Today we believe that: i) idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) is a specific disease entity with the histologic pattern of UIP, ii) the separation of NSIP from UIP most probably means that old "benign" cases of IPF where in fact NSIP and this is why they had better clinical course, iii) the diagnosis of IPF can be obtained without lung biopsy if major clinical criteria are met and high resolution CT has minimal ground glass appearance. Whenever clinical/radiologic picture is not clear, open lung biopsy is imperative in order to rule out entities with better prognosis, mainly NSIP, iv) The suggested therapeutic regimen is combination of corticosteroids with azathioprine or cyclophosphamide and v) if we are going to treat we must do so as early as possible. **Pneumon 2001, 14(3):174-183***

**Key words:** Diffuse interstitial lung disease, idiopathic pulmonary fibrosis (IPF), usual interstitial pneumonitis (UIP), non-specific interstitial pneumonitis (NSIP)



## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Hamman L, Rich AR. Fulminant diffuse interstitial fibrosis of the lungs. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 1935, 51:154-63.
2. Poletti V, Kitaichi M. Facts and controversies in the classification of idiopathic interstitial pneumonias. *Sarcoidosis and Vasculitis and Diffuse Lung Diseases* 2000, 17:229-238.
3. Liebow AA. New concepts and entities in pulmonary disease. In Liebow AA (Ed): *The Lung*. Williams & Wilkins, Baltimore 1967, 332-65.
4. Liebow AA, Carrington CB. The interstitial pneumonias. In Simon M et al. *Frontiers of pulmonary radiology*. Grune & Stratton, Orlando, 1968, 102-41.
5. Katzenstein AL and Myers JL. Idiopathic pulmonary fibrosis. Clinical relevance of pathologic classification. *Am J Respir Crit Care Med* 1998, Vol. 157:1301-1315.
6. Fishman AP. UIP, DIP and all that. *N Engl J Med* 1978, 844:298-843.
7. Crystal RG, Gadek JE, Ferrans VJ, Fulmer JD, Line BR, Hunninghake GW. Interstitial lung disease: current concepts of pathogenesis, staging and therapy. *Am J Med* 1981, 70:542-68.
8. Scadding JG, Hinson KF. Diffuse fibrosing alveolitis (diffuse interstitial fibrosis of the lungs). *Thorax* 1967, 22:291-304.
9. Crystal RG, Bitterman PB, Rennard SI, Hance AJ, Keogh BA. Interstitial lung diseases of unknown cause: disorders characterized by chronic inflammation of the lower respiratory tract. *N Engl J Med* 1984, 310:154-66.
10. Smiejan JM, Cosnes J, Chollet-Martin S, et al. Sarcoid-like lymphocytosis of the lower respiratory tract in patients with active Crohn's disease. *Ann Intern Med* 1986, 104: 17-21.
11. Dalavanga YA, Constantopoulos SH, Galanopoulou V, Moutsopoulos HM. Alveolitis correlates with clinical pulmonary involvement in primary Sjogren's syndrome. *Chest* 1991, 99:1394-7.
12. Dalavanga YA, Constantopoulos SH, Zerva LB, Trekli MM, Kotoulas OB and Moutsopoulos HM. Liquid phase characteristics of bronchoalveolar lavage in primary Sjogren's syndrome. *Chest* 1992, 102:1805-07.
13. Constantopoulos SH, Dalavanga YA, Sakellariou K, Goudevenos J and OB Kotoulas. Lymphocytic alveolitis and pleural calcifications in non-occupational asbestos exposure. Protection against neoplasia? *Am Rev Respir Dis* 1992, 146:1565-1570.
14. Galani V, Constantopoulos SH, Manda-Stachouli C, Frangou-Lazaridis M, Mavridis A, Vassiliou M, Tsaparonis Ch, Dalavanga YA. Additional proteins in bronchoalveolar lavage fluid of Metsovites environmentally exposed to asbestos. *Chest* (In Press).
15. Demedts M, Ceuppens JL. Respiratory disease from hard metal or cobalt exposure: solving the enigma. *Chest* 1989, 95:2-3.
16. Julsrud PR, Brown LR, Li CY, Rosenow EC, Crowe JK. Pulmonary processes of mature-appearing lymphocytes: pseudolymphoma, well-differentiated lymphocytic lymphoma, and lymphocytic interstitial pneumonia. *Radiology* 1978, 127:289-296.
17. Grieco MH, Chinoy-Acharya P. Lymphocytic interstitial pneumonitis associated with the acquired immunodeficiency syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1985, 131:952-55.
18. Teshima H, Masaoka T, Inoue T, et al. Interstitial pneumonitis in allogeneic bone marrow transplantation: a report from the Japanese BMT Study Group. *Bone Marrow Transplant* 1986, 1:179-83.
19. Epler GR, Colby TW, McLoud TC, Carrington CB, Gaensler EA. Bronchiolitis obliterans organizing pneumonia. *N Engl J Med* 1985, 312:152-8.
20. Cordier JF. Organizing pneumonia. *Thorax* 2000, 55:318-28.
21. Michaelson JE, Aguayo SM and Boman J. Idiopathic pulmonary fibrosis. A practical approach for diagnosis and management. *Chest* 2000, 118:788-794.
22. Bjoraker JA, Ryu JH, Edwin MK, Myers JL, Tazelaar HD, Schroeder DR and Offord KP. Prognosis significance of histopathological subsets in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998, 157:199-203.
23. Grenier P, Branner M and Valeyre D. CT in the assessment of diffuse lung disease. *Sarcoidosis* 1999, 16:47-56.
24. Raghu G. Evolving definition and approach to diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis. In: TE. King (Ed): *New approaches to managing idiopathic pulmonary fibrosis*, Published by ATS, September 2000, p.p. 14-20.
25. Akira M, Inoue G, Yamamoto S, Sakatani M. Non-specific interstitial pneumonia: findings on sequential CT scans of nine patients. *Thorax* 2000, 55:854-859.
26. Costabel U and King TE. International consensus statement on idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Resp J* 2001, 17:163-167.
27. Schwartz DA. Epidemiology, morbidity, mortality, and familial distribution of idiopathic pulmonary fibrosis. In:

TE. King (Ed): New approaches to managing idiopathic pulmonary fibrosis, Published by ATS, September 2000, p.p. 1-7

28. Bouros D, Nicholson AC, Polychronopoulos V, Du Bois RM. Acute interstitial pneumonia. *Eur Respir J* 2000, 15:412-8.

# Συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα: Μια νέα μη επεμβατική μέθοδος για την εκτίμηση της φλεγμονής των αεραγωγών

Κ. Κωστίκας,  
Σ. Λουκίδης

Πνευμονολογική Κλινική 401 Γενικού Στρατιωτικού  
Νοσοκομείου Αθηνών

**Λέξεις κλειδιά:** Συμπύκνωμα εκπνεόμενου αέρα, φλεγμονή αεραγωγών, υπεροξειδίο του υδρογόνου, 8-ισοπροστάδιο, νιτρικά/νιτρώδη, βρογχικό άσθμα, χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, κυστική ίνωση, βρογχεκτασίες, ARDS

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ.** Η φλεγμονή των αεραγωγών παίζει κεντρικό ρόλο σε νοσήματα όπως το άσθμα και η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια. Η εφαρμογή μη επεμβατικών τεχνικών για την εκτίμηση αυτής της φλεγμονής αποτελεί αντικείμενο αυξανόμενου ενδιαφέροντος κατά τα τελευταία έτη. Η συλλογή του συμπυκνώματος του εκπνεόμενου αέρα επιτυγχάνεται μετά από ψύξη του με ειδικές διατάξεις και παρέχει πολύτιμες πληροφορίες για περιοχές του αναπνευστικού που παλαιότερα ήταν προσπελάσιμες μόνο επεμβατικά. Στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα έχουν προσδιοριστεί μέχρι σήμερα μόρια όπως υπεροξειδίο του υδρογόνου, 8-ισοπροστάδιο, τελικά προϊόντα μεταβολισμού του NO (νιτρικά/νιτρώδη, νιτροτυροσίνη), λευκοτριένια και πρόσφατα το pH του. Η κλινική εφαρμογή αυτών των μετρήσεων αφορά πολλές από τις φλεγμονώδεις παθήσεις του αναπνευστικού, όπως είναι το άσθμα, η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, η κυστική ίνωση, οι βρογχεκτασίες και το ARDS. Παρά τα μεθοδολογικά προβλήματα που παρουσιάζει ακόμη η μέθοδος, ο μη επεμβατικός της χαρακτήρας, που δίνει τη δυνατότητα επαναλαμβανόμενων μετρήσεων στο ίδιο άτομο και οι πολύτιμες πληροφορίες που έχουν συγκεντρωθεί με την εφαρμογή της, την καθιστούν χρήσιμο μέσο για τη μελέτη της φλεγμονής των αεραγωγών. *Πνεύμων 2001, 14(3)184-196.*

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η φλεγμονή των αεραγωγών παίζει κεντρικό ρόλο σε νοσήματα όπως το άσθμα και η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ). Η εκτίμηση αυτής της φλεγμονής είναι ιδιαίτερα σημαντική για τη διερεύνηση των βασικών παθογενετικών μηχανισμών κάποιων νοσημάτων, ενώ και ο ρόλος της στην εμφάνιση παροξύνσεων και στην πρόκληση χρόνιων δομι-

Αλληλογραφία:  
Στέλιος Λουκίδης, Σμόλικα 2, 16673 Αθήνα, τηλ.:  
01-8954603, Fax: 01-7494095, E-mail ssat@hol.gr

κών μεταβολών στους αεραγωγούς είναι ιδιαίτερα σημαντικός. Επιπλέον, είναι πιθανό ότι η αξιολόγηση της φλεγμονής θα δώσει τη δυνατότητα διάγνωσης χρόνιων παθήσεων των αεραγωγών που δεν αποκαλύπτονται με την κλινική εξέταση, τις λειτουργικές δοκιμασίες των πνευμόνων ή με τον έλεγχο της βρογχικής υπεραντιδραστικότητας. Η εκτίμηση της φλεγμονής των αεραγωγών γινόταν μέχρι πρόσφατα αποκλειστικά με επεμβατικές τεχνικές, όπως είναι το βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα (BAL), η ενδοβρογχική και η διαβρογχική βιοψία, υλικά που λαμβάνονται βρογχοσκοπικά. Ωστόσο, τέτοιες τεχνικές έχουν αυξημένους κινδύνους επιπλοκών και δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν για διαδοχικές μετρήσεις στον ίδιο ασθενή. Κατά τα τελευταία χρόνια, η έρευνα έχει επικεντρωθεί σε λιγότερο επεμβατικές τεχνικές, όπως είναι η προκλητή απόχρεμψη<sup>1</sup> και η μέτρηση δεικτών στον εκπνεόμενο αέρα (με κυριότερο το εκπνεόμενο μονοξείδιο του αζώτου [NO]) και στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα.

Το ενδιαφέρον για την αξιοποίηση του συμπυκνώματος του εκπνεόμενου αέρα (exhaled ή expired breath condensate) άρχισε στα μέσα της δεκαετίας του 1980, με τη μελέτη του σε ασθενείς που νοσηλεύονταν διασωληνωμένοι υπό μηχανική υποστήριξη της αναπνοής στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας<sup>2</sup>. Από τότε, ιδιαίτερα μετά τα μέσα της δεκαετίας του 1990, αυξάνεται διαρκώς το ενδιαφέρον για τη νέα αυτή μη επεμβατική τεχνική και τις πιθανές προοπτικές αξιοποίησής της στη μελέτη της φλεγμονής των αεραγωγών.

#### ΤΙ ΕΙΝΑΙ ΤΟ ΣΥΜΠΥΚΝΩΜΑ ΤΟΥ ΕΚΠΝΕΟΜΕΝΟΥ ΑΕΡΑ

Ο αέρας στους βρόγχους και τις κυψελίδες είναι κορεσμένος με υδρατμούς σε ποσοστό 100% και έχει θερμοκρασία 37°C, ανεξάρτητα από την υγρασία και τη θερμοκρασία του εισπνεόμενου μίγματος αέρα<sup>3</sup>. Με βάση την παρατήρηση αυτή, η ψύξη του εκπνεόμενου αέρα θα επιφέρει υγροποίηση των υδρατμών. Οι υδρατμοί αυτοί συμπαρασύρουν διάφορα πτητικά και μη μόρια, με μέγεθος <65 kDa, που προέρχονται από το κατώτερο αναπνευστικό<sup>4</sup>. Η συλλογή του συμπυκνώματος του εκπνεόμενου αέρα στοχεύει στη μελέτη αυτών των μορίων, από τα οποία είναι δυνατόν να αντληθούν πολύτιμες πληροφορίες για θέσεις του αναπνευστικού που είναι προσπελάσιμες μόνο επεμβατικά.

#### ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΣΥΛΛΟΓΗΣ

Το συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα συλλέγεται σήμερα με δύο κυρίως τεχνικές, που εφαρμόζονται σε διάφορα κέντρα με κάποιες παραλλαγές. Και στις δύο τεχνικές η αρχική προετοιμασία είναι η ίδια. Ο εξεταζόμενος ξεπλένει καλά το στόμα και το στοματοφάρυγγά του με νερό και κατόπιν αναπνέει ήρεμα και σταθερά (tidal breathing) μέσα σε ένα επιστόμιο για 10-15 λεπτά, με τη μύτη του κλειστή με ένα ρινικό πίεστρο. Στο επιστόμιο υπάρχει μια βαλβίδα διπλής κατεύθυνσης (τύπου Heins-Rudolph), με την οποία επιτυγχάνεται διαχωρισμός της εισπνοής από την εκπνοή. Και με τους δύο τρόπους επιδιώκεται η συλλογή τουλάχιστον 1 ml συμπυκνώματος του εκπνεόμενου αέρα, το οποίο συνήθως καταψύχεται άμεσα (κατά κανόνα στους -70°C) προκειμένου να εξεταστεί σε δεύτερο χρόνο. Οι δύο τεχνικές διαφέρουν αποκλειστικά στον τρόπο συλλογής του συμπυκνώματος.

Στην πρώτη τεχνική<sup>5</sup>, το συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα συλλέγεται μέσα σε ένα γυάλινο δοχείο με δύο χώρους. Στον εσωτερικό χώρο τοποθετείται πάγος ενώ ο αέρας που εκπνέεται από τον εξεταζόμενο διέρχεται από τον εξωτερικό. Το συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα παράγεται στην ψυχρή εξωτερική επιφάνεια του εσωτερικού δοχείου και συλλέγεται στο κατώτερο τμήμα του εξωτερικού χώρου της διάταξης καθ' όλη τη διάρκεια της διαδικασίας. Σε άλλα κέντρα εφαρμόζεται μια περισσότερο σύνθετη τεχνική με τη χρήση ξηρού πάγου<sup>6</sup>.

Στη δεύτερη τεχνική, που χρησιμοποιείται και στην Κλινική μας<sup>7</sup>, ο εκπνεόμενος αέρας ψύχεται με την εφαρμογή ψυχρού αέρα. Το μηχάνημα που χρησιμοποιείται για την πρόκληση με ψυχρό αέρα χρησιμοποιείται για την παραγωγή ψυχρού αέρα σε θερμοκρασίες από -15°C έως -18°C με ροή 80 l/λεπτό. Η συλλογή του συμπυκνώματος γίνεται με ένα γυάλινο σωλήνα διπλού αυλού μήκους 30 cm. Το ένα στόμιο του εξωτερικού αυλού συνδέεται με το σημείο εξόδου του ψυχρού αέρα και ο αέρας αυτός απομακρύνεται από το άλλο άκρο αυτού του αυλού. Στο ένα στόμιο του εσωτερικού αυλού εκπνέει ο εξεταζόμενος μέσω της βαλβίδας τύπου Heins-Rudolph. Στην περίπτωση αυτή το συμπύκνωμα παράγεται στον εσωτερικό αυλό και συλλέγεται σε ειδική διάταξη που βρίσκεται στο αντίθετο από τον ασθενή άκρο.

Η μέθοδος που χρησιμοποιούμε στην Κλινική μας

πλεονεκτεί έναντι της πρώτης μεθόδου στα ακόλουθα: (1) Με τη μέθοδο του ψυχρού αέρα αποφεύγεται εντελώς η ανάμειξη με σίελο, καθώς η συλλογή γίνεται στο περιφερικό άκρο του σωλήνα που βρίσκεται 30 cm μακριά από το στόμα του ασθενούς και (2) η θερμοκρασία ψύξεως του δείγματος μέσω του μηχανήματος του ψυχρού αέρα είναι σταθερή, κάτι που δεν είναι εφικτό με την πρώτη μέθοδο, όπου στη διαδικασία ο πάγος τήκεται, με αποτέλεσμα τη μεταβολή της θερμοκρασίας.

Σε όλες τις μετρήσεις γίνεται προσδιορισμός της αμιγλότητας στο δείγμα, προκειμένου να αποκλειστεί η πρόσμιξη με σίελο. Στο σίελο περιέχονται ποσότητες οξειδωτικών ουσιών, γεγονός που θα μπορούσε να οδηγήσει σε λανθασμένα αποτελέσματα. Η τεχνική αυτή δεν εφαρμόστηκε στις αρχικές μελέτες, αλλά αποτελεί σήμερα απαραίτητη προϋπόθεση για την αξιοπιστία της μεθόδου.

#### ΤΙ ΜΕΤΡΑΤΑΙ ΣΤΟ ΣΥΜΠΥΚΝΩΜΑ ΤΟΥ ΕΚΠΝΕΟΜΕΝΟΥ ΑΕΡΑ;

Ένα μεγάλο ερώτημα που δεν έχει απαντηθεί ακόμη σε όλη του την έκταση σήμερα είναι το ποια μόρια μπορούν να ανιχνευθούν στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα. Τα πτητικά μόρια είναι εκείνα που ανιχνεύονται ευκολότερα, αλλά υπάρχουν αναφορές προσδιορισμού μη πτητικών μορίων. Στη συνέχεια θα εξεταστούν μερικά από τα μόρια που έχουν ανιχνευθεί μέχρι σήμερα στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα, όπως το υπεροξειδίο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ), το 8-ισοπροστάνιο και τα προϊόντα του μεταβολισμού του NO (νιτρικά-νιτρώδη, νιτροτυροσίνη). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει επίσης ο προσδιορισμός του pH του συμπυκνώματος του εκπνεόμενου αέρα.

#### 1. Υπεροξειδίο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ )

Οι κλασικές βιβλιογραφικές αναφορές είναι εκείνες που σχετίζονται με την εκτίμηση της οξειδωτικής φλεγμονής μέσω του προσδιορισμού του  $H_2O_2$ , αρχικά σε ασθενείς με ARDS<sup>2</sup> και οξεία αναπνευστική ανεπάρκεια<sup>6,8</sup> και κατόπιν σε ασθενείς με βρογχικό άσθμα<sup>9-12</sup>, ΧΑΠ<sup>13,14</sup>, βρογχεκτασίες<sup>15</sup> και κυστική ίνωση<sup>16</sup>. Το  $H_2O_2$  μετρήθηκε επίσης στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα υγιών καπνιστών<sup>17</sup> και καπνιστών με ΧΑΠ<sup>18</sup>, ενώ καταγράφηκαν και οι φυσιολογικές τιμές του σε υγιή

παιδιά<sup>19</sup>. Οι μέθοδοι μέτρησης του υπεροξειδίου του υδρογόνου βασίζονται στην ικανότητά του να αντιδρά με κατάλληλα υποστρώματα, απελευθερώνοντας χρώμα, φως ή φθορισμό. Υπάρχουν, ωστόσο, προβλήματα στη μέτρησή του. Το ποσό που αποβάλλεται από τους φυσιολογικούς ανθρώπους είναι σχεδόν μη ανιχνεύσιμο, ενώ και σε πολλές παθήσεις τα επίπεδά του είναι στα κατώτερα όρια ανίχνευσης των χρησιμοποιούμενων μεθόδων. Ένα άλλο σύνθετο λάθος σχετίζεται με τη συλλογή και την αποθήκευση των δειγμάτων. Το  $H_2O_2$  είναι ένα πτητικό μόριο, το οποίο αποδομείται στη θερμοκρασία του δωματίου ή όταν έρχεται σε επαφή με μέταλλο. Τα δείγματα θα πρέπει να καταψύχονται ταχύτατα και να αποθηκεύονται σε θερμοκρασίες κάτω από τους  $-70^\circ C$ <sup>20</sup>. Στη μελέτη των Jobsis και συν. που προσδιόρισε τις φυσιολογικές τιμές σε υγιή παιδιά διαπιστώθηκε ότι τα δείγματα του συμπυκνώματος του εκπνεόμενου αέρα μπορούν να διατηρηθούν για ένα τουλάχιστον μήνα χωρίς μεταβολή της συγκέντρωσης του  $H_2O_2$ <sup>19</sup>, γεγονός που οδήγησε στο συμπέρασμα ότι η μέτρηση είναι επαναλήψιμη και αναπαραγωγίμη.

Ο προσδιορισμός του  $H_2O_2$  γίνεται κατά κύριο λόγο με τρεις μεθόδους. Στην πρώτη, που περιγράφηκε από τους Gallati και Pracht<sup>21</sup>, 100 μl συμπυκνώματος αναμιγνύονται με 100 μl διαλύματος 3,3', 5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) 420 μM (διαλυμένα σε ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικών 0,42 M, pH 3,8) και 10 μl διαλύματος υπεροξειδάσης horseradish 52,5 U/ml. Η αντίδραση λαμβάνει χώρα για 20 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου και, κατόπιν, το μίγμα οξεοποιείται σε pH 1 με την προσθήκη 10 μl διαλύματοςθειικού οξέος 18 N. Το προϊόν της αντίδρασης προσδιορίζεται φασματοφωτομετρικά στα 450 nm. Η απορρόφηση είναι ευθέως ανάλογη με τη συγκέντρωση του  $H_2O_2$ . Το όριο ανίχνευσης της μεθόδου είναι περίπου 0,1 μM. Η μέθοδος με αυτή τη μορφή της χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τους Dekhuijzen και συν.<sup>13</sup> Μια παραλλαγή αυτής της μεθόδου είναι εκείνη που χρησιμοποιήθηκε από τους Antezak και συν.<sup>11</sup> και περιγράφηκε από τους Ruch και συν.<sup>22</sup>, στην οποία προσδιορίζεται φασματοφωτομετρικά ένα προϊόν της οξείδωσης του ομοβανιλλικού οξέος (homovanillic acid-HVA) που σχετίζεται άμεσα με τη συγκέντρωση του  $H_2O_2$ . Οι Jobsis και συν.<sup>10</sup> χρησιμοποιούν τη μέθοδο των Hyslop και Sklar<sup>23</sup> που χρησιμοποιεί το p-υδροξυφαινυλοξικό οξύ ως υποστρώμα οξείδωσης

από το προϊόν της αντίδρασης του  $H_2O_2$  και της υπεροξειδάσης horseradish και το προϊόν της αντίδρασης προσδιορίζεται φωτομετρικά. Τέλος, οι Russell και συν.<sup>24</sup> έχουν προτείνει μια νέα μέθοδο για τον προσδιορισμό του  $H_2O_2$  στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα. Η μέθοδος εφαρμόζει μια τεχνική χημειοφωταύγειας με τη χρήση luminol που επιτρέπει την ανίχνευση  $H_2O_2$  σε συγκεντρώσεις μέχρι 2,5 nM.

Στους υγιείς μη καπνιστές, οι τιμές του  $H_2O_2$  στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα εμφανίζουν σημαντικές διαφορές. Εκείνοι που χρησιμοποιούν την πρώτη μέθοδο (TMB), έχουν ανακοινώσει τιμές  $0,029 \pm 0,012$  και  $0,26 \pm 0,04 \mu M H_2O_2$  (μέση τιμή  $\pm$  SEM)<sup>13,15</sup>. Στη μέθοδο που χρησιμοποιεί το HVA, οι τιμές των φυσιολογικών απόμων σε τρεις μετρήσεις της ίδιας ομάδας ήταν  $0,05 \pm 0,11$ ,  $0,01 \pm 0,03$  και  $0,05 \pm 0,07 \mu M$  αντίστοιχα<sup>11,17,18</sup>. Ανάλογα, σε δύο μελέτες των Jobsis και συν. οι μέσες τιμές σε υγιή παιδιά είναι 0,13 και 0,15  $\mu M$  αντίστοιχα, χωρίς σημαντικές διαφορές μεταξύ αγοριών και κοριτσιών<sup>10,19</sup>. Πρέπει να επισημανθεί, ωστόσο, το γεγονός ότι σε πολλούς από τους φυσιολογικούς εξεταζόμενους, το  $H_2O_2$  ήταν μη ανιχνεύσιμο. Στους υγιείς καπνιστές, ωστόσο, οι τιμές του ήταν πολύ μεγαλύτερες (περίπου πενταπλάσιες,  $0,24 \pm 0,32 \mu M$ ) από τους υγιείς μη καπνιστές, γεγονός που αντανάκλα πιθανώς την παρουσία αυξημένου οξειδωτικού φορτίου στους κατώτερους αεραγωγούς λόγω του καπνίσματος<sup>17</sup>.

## 2. 8-ισοπροστανό (8-isoprostane)

Τα ισοπροστανία ή εικοσανοειδή είναι ενώσεις ανάλογες με τις προσταγλανδίνες που παράγονται *in vivo* από την υπεροξειδωση του αραχιδονικού οξέος που καταλύεται από ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, κυρίως μη ενζυμικά (χωρίς τη συμμετοχή της κυκλοοξυγενάσης)<sup>25</sup>. Η παραγωγή τους γίνεται *in situ* στα φωσφολιπίδια της κυτταρικής μεμβράνης, από τα οποία διαχωρίζονται με τη δράση της φωσφολιπάσης  $A_2$ <sup>26</sup>. Λόγω της σταθερότητάς τους, της ειδικότητάς τους για την υπεροξειδωση των λιπών, της παραγωγής τους *in vivo* και της σχετικής αφθονίας τους στα βιολογικά υγρά, οι ουσίες αυτές αποτελούν άριστους δείκτες του οξειδωτικού stress<sup>27</sup>. Η πιο γνωστή ένωση της κατηγορίας των  $F_2$ -ισοπροστανίων είναι το 8-ισοπροστανό (8-isoprostane ή 8-epi-prostaglandin  $F_{2a}$ ), που αποτελεί το κύριο μέλος της οικογένειας των εικοσανοειδών που μετράται στο συμπύκνωμα του

εκπνεόμενου αέρα και έχει ισχυρή βιολογική δράση *in vivo*<sup>28,29</sup>. Η μέθοδος αναφοράς για τον προσδιορισμό του 8-isoprostane σε βιολογικά υγρά είναι η αέριος χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (gas chromatography-mass spectrometry ή GC-MS), λόγω της μεγάλης της ειδικότητας και ευαισθησίας<sup>30</sup>. Ωστόσο, η μέθοδος αυτή είναι ιδιαίτερα χρονοβόρα και είναι διαθέσιμη σε λίγα μόνο κέντρα. Έτσι, το 8-isoprostane προσδιορίζεται σήμερα κυρίως με ανοσοχημικές μεθόδους<sup>31</sup>.

Τα ισοπροστανία έχουν μελετηθεί σε λίγες μόνο μελέτες ως δείκτες του οξειδωτικού stress των αεραγωγών<sup>32,33</sup>. Πρόσφατα μετρήθηκε το 8-isoprostane στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα (BAL) φυσιολογικών απόμων και ασθενών με διάμεσες πνευμονοπάθειες<sup>34</sup>. Στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα μετρήθηκε 8-isoprostane σε φυσιολογικά άτομα και σε ασθενείς με βρογχικό άσθμα<sup>35</sup>, ΧΑΠ<sup>36</sup>, ARDS<sup>37</sup> και κυστική ίνωση<sup>38</sup>. Οι τιμές που έχουν αναφερθεί στα φυσιολογικά άτομα είναι  $15,8 \pm 1,6 \text{ pg/ml}$ <sup>35</sup> και  $15,2 \pm 1,7 \text{ pg/ml}$ <sup>38</sup>. Στους υγιείς μη καπνιστές οι αντίστοιχες τιμές είναι  $10,8 \pm 0,8 \text{ pg/ml}$ , ενώ στους καπνιστές είναι περίπου διπλάσιες ( $24,3 \pm 2,6 \text{ pg/ml}$ )<sup>36</sup>, εύρημα συμβατό με την αύξηση του οξειδωτικού stress λόγω της υπεροξειδωσης των λιπών που παρατηρείται στους καπνιστές<sup>39</sup>. Χαρακτηριστικά, οι υγιείς καπνιστές εμφάνιζαν σημαντική αύξηση των συγκεντρώσεων του 8-isoprostane 15 λεπτά μετά το κάπνισμα, κάτι που σημαίνει ότι το κάπνισμα προκαλεί οξεία αύξηση του οξειδωτικού stress των αεραγωγών<sup>36</sup>.

## 3. Προϊόντα μεταβολισμού του NO (νιτρικά $[NO_3^-]$ -νιτρώδη $[NO_2^-]$ , νιτροτυροσίνη)

Το εκπνεόμενο NO έχει προταθεί ως δείκτης φλεγμονής των αεραγωγών, καθώς βρέθηκε αυξημένο στους ασθματικούς ασθενείς<sup>40</sup>. Τα επίπεδα του NO θα έπρεπε να είναι αυξημένα σε όλες τις φλεγμονώδεις παθήσεις των αεραγωγών. Ωστόσο, σε ασθενείς με κυστική ίνωση τα επίπεδα του NO βρέθηκαν φυσιολογικά<sup>41</sup> ή ελαττωμένα<sup>42</sup> σε σχέση με εκείνα των φυσιολογικών απόμων, ενώ και σε ασθενείς με βρογχεκτασίες δεν βρέθηκαν αυξημένα επίπεδα  $NO$ <sup>43</sup>. Μεταγενέστερες παρατηρήσεις, επίσης, όπως εκείνη των Horvath και συν.<sup>44</sup> έδειξαν ότι δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του NO στον εκπνεόμενο αέρα και του  $H_2O_2$  στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα ασθματικών ασθενών, ιδιαίτερα σε εκείνους με ασταθή κλινική πο-

ρεία. Είναι γνωστό ότι το NO είναι ένα ασταθές πτητικό μόριο, που μετατρέπεται ταχύτατα στα μη πτητικά νιτρικά ( $\text{NO}_3^-$ ) και νιτρώδη ( $\text{NO}_2^-$ ) και η αντίδραση αυτή επηρεάζεται από τη φλεγμονή των αεραγωγών. Διατυπώθηκε, έτσι, η υπόθεση ότι η μέτρηση των σταθερών τελικών προϊόντων του μεταβολισμού του NO, όπως είναι τα νιτρικά και τα νιτρώδη αποτελεί περισσότερο αξιόπιστο τρόπο έκφρασης της φλεγμονής των αεραγωγών σε καταστάσεις όπως η κυστική ίνωση, καθώς είναι πιθανό ότι το αέριο NO μετατρέπεται σε νιτρικά και νιτρώδη κοντά στη θέση παραγωγής του και για το λόγο αυτό δεν ανιχνεύεται<sup>45</sup>.

Ο προσδιορισμός των νιτρώδων στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα γίνεται με μια χρωματογραφική μέθοδο που βασίζεται στην αντίδραση του Griess<sup>46</sup>. Συγκεκριμένα, 100 μl συμπυκνώματος αναμειγνύονται με 100 μl αντιδραστήριου του Griess (υδροχλωρική ναφθυλεθυλενδιαμίνη 0,1%, σουλφανιλαμίδα 1%,  $\text{H}_3\text{PO}_4$  3%) και μετράται με φωτόμετρο η απορρόφηση του έγχρωμου προϊόντος της αντίδρασης στα 570 nm. Οι Nightingale και συν.<sup>47,48</sup> μέτρησαν τα νιτρώδη με μια φθορισμομετρική μέθοδο που περιγράφηκε από τους Misko και συν.<sup>49</sup> που είναι περισσότερο ευαίσθητη από τη μέθοδο Griess. Σε πρόσφατη μελέτη της Κλινικής μας<sup>50</sup>, μετρήθηκε στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα το άθροισμα των νιτρώδων και νιτρικών, το σύνολο δηλαδή των τελικών προϊόντων του μεταβολισμού του NO. Για το σκοπό αυτό, τα νιτρικά μετατράπηκαν ενζυμικά σε νιτρώδη με την επίδραση αναγωγάσης των νιτρικών<sup>51</sup> και στη συνέχεια μετρήθηκαν τα ολικά νιτρώδη (αναχθέντα νιτρικά + νιτρώδη) με την αντίδραση Griess.

Το NO αντιδρά με ανιόντα υπεροξειδίου ( $\text{O}_2^-$ ) στους αεραγωγούς με αποτέλεσμα τη δημιουργία υπεροξειδίου του αζώτου ( $\text{ONOO}^-$ ), ενός ιδιαίτερα οξειδωτικού μορίου που αντιδρά με κατάλοιπα τυροσίνης από πρωτεϊνικά μόρια δημιουργώντας το σταθερό προϊόν νιτρο-τυροσίνη. Νιτροτυροσίνη ανιχνεύθηκε με ανοσολογικές μεθόδους σε ιστολογικά παρασκευάσματα από βρογχικές βιοψίες που λήφθηκαν από ασθματικούς ασθενείς<sup>52</sup>, καθώς και σε νεκροτομικά παρασκευάσματα πνεύμονα ασθενών με βρογχικό άσθμα που κατέληξαν από status asthmaticus ή άλλα αίτια<sup>53</sup>. Το μόριο αυτό μετρήθηκε πρόσφατα<sup>54</sup> στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα φυσιολογικών ατόμων και ασθματικών ασθενών. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε ανοσοενζυμική μέθοδος.

#### 4. pH

Πρόσφατα προσδιορίστηκε από τους Hunt και συν.<sup>55</sup> το pH των αεραγωγών σε φυσιολογικά άτομα και σε ασθματικούς ασθενείς, με βάση την υπόθεση ότι η ενδογενής οξίνιση των αεραγωγών μπορεί να παίζει κάποιο ρόλο στην παθοφυσιολογία του άσθματος. Οι τιμές του pH στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα των φυσιολογικών ατόμων ήταν  $7,65 \pm 0,20$ .

#### 5. Άλλα μόρια

Οι ουσίες που αντιδρούν με το θειοβαρβιτουρικό οξύ (thiobarbituric acid-reactive substances ή TBARs) είναι πτητικά μόρια που παράγονται από την υπεροξειδωση των λιπών και μπορεί να περιέχονται στον εκπνεόμενο αέρα<sup>56</sup>. Οι TBARs ανιχνεύθηκαν στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα φυσιολογικών ατόμων, ασθματικών ασθενών<sup>11</sup> και ασθενών με ΧΑΠ<sup>14</sup>. Ο προσδιορισμός τους έγινε σύμφωνα με τη μέθοδο του Yagi<sup>57</sup>, που βασίζεται στην ανάμιξη του συμπυκνώματος με διάλυμα θειοβαρβιτουρικού οξέος (thiobarbituric acid-TBA) και στο συνακόλουθο προσδιορισμό των TBAR φασματοφωτομετρικά.

Σε μια από τις πρώτες μελέτες του συμπυκνώματος του εκπνεόμενου αέρα<sup>4</sup>, αναφέρεται η ανίχνευση πρωτεϊνών στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα ατόμων με διάφορες παθήσεις του αναπνευστικού, που προέρχονταν, σύμφωνα με τους συγγραφείς, εν μέρει από το κατώτερο αναπνευστικό. Στην ίδια μελέτη αναφέρεται επίσης η ανίχνευση μορίων όπως η ιντερλευκίνη-1β ( $\text{IL-1}\beta$ ), και ο νεκρωτικός παράγοντας των όγκων-α (tumor necrosis factor-α ή  $\text{TNF-}\alpha$ ), με ανοσοενζυμικές και ραδιοανοσολογικές μεθόδους αντίστοιχα. Στη μελέτη αυτή δεν ήταν δυνατός ο προσδιορισμός ιντερλευκίνης-6 ( $\text{IL-6}$ ). Οι Cunningham και συν.<sup>58</sup> ανίχνευσαν ιντερλευκίνη-8 ( $\text{IL-8}$ ) στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα παιδιών με κυστική ίνωση με την εφαρμογή μιας ανοσοπροσορφητικής μεθόδου. Τέλος, πρόσφατα ανιχνεύθηκαν λευκοτριένια ( $\text{LTB}_4$ ,  $\text{LTC}_4$ ,  $\text{LTD}_4$ ,  $\text{LTE}_4$ ) στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα φυσιολογικών ατόμων και ασθματικών ασθενών με ανοσοενζυμικές μεθόδους<sup>54</sup>.

Έχει αναφερθεί η μέτρηση και άλλων μορίων στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα. Σε μερικές από τις πλέον ενδιαφέρουσες μελέτες, προσδιορίστηκαν η προσταγλανδίνη  $\text{E}_2$  ( $\text{PGE}_2$ ) σε υγιή άτομα και ασθενείς με

ΧΑΠ<sup>59</sup>, η ουρία σε υγιή άτομα και σε ασθενείς με άσθμα, ΧΑΠ και κυστική ίνωση<sup>60</sup>, πρωτεΐνες, νιτρικά/νιτρώδη, IL-1β και TNF-α σε καπνιστές και μη καπνιστές νεαρούς ενήλικες<sup>61</sup>, ενώ οι Gessner και συν. ανέφεραν την ανίχνευση DNA και τη δυνατότητα προσδιορισμού μεταλλάξεων του ογκογονιδίου K-ras σε ασθενείς με μη μικροκυτταρικό καρκίνο πνεύμονα<sup>62</sup>. Πολλά από αυτά τα ευρήματα θα αποτελέσουν μελλοντικές ερευνητικές προοπτικές και παραμένει ανοικτό το ερώτημα τι ακριβώς μπορεί να ανιχνευθεί ακόμη στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα.

#### ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΩΝ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ ΣΤΟ ΣΥΜΠΥΚΝΩΜΑ ΤΟΥ ΕΚΠΝΕΟΜΕΝΟΥ ΑΕΡΑ ΣΕ ΠΑΘΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟΥ

Οι ερευνητικές κατευθύνσεις στις οποίες έχει στραφεί το ενδιαφέρον των ερευνητικών ομάδων που ασχολούνται με το συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα περιλαμβάνουν παθήσεις στις οποίες η φλεγμονή των αεραγωγών παίζει κεντρικό ρόλο στον παθοφυσιολογικό μηχανισμό τους. Όπως τονίστηκε το 1999 στη συνάντηση της ομάδας του συμπυκνώματος εκπνεόμενου αέρα στη Βουδαπέστη, στην οποία συμμετείχαμε ως προσκεκλημένη Κλινική, φαίνεται ότι οι μελλοντικές εφαρμογές της μεθόδου ίσως αποτελέσουν μια εναλλακτική λύση αντί του BAL. Στον πίνακα 1 αναφέρονται οι τιμές των κυριότερων μετρήσεων στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα και σε διάφορες παθήσεις.

#### Α. Βρογχικό άσθμα

Οι τιμές του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> στους ασθματικούς ασθενείς είναι μεγαλύτερες από εκείνες των φυσιολογικών μαρτύρων σε όλες τις μελέτες, τόσο στους ενήλικες (0,26 ±

0,29)<sup>11</sup>, όσο και στα παιδιά (μέση τιμή 0,60 μM)<sup>10</sup>. Σε μελέτη των Horvath και συν.<sup>44</sup> διατυπώθηκε η άποψη ότι τα επίπεδα του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> μπορούν να συσχετιστούν με τη βρογχική υπεραντιδραστικότητα των ασθματικών ασθενών και μπορούν να χρησιμοποιηθούν συμπληρωματικά με το εκπνεόμενο NO για την παρακολούθηση της φλεγμονής των αεραγωγών. Οι τιμές του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ήταν 0,72 ± 0,06 μM για τους ασθματικούς έναντι 0,43 ± 0,08 για τους ασθματικούς που λάμβαναν στεροειδή και 0,27 ± 0,04 για τους φυσιολογικούς εξετασθέντες. Σημαντικό εύρημα αυτής της μελέτης ήταν επίσης ότι το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> αποτελεί περισσότερο ευαίσθητο δείκτη από το εκπνεόμενο NO για τον καθορισμό του οξειδωτικού stress, καθώς ασθενείς με σοβαρό ασταθές άσθμα εμφάνισαν αυξημένα επίπεδα H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, παρά τη λήψη στεροειδών (εισπνεόμενων ή από το στόμα) σε υψηλές δόσεις, ενώ το NO ήταν φυσιολογικό. Τα επίπεδα του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> δεν εμφάνιζαν συσχέτιση με τα σπυρομετρικά δεδομένα των ασθματικών ασθενών. Σε μια πρόσφατη μελέτη, εξάλλου, αναφέρεται μείωση των επιπέδων του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> σε ασθματικούς ασθενείς μετά από χορήγηση εισπνεόμενων στεροειδών<sup>12</sup>. Το πρόβλημα, όμως, που παραμένει είναι να καθοριστεί ποιά είναι τα κύτταρα που είναι υπεύθυνα για την παραγωγή του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> στο άσθμα και κατά πόσο αυτά διαφέρουν σε σχέση με τη βαρύτητα της νόσου και τη λήψη εισπνεόμενων στεροειδών. Το ερώτημα αυτό προσπαθήσαμε να απαντήσουμε σε μια πρόσφατη μελέτη μας που τα πρόδρομα αποτελέσματά της ανακοινώθηκαν στο τελευταίο Συνέδριο της Αμερικανικής Θωρακικής Εταιρείας, ενώ το σύνολο της μελέτης βρίσκεται υπό κρίση σε ξένο περιοδικό. Σε αυτή δείξαμε ότι η παραγωγή του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> οφείλεται κυρίως στα ηωσινόφιλα, ενώ στις βαρύτερες μορφές φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο η παρουσία των πολυμορφοκυ-

Πίνακας 1. Μετρήσεις στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα σε διάφορες παθήσεις

|                                                                                      | Βρογχικό άσθμα | ΧΑΠ | Κυστική ίνωση | Βρογχεκτασίες | ARDS |
|--------------------------------------------------------------------------------------|----------------|-----|---------------|---------------|------|
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>                                                        | ↑              | ↑   | ↑↓            | ↑             | ↑    |
| 8-isoprostane                                                                        | ↑              | ↑   | ↑             | ?             | ↑    |
| NO <sub>3</sub> /NO <sub>2</sub>                                                     | ↑              | ?   | ↑             | ?             | ?    |
| Νιτροτυροσίνη                                                                        | ↑              | ?   | ?             | ?             | ?    |
| Λευκοτριένια (LT B <sub>4</sub> , C <sub>4</sub> , D <sub>4</sub> , E <sub>4</sub> ) | ↑              | ?   | ?             | ?             | ?    |
| TBARs                                                                                | ↑              | ?   | ?             | ?             | ?    |
| pH                                                                                   | ↓              | ?   | ?             | ?             | ?    |



ρήνων. Συγχρόνως, δείξαμε ότι η βαρύτητα της νόσου καθώς και η λήψη των εισπνεόμενων στεροειδών αποτελούν βασικούς παράγοντες για την αξιολόγηση της οξειδωτικής φλεγμονής σε ασθενείς με άσθμα<sup>63</sup>.

Τα ισοπροστάνια αποτελούν έναν ακόμη δείκτη της οξειδωτικής φλεγμονής σε ασθενείς με βρογχικό άσθμα, που παρουσιάζει διαρκώς αυξανόμενο ενδιαφέρον. Τα επίπεδα του 8-isoprostane βρέθηκαν αυξημένα στους ασθενείς με βρογχικό άσθμα<sup>35</sup>. Συγκεκριμένα, οι ασθενείς με ήπιο και μέτριο άσθμα εμφάνιζαν διπλάσιες τιμές σε σχέση με τους φυσιολογικούς, ενώ οι τιμές εκείνων με σοβαρό άσθμα ήταν τριπλάσιες. Οι τιμές του 8-isoprostane εμφάνιζαν συσχέτιση με τις τιμές του εκπνεόμενου NO στους ασθενείς με ήπιο άσθμα, κάτι που δεν συνέβαινε σε εκείνους με μέτριο και σοβαρό άσθμα. Επιπρόσθετα, οι ασθενείς με ήπιο και μέτριο άσθμα εμφάνιζαν παραπλήσιες τιμές 8-isoprostane, γεγονός που αντανακλά σε ένα βαθμό τον έλεγχο της οξειδωτικής φλεγμονής με τα εισπνεόμενα στεροειδή στις ομάδες αυτές. Αντίθετα, οι ασθενείς με σοβαρό άσθμα εμφανίζουν σημαντικά μεγαλύτερες τιμές, κάτι που αντανακλά την αυξημένη οξειδωτική φλεγμονή αυτών των ασθενών<sup>30</sup> και τον πλημμελή έλεγχο της νόσου με τα εισπνεόμενα στεροειδή.

Οι Hunt και συν.<sup>64</sup> ανέφεραν αυξημένα επίπεδα νιτρικών στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα ασθματικών ασθενών, κάτι που δεν διαπιστώθηκε από τους Nightingale και συν., που προσδιόρισαν νιτρώδη στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα φυσιολογικών ατόμων και ασθματικών ασθενών πριν και μετά από έκθεση σε όζον, με<sup>47</sup> ή χωρίς<sup>48</sup> χορήγηση εισπνεόμενων στεροειδών. Στις μελέτες αυτές δεν διαπιστώθηκε διαφορά στα επίπεδα των νιτρικών μεταξύ ασθματικών και φυσιολογικών ατόμων, ενώ τα επίπεδα του NO ήταν αυξημένα στους ασθματικούς και οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το εκπνεόμενο NO αποτελεί περισσότερο ευαίσθητο δείκτη για τη διάγνωση του άσθματος από τα νιτρώδη. Μετά την έκθεση σε όζον, δεν παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων των νιτρικών ή του NO, παρά την προκαλούμενη πολυμορφοποιητική φλεγμονώδη απάντηση<sup>47</sup>. Ανάλογα ήταν και τα αποτελέσματα μετά τη χορήγηση βουδεσονίδης<sup>48</sup>. Σε δική μας μελέτη<sup>50</sup>, ωστόσο, μετρήσαμε το συνολικό ποσό νιτρικών/νιτρικών το οποίο βρήκαμε αυξημένο στους ασθματικούς ασθενείς σε σχέση με τους φυσιολογικούς.

Από τους ασθματικούς, εκείνοι που λάμβαναν εισπνεόμενα στεροειδή εμφάνιζαν χαμηλότερα επίπεδα νιτρικών/νιτρικών (παραπλήσια με εκείνα των φυσιολογικών ατόμων) από εκείνους που δεν λάμβαναν στεροειδή. Επιπλέον, διαπιστώσαμε μια ισχυρά θετική συσχέτιση μεταξύ νιτρικών/νιτρικών και H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα. Πιστεύουμε ότι για να μπορέσει κάποιος να αξιολογήσει την παρουσία των μεταβολικών του NO στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα πρέπει να προσδιορίζει τα ολικά νιτρικά/νιτρώδη.

Πρόσφατα, προσδιορίστηκε νιτροτυροσίνη στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα ασθματικών ασθενών<sup>54</sup>. Τα επίπεδα της νιτροτυροσίνης ήταν αυξημένα στους ασθενείς με ήπιο άσθμα που δεν λάμβαναν στεροειδή, ενώ ήταν χαμηλότερα σε εκείνους με σοβαρό άσθμα που λάμβαναν συστηματικά στεροειδή, γεγονός που αντανακλά πιθανώς τον περιορισμό του οξειδωτικού stress στους τελευταίους. Οι συγγραφείς θεωρούν ότι η νιτροτυροσίνη του εκπνεόμενου αέρα αποτελεί έναν περισσότερο ευαίσθητο δείκτη για την εκτίμηση του οξειδωτικού stress στο άσθμα. Στην ίδια μελέτη προσδιορίστηκαν λευκοτριένια (LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>) στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα και βρέθηκαν αυξημένα στους ασθενείς με μέτριο και σοβαρό άσθμα σε σχέση με τα φυσιολογικά άτομα και τους ασθενείς με ήπιο άσθμα.

Το pH του συμπυκνώματος του εκπνεόμενου αέρα ασθενών με βρογχικό άσθμα στην οξεία φάση παρόξυνσης είναι σημαντικά χαμηλότερο από εκείνο των φυσιολογικών ατόμων (5,23±0,21 έναντι 7,65±0,20)<sup>55</sup>. Αντίθετα, στο σταθερό άσθμα, οι τιμές είναι παραπλήσιες με εκείνες των φυσιολογικών ατόμων (7,8±0,1), εύρημα που παρατηρείται και σε ασθενείς με παρόξυνση άσθματος που έλαβαν στεροειδή για περισσότερο από 48 ώρες (7,4±0,23). Οι ασθενείς που λάμβαναν θεραπεία με κορτικοειδή εμφάνισαν σταθερή αύξηση του pH μέχρι επαναφοράς στα φυσιολογικά επίπεδα. Φαίνεται ότι το pH των αεραγωγών αποτελεί σημαντική παράμετρο για τον καθορισμό της φλεγμονής των αεραγωγών και παίζει πιθανώς σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία του άσθματος. Άλλωστε είναι η πρώτη μέτρηση στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα στην οποία ο χρόνος που απαιτείται για την ολοκλήρωση της μέτρησης είναι σημαντικά μικρότερος από εκείνον που απαιτείται για όλες τις υπόλοιπες.

Τέλος, οι Antczak και συν.<sup>11</sup> προσδιόρισαν τα επίπεδα των TBARs στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα ασθματικών ασθενών και τα βρήκαν σημαντικά αυξημένα ( $0,073 \pm 0,071$  nM) σε σχέση με εκείνα των φυσιολογικών ατόμων ( $0,004 \pm 0,009$  nM).

## **Β. Χρόνια Αποφρακτική Πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ)**

Στους ασθενείς με ΧΑΠ, οι τιμές του  $H_2O_2$  στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα ποικίλλουν σημαντικά. Οι Dekhuizen και συν.<sup>13</sup> προσδιόρισαν το  $H_2O_2$  με τη μέθοδο της TMB και ανέφεραν ότι οι ασθενείς με ασταθή ΧΑΠ είχαν σημαντικά αυξημένα επίπεδα  $H_2O_2$  σε σχέση με εκείνων με σταθερή ΧΑΠ ( $0,6 \pm 0,075$  έναντι  $0,205 \pm 0,054$   $\mu M$ ). Τα ευρήματα αυτά αποδόθηκαν από τους συγγραφείς στην αυξημένη παραγωγή οξειδωτικών ουσιών στους ασθενείς με ασταθή ΧΑΠ. Οι Nowak και συν.<sup>18</sup> που χρησιμοποίησαν τη μέθοδο του HVA δεν διαπίστωσαν διαφορές μεταξύ των επιπέδων του  $H_2O_2$  σε καπνιστές και μη καπνιστές ασθενείς με σταθερή ΧΑΠ ( $0,55 \pm 0,69$  και  $0,49 \pm 0,7$  αντίστοιχα). Σε άλλη μελέτη των ίδιων συγγραφέων<sup>14</sup>, και οι δύο αυτές κατηγορίες ασθενών εμφάνιζαν αυξημένα επίπεδα  $H_2O_2$  ( $0,41 \pm 0,54$  και  $0,44 \pm 0,65$  αντίστοιχα) σε σχέση με τους υγιείς μη καπνιστές μάρτυρες ( $0,05 \pm 0,07$   $\mu M$ ). Στην ίδια μελέτη, τα επίπεδα των TBARs στους ασθενείς με ΧΑΠ ήταν κατά πολύ μεγαλύτερα από εκείνα των φυσιολογικών ατόμων ( $0,48 \pm 0,86$   $\mu M$  έναντι  $0,04 \pm 0,14$   $\mu M$  αντίστοιχα), εύρημα ενδεικτικό της αυξημένης υπεροξειδωσής των λιπών στους αεραγωγούς ασθενών με σταθερή ΧΑΠ.

Το 8-isoprostane μετρήθηκε στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα ασθενών με ΧΑΠ<sup>36</sup>. Δεν διαπιστώθηκε σημαντική διαφορά στις τιμές του 8-isoprostane μεταξύ πρώην καπνιστών και καπνιστών με ΧΑΠ ( $39,9 \pm 3,1$  pg/ml και  $45,3 \pm 3,6$  pg/ml αντίστοιχα), αλλά και οι δύο αυτές κατηγορίες είχαν σημαντικά αυξημένες τιμές σε σχέση με τους υγιείς καπνιστές ( $24,3 \pm 2,6$  pg/ml) και τους υγιείς μη καπνιστές ( $10,8 \pm 0,8$  pg/ml). Το εύρημα αυτό είναι ενδεικτικό της παρουσίας αυξημένου οξειδωτικού stress στους ασθενείς με σταθερή ΧΑΠ. Δεν έχει διευκρινιστεί, ωστόσο, ο ρόλος της θεωρείας με στεροειδή στα επίπεδα του 8-isoprostane στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα.

## **Γ. Κυστική Ίνωση**

Τα επίπεδα του  $H_2O_2$  στο συμπύκνωμα του εκπνεόμε-

μενου αέρα ασθενών με κυστική ίνωση ήταν χαμηλότερα εκείνων των υγιών ατόμων ( $0,064$  έναντι  $0,089$   $\mu M$  αντίστοιχα)<sup>16</sup>, γεγονός που το καθιστά ακατάλληλο δείκτη για την εκτίμηση της φλεγμονής των αεραγωγών. Το εύρημα αυτό μπορεί να οφείλεται στην αδυναμία αντίχρευσής του λόγω των πυωδών εκκρίσεων, στην αντίδραση με άλλα δραστικά μόρια ή στην αυξημένη αντιοξειδωτική δραστηριότητα που προκαλείται από την παγίδευση αντιοξειδωτικών ουσιών στις εκκρίσεις των αεραγωγών. Κατά ανάλογο τρόπο και το NO δεν αποτελεί αξιόπιστο δείκτη<sup>58</sup> της φλεγμονής των αεραγωγών στην κυστική ίνωση. Οι Ho και συν.<sup>43</sup> αναφέρουν χαρακτηριστικά ότι το εκπνεόμενο NO δεν είναι αυξημένο στην κυστική ίνωση και τις βρογχεκτασίες, παρά το φλεγμονώδη χαρακτήρα αυτών των παθήσεων. Πιθανές ερμηνείες αυτού του φαινομένου είναι η κακή διάχυση του NO διαμέσου των παχύρρευστων πυωδών εκκρίσεων στους αεραγωγούς, η απομάκρυνση του NO λόγω της αντίδρασής του με ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και η μειωμένη δραστηριότητα της iNOS (inducible NO synthase). Σε συμφωνία με τα προηγούμενα έρχεται και πρόσφατη μελέτη, στην οποία τα αυξημένα επίπεδα  $H_2O_2$  στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα παιδιών με κυστική ίνωση στην παρόξυνση της νόσου τους από το αναπνευστικό μειώθηκαν μετά από ενδοφλέβια χορήγηση αντιβιοτικών<sup>65</sup>.

Μια απάντηση στο προηγούμενο πρόβλημα της εκτίμησης της φλεγμονής των αεραγωγών στην κυστική ίνωση μπορεί να προέλθει από τον προσδιορισμό του 8-isoprostane και των προϊόντων του μεταβολισμού του NO (νιτρικά/νιτρώδη) στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα. Διαπιστώθηκε ότι τα επίπεδα του 8-isoprostane στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα ασθενών με κυστική ίνωση ήταν περίπου 2,8 φορές υψηλότερα από εκείνα των φυσιολογικών ατόμων ( $42,7$  ( $4,5$ ) pg/ml έναντι  $15,2$  ( $1,7$ ) pg/ml αντίστοιχα)<sup>38</sup>. Τα επίπεδα του 8-isoprostane εμφανίζουν σημαντική συσχέτιση με εκείνα του εκπνεόμενου μονοξειδίου του άνθρακα (CO) και είναι ενδεικτικά της παρουσίας αυξημένου οξειδωτικού stress λόγω υπεροξειδωσής λιπών στους αεραγωγούς ασθενών με κυστική ίνωση. Σε συμφωνία με τα προηγούμενα έρχονται και ανάλογα ευρήματα, που έδειξαν ότι τα επίπεδα των νιτρωδών στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα ασθενών με κυστική ίνωση είναι αυξημένα (μέση τιμή  $2,15$   $\mu M$ ) σε σχέση με τα φυσιολογικά άτομα (μέση

τιμή  $0,36 \mu\text{M}$ )<sup>45</sup>, κάτι που δεν ισχύει όπως προαναφέρθηκε για το εκπνεόμενο  $\text{NO}$ . Ωστόσο, τα επίπεδα των νιτρώδων δεν διέφεραν σημαντικά στη μελέτη αυτή μεταξύ των ατόμων που λάμβαναν ή όχι εισπνεόμενα στεροειδή. Σε ανάλογα συμπεράσματα κατέληξαν και οι Cunningham και συν.<sup>58</sup> που μέτρησαν νιτρώδη και νιτρολευκίνη-8 στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα παιδιών με κυστική ίνωση. Τα επίπεδα νιτρώδων στα παιδιά με κυστική ίνωση ήταν σημαντικά υψηλότερα από εκείνα των φυσιολογικών παιδιών ( $3,0 \mu\text{M}$  έναντι  $0,5 \mu\text{M}$  αντίστοιχα). Σύμφωνα με τα προηγούμενα, το 8-isoprostane και τα νιτρώδη του συμπυκνώματος του εκπνεόμενου αέρα αποτελούν περισσότερο αξιόπιστους δείκτες για την εκτίμηση της φλεγμονής των αεραγωγών από το εκπνεόμενο  $\text{NO}$  στην κυστική ίνωση.

#### Δ. Βρογχεκτασίες

Η μελέτη του  $\text{H}_2\text{O}_2$  στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα ασθενών με βρογχεκτασίες έδειξε ότι είναι αυξημένο σε σχέση με τα φυσιολογικά άτομα ( $0,87 \pm 0,01 \mu\text{M}$  έναντι  $0,26 \pm 0,04 \mu\text{M}$  αντίστοιχα)<sup>15</sup>, χωρίς σημαντικές διαφορές μεταξύ εκείνων που λάμβαναν ή όχι εισπνεόμενα στεροειδή. Τα επίπεδα του  $\text{H}_2\text{O}_2$  στη μελέτη αυτή εμφάνιζαν αντίστροφη συσχέτιση με τη σοβαρότητα της νόσου που εκτιμήθηκε με βάση λειτουργικά δεδομένα, γεγονός που αντανάκλα πιθανώς την αυξημένη οξειδωτική φλεγμονή των αεραγωγών στους ασθενείς με βρογχεκτασίες.

Σε πρόσφατη μελέτη φάνηκε ότι τα επίπεδα του  $\text{H}_2\text{O}_2$  σε ασθενείς με βρογχεκτασίες σε σταθερή κατάσταση επηρεάζονται σημαντικά από το χρόνιο αποικισμό με *Pseudomonas aeruginosa*. Παράλληλα, εμφανίζουν σημαντική συσχέτιση με την παρουσία πολυμορφωποιητικής κυτταρικής φλεγμονής, την έκταση των βλαβών στον απεικονιστικό έλεγχο με HRCT και την κλινική βαρύτητα της νόσου<sup>7</sup>.

#### Ε. ARDS

Η οξειδωτική φλεγμονή παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεια του συνδρόμου οξείας αναπνευστικής δυσχέρειας (ARDS). Πολλές από τις αρχικές μελέτες πάνω στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα έγιναν σε Μονάδες Εντατικής Θεραπείας και σε ασθενείς που υποβάλλονταν σε μηχανική υποστήριξη της αναπνοής. Βρέθηκε ότι τα επίπεδα του  $\text{H}_2\text{O}_2$  ήταν αυξημένα στους

ασθενείς με ARDS σε σχέση με εκείνα των μαρτύρων ( $1,68 \pm 0,35 \mu\text{M}$  έναντι  $0,34 \pm 0,08$  αντίστοιχα)<sup>2</sup>. Σε ανάλογη μελέτη διαπιστώθηκαν αυξημένα επίπεδα του  $\text{H}_2\text{O}_2$  στους ασθενείς με ARDS σε σχέση με εκείνα των ασθενών υπό μηχανική υποστήριξη της αναπνοής χωρίς πνευμονικές διηθήσεις ( $2,34 \pm 1,15 \mu\text{M}$  έναντι  $0,99 \pm 0,72 \mu\text{M}$ )<sup>8</sup>. Στη μελέτη των Kietzmann και συν.<sup>6</sup>, όπου χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος με τη luminol, τα επίπεδα του  $\text{H}_2\text{O}_2$  που ανιχνεύτηκαν ήταν  $0,552 \mu\text{M}$  (εύρος τιμών  $0,154$ - $0,893 \mu\text{M}$ ), ενώ οι μάρτυρες είχαν επίπεδα  $0,095 \mu\text{M}$  ( $0,076$ - $0,144$ ). Στις μελέτες αυτές φαίνεται ότι υπάρχει ενεργός ρόλος του  $\text{H}_2\text{O}_2$  στην πρόκληση πνευμονικής βλάβης, αν και δεν έχει διευκρινιστεί κατά πόσο η δημιουργία του  $\text{H}_2\text{O}_2$  είναι το πρωτοπαθές συμβάν στην οξειδωτική διαδικασία ή αποτελεί συνοδό εύρημα.

Εκτός από τον προσδιορισμό του  $\text{H}_2\text{O}_2$  στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα ασθενών με ARDS, προσδιορίστηκαν τα επίπεδα του 8-isoprostane με τη μέθοδο GC-MS<sup>37</sup>. Οι συγγραφείς ανακοίνωσαν οκταπλάσια περίπου επίπεδα στους ασθενείς αυτούς σε σχέση με τα φυσιολογικά άτομα ( $86,9 \pm 27,6 \text{ pg/ml}$  έναντι  $6,7 \pm 3,8 \text{ pg/ml}$  αντίστοιχα), γεγονός ενδεικτικό της παρουσίας σημαντικής οξειδωτικής φλεγμονής στο ARDS. Είναι πιθανό ότι το συμπύκνωμα εκπνεόμενου αέρα που συλλέγεται στις μελέτες αυτές, λόγω της φύσεως των ασθενών, περιέχει πρόσμιξη σιέλου, γεγονός που αποτελεί σημαντικό μειονέκτημα για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.

#### ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Μελετώντας τα αποτελέσματα των μετρήσεων των διάφορων δεικτών φλεγμονής στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα μπορεί εύκολα να καταλήξει σε κάποια μεθοδολογικά προβλήματα. Η μέτρηση του  $\text{H}_2\text{O}_2$  παρουσιάζει σημαντική μεταβλητότητα, τόσο ανάλογα με τη μέθοδο που χρησιμοποιείται όσο και στο πλαίσιο της κάθε νοσολογικής οντότητας. Παρ' όλα αυτά, το γεγονός ότι τα επίπεδά του είναι σημαντικά αυξημένα στους ασθενείς με φλεγμονώδεις παθήσεις των αεραγωγών που προαναφέρθηκαν, το καθιστά αξιόπιστο δείκτη του οξειδωτικού stress. Παράλληλα, η μελέτη νεότερων δεικτών, όπως είναι το 8-isoprostane και τα προϊόντα μεταβολισμού του  $\text{NO}$ , άνοιξε νέους ορίζοντες στη μελέτη της οξειδωτικής φλεγμονής των αεραγωγών. Και οι δεί-

κτες αυτοί εμφανίζουν μεθοδολογικά προβλήματα, κυρίως στα επίπεδα της τυποποίησής τους στις διάφορες μελέτες και της διευκρίνισης του ακριβούς ρόλου αυτών των μορίων στους παθογενετικούς μηχανισμούς της φλεγμονής των αεραγωγών. Πρωταρχική σημασία έχει, κατά συνέπεια, να διευκρινιστούν αρκετά προβλήματα σχετικά με τη συλλογή, την αποθήκευση και την ανάλυση του συμπυκνώματος του εκπνεόμενου αέρα, προκειμένου να τυποποιηθεί η μελέτη του και να καταστεί εφικτή η σύγκριση των αποτελεσμάτων που προέρχονται από διαφορετικές ερευνητικές ομάδες. Οι αναφορές, τέλος, ανίχνευσης μεγαλύτερων μορίων στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα αποτελούν σημαντική προοπτική για μελλοντικές εφαρμογές. Παρά τα μεθοδολογικά προβλήματα που παρουσιάζει ακόμη η μέθοδος, ο μη επεμβατικός της χαρακτήρας που δίνει τη δυνατότητα επαναλαμβανόμενων μετρήσεων στο ίδιο άτομο και

οι πολύτιμες πληροφορίες που έχουν συγκεντρωθεί με την εφαρμογή της την καθιστούν χρήσιμο μέσο για τη μελέτη της φλεγμονής των αεραγωγών.

Εκείνο, ωστόσο, που δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως σε καμιά από τις προηγούμενες μελέτες είναι η σχέση οξειδωτικού stress και φλεγμονής των αεραγωγών. Η μεγαλύτερη πρόκληση για το μέλλον είναι η πραγματοποίηση μελετών με αντικειμενικό στόχο τη διευκρίνιση αυτής της σχέσης. Εάν πράγματι το οξειδωτικό stress σχετίζεται με τη φλεγμονή των αεραγωγών σε κάποια νοσολογική οντότητα, η χορήγηση αντιοξειδωτικών ουσιών θα αποτελέσει μέσο ελέγχου της φλεγμονής και του παθογενετικού μηχανισμού της συγκεκριμένης νόσου. Στην περίπτωση αυτή, είναι πολύ πιθανό ότι το συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα θα παίξει κεντρικό ρόλο στην παρακολούθηση των ασθενών αυτών.

## SUMMARY

### *Expired breath condensate: A new, non-invasive method for the evaluation of airway inflammation*

**K. Kostikas, S. Loukides**

*Airway inflammation plays an important role in diseases such as asthma and chronic obstructive pulmonary disease. The use of non-invasive techniques for the evaluation of these inflammatory diseases has been the object of increasing interest in the past few years. The collection of expired breath condensate is achieved by freezing the exhaled air with the use of special condensing devices and provides useful information about areas of the respiratory tract accessible exclusively with invasive techniques in the past. In the exhaled breath condensate there have been measured molecules, such as hydrogen peroxide, 8-isoprostane, end products of NO metabolism (nitrites/nitrates, nitrotyrosine), leukotrienes and recently pH. These measurements have clinical application in many inflammatory diseases of the respiratory tract, such as asthma, chronic obstructive pulmonary disease, cystic fibrosis, bronchiectasis and ARDS. Despite the methodological problems of this procedure, its non-invasive nature gives the opportunity for repeated measurements on the same person and provides valuable information for the assessment of airway inflammation. **Pneumon 2001, 14(3):184-196.***

**Key words:** Expired breath condensate, airway inflammation, hydrogen peroxide, 8-isoprostane, nitrites/nitrates, asthma, chronic obstructive pulmonary disease, cystic fibrosis, bronchiectasis, ARDS.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. O' Byrne PM, Hargreave FE. Non-invasive monitoring of airway inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150:S100-S102.
2. Baldwin SR, Grum CM, Boxer LA, Simon RH, Ketani LH, Devall LJ. Oxidant activity in expired breath of patients with adult respiratory distress syndrome. *Lancet* 1986 Jan 4; 1(8471):11-4.
3. Ingelstedt S. Studies of the conditioning of air in the respiratory tract. *Acta Otolaryngol* 1956 [Suppl] 131:1-81.
4. Scheideler L, Manke HG, Schwulera U, Inacker O, Hämerle H. Detection of non-volatile macromolecules in

- breath: a possible diagnostic tool? *Am Rev Respir Crit Care Med* 1993; 148:778-784.
5. Horvath I, Donnelly LE, Kiss A, Kharitonov SA, Lim S, Fan Chung K, Barnes PJ. Combined use of exhaled hydrogen peroxide and nitric oxide in monitoring asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:1042-1046.
  6. Kietzmann D, Kahl R, Möller M, Burchardi H, Kettler D. Hydrogen peroxide in expired breath condensate of patients with acute respiratory failure and with ARDS. *Intensive Care Med* 1993; 19:78-81.
  7. Loukides S, Bouros D, Papatheodorou G, Panagou P, Lachanis S, Siafakas NM. Exhaled hydrogen peroxide in steady-state bronchiectasis. *Chest* 2001 (in press).
  8. Sznajder JI, Fraiman A, Hall JB, Sanders W, Schmidt G, Crawford G, Nahum A, Factor P, Wood LDH. Increased hydrogen peroxide in the expired breath condensate of patients with acute hypoxemic respiratory failure. *Chest* 1989; 96:606-612.
  9. Dohlman AW, Black HR, Royal JA. Expired breath condensate is a marker of acute airway inflammation in pediatric patients with asthma. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148:955-960.
  10. Jöbsis Q, Raatgeep HC, Hermans PW, de Jongste JC. Hydrogen peroxide in exhaled air is increased in stable asthmatic children. *Eur Respir J* 1997; 10:519-521.
  11. Antzak A, Nowak D, Shariati B, Krol M, Piasecka G, Kurmanowska Z. Increased hydrogen peroxide and thiobarbituric acid-reactive products in expired breath condensate of asthmatic patients. *Eur Respir J* 1997; 10:1235-1241.
  12. Antzak A, Kurmanowska Z, Kasielski M, Novak D. Inhaled glucocorticosteroids decrease hydrogen peroxide level in expired air condensate in asthmatic patients. *Respir Med* 2000 May; 94:416-421.
  13. Dekhuijzen PNR, Aben KKH, Dekker I, Aarts LPHJ, Wielders PLML, van Heerwarden CLA, Bast A. Increased exhalation of hydrogen peroxide in patients with stable and unstable chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1996 Sep; 154:813-816.
  14. Nowak D, Kasielski M, Antzak A, Pietras T, Bialasiewicz P. Increased content of thiobarbituric acid-reactive substances and hydrogen peroxide in the expired breath condensate of patients with stable chronic obstructive pulmonary disease: no significant effect of cigarette smoking. *Respir Med* 1999; 93:389-396.
  15. Loukides S, Horvath I, Wodehouse T, Cole PJ, Barnes PJ. Elevated levels of expired breath hydrogen peroxide in bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:991-994.
  16. Ho LP, Faccenda J, Innes JA, Greening AP. Expired hydrogen peroxide in breath condensate of cystic fibrosis patients. *Eur Respir J* 1999; 13(1):103-106.
  17. Nowak D, Antzak A, Krol M, Pietras T, Shariati B, Bialasiewicz P, Jeczowski K, Kula P. Increased content of hydrogen peroxide in the expired breath of cigarette smokers. *Eur Respir J* 1996; 9:652-657.
  18. Nowak D, Kasielski M, Pietras T, Bialasiewicz P, Antzac A. Cigarette smoking does not increase hydrogen peroxide levels in expired breath condensate of patients with stable COPD. *Monaldi Arch Chest Dis* 1998; 53(3):268-273.
  19. Jöbsis Q, Raatgeep HC, Schellekens SL, Hop WCJ, Hermans PW, de Jongste JC. Hydrogen peroxide in exhaled air of healthy children: reference values. *Eur Respir J* 1998; 12:483-485.
  20. Culpitt SV, Russell REK. The measurement of hydrogen peroxide in airways disease. *Eur Respir Rev* 1999; 9:68, 246-248.
  21. Gallati H, Pracht I. Horseradish peroxidase: kinetic studies and optimization of peroxidase activity determination using the substrates  $H_2O_2$  and 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine. *J Clin Chem Clin Biochem* 1985; 23:453-460.
  22. Ruch W, Cooper PH, Baggiolini M. Assay of  $H_2O_2$  production by macrophages and neutrophils with homovanillic acid and horseradish peroxidase. *J Immunol Methods* 1983; 63:347-357.
  23. Hyslop PA, Sklar LA. A quantitative fluorimetric assay for the determination of oxidant production by polymorphonuclear leucocytes: its use in simultaneous fluorimetric assay of cellular activation processes. *Anal Biochem* 1984; 141:280-286.
  24. Russell REK, Culpitt SV, Wiggins J, Barnes PJ. A new method for the measurement of hydrogen peroxide in breath condensate. *Eur Respir J* 1998; 12: Suppl. 28, p 1660.
  25. Morrow JD, Hill KE, Burk RF, Nammour TM, Badr KF, Roberts LJ II. A series of prostaglandin  $F_2$ -like compounds are produced *in vivo* in humans by a non-cyclooxygenase, free-radical-catalyzed mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:9383-9387.
  26. Morrow JD, Awad JA, Boss HJ, Blair IA, Roberts LJ II. Non-cyclooxygenase derived prostanoids ( $F_2$ -isoprostanes) are formed *in situ* on phospholipids. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89:10721-10725.
  27. Roberts LJ II, Morrow JD. The isoprostanes: novel markers of lipid peroxidation and potential mediators of oxidant injury. *Adv Prostaglandin Thromboxane Leucot Res* 1995; 23:210-223.

28. Morrow JD, Minton TA, Badr KF, Roberts LJ II. Evidence that the  $F_2$ -isoprostane, 8-epi-prostaglandin  $F_{2a}$  is formed *in vivo*. *Biochem Biophys Acta* 1994; 1210:244-248.
29. Morrow JD, Roberts LJ II. The isoprostanes: current knowledge and directions for future research. *Biochem Pharmacol* 1996; 51:1-9.
30. Montuschi P. Isoprostanes and other exhaled markers in respiratory diseases. *Eur Respir Rev* 1999; 9:68, 249-253.
31. Basu S. Radioimmunoassay of b-iso-prostaglandin  $F_{2a}$ : an index for oxidative injury *via* free radical catalyzed liquid peroxidation. *Prostagland Leucot Essent Fatty Acids* 1998; 58:319-325.
32. Hazbun ME, Hamilton R, Holian A, Eschenbacher WL. Ozone-induced increases in substance P and 8-epi-prostaglandin  $F_{2a}$  in the airways of human subjects. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1993; 9:568-572.
33. Goil S, Truog WE, Barnes C, Norberg M, Rezaiekhaliq M, Thibeault D. Eight-epi-prostaglandin  $F_{2a}$ : a possible marker of lipid peroxidation in term infants with severe pulmonary disease. *J Pediatr* 1998; 132:349-351.
34. Montuschi P, Ciabattoni G, Paredi P, Pantelidis P, duBois RM, Kharitonov SA, Barnes PJ. 8-isoprostane as a biomarker of oxidative stress in interstitial lung diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:1524-1527.
35. Montuschi P, Corradi M, Ciabattoni G, Nightingale J, Kharitonov SA, Barnes PJ. 8-isoprostane, a marker of oxidative stress, in exhaled condensate of asthma patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160:216-220.
36. Montuschi P, Collins JV, Ciabattoni G, Lazzeri N, Corradi M, Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled 8-isoprostane as an *in vivo* biomarker of lung oxidative stress in patients with COPD and healthy smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162:1175-1177.
37. Carpenter CT, Price PV, Christman BW. Exhaled breath condensate isoprostanes are elevated in patients with acute lung injury or ARDS. *Chest* 1998; 114:1653-1659.
38. Montuschi P, Kharitonov SA, Collins JV, Ciabattoni G, Lazzeri N, Corradi M, Barnes PJ. Exhaled 8-isoprostane as a new non-invasive biomarker of oxidative stress in cystic fibrosis. *Thorax* 2000; 55:205-209.
39. Morrow JD, Frei B, Longmire AW, Gaziano JM, Lynch SM, Shyr Y, Strauss WE, Oates JA, Roberts LJ II. Increase in circulating products of lipid peroxidation ( $F_2$ -isoprostanes) in smokers. Smoking as a cause of oxidative damage. *N Engl J Med* 1995; 332:1198-1203.
40. Kharitonov SA, Yates D, Robbins RA, Logan-Sinclair R, Shinebourne EA, Barnes PJ. Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet* 1994; 343:133-135.
41. Dotsch J, Demiracka S, Terbrack HG, Huls G, Rascher W, Kuhl PJ. Airway nitric oxide in asthmatic children and patients with cystic fibrosis. *Eur Respir J* 1994; 343:133-135.
42. Grasemann H, Michler E, Wallot M, Ratjen F. Decreased concentration of exhaled nitric oxide (NO) in patients with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 1997; 24:173-177.
43. Ho LP, Innes JA, Greening AP. Exhaled nitric oxide is not elevated in the inflammatory airways diseases of cystic fibrosis and bronchiectasis. *Eur Respir J* 1998; 12:1290-1294.
44. Horvath I, Donnelly LE, Kiss A, Kharitonov SA, Lim S, Fan Chung K, Barnes PJ. Combined use of exhaled hydrogen peroxide and nitric oxide in monitoring asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:1042-1046.
45. Ho LP, Innes JA, Greening AP. Nitrite levels in breath condensate of patients with cystic fibrosis is elevated in contrast to exhaled nitric oxide. *Thorax* 1998; 53:680-684.
46. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite and [ $^{15}N$ ]nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 1982; 126:131-138.
47. Nightingale JA, Rogers DF, Barnes PJ. Effect of inhaled ozone on exhaled nitric oxide, pulmonary function, and induced sputum in normal and asthmatic subjects. *Thorax* 1999; 54:1061-1069.
48. Nightingale JA, Rogers DF, Chung KF, Barnes PJ. No effect of inhaled budesonide on the response to inhaled ozone in normal subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:479-486.
49. Misko TP, Schilling RJ, Salvemini D, Moore WM, Currie MG. A fluorometric assay for the measurement of nitrite in biological samples.
50. Ganas K, Loukides S, Papatheodorou G, Panagou P, Kalogeropoulos N. Total nitrite/nitrate in expired breath condensate of patients with asthma. *Respiratory Medicine* (in press).
51. Moshage H, Kok B, Huizenga JR, Jansen PL. Nitrite and nitrate determinations in plasma: a critical evaluation. *Clin Chem* 1995; 41:892-896.
52. Saleh D, Ernst P, Lim S, Barnes PJ, Giaid A. Increased formation of the potent oxidant peroxynitrate in the airways of asthmatic patients is associated with induction of nitric oxide synthase: effect of inhaled glucocorticoid. *FASEB J* 1998; 12:929-937.
53. Kaminsky DA, Mitchell J, Carroll N, James A, Soultana-

- kis R, Janssen Y. Nitrotyrosine formation in the airways and lung parenchyma of patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 104:747-754.
54. Hanazawa T, Kharitonov SA, Barnes PJ. Increased nitrotyrosine in exhaled breath condensate of patients with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162:1273-1276.
  55. Hunt JF, Fang K, Rajesh M, Snyder A, Malhotra N, Platts-Mills TAE, Gaston B. Endogenous airway acidification: implications for asthma pathophysiology. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:694-699.
  56. Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices for lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Rad Biol Med* 1990; 9:515-540.
  57. Yagi K. A simple fluorimetric assay for lipid peroxides in blood plasma. *Biochem Med* 1986; 15:212-216.
  58. Cunningham S, McColm JR, Pei Ho L, Greening AP, Marshall TG. Measurement of inflammatory markers in the breath condensate of children with cystic fibrosis. *Eur Respir J* 2000; 15:955-957.
  59. Loukides S, Bouros D, Papatheodorou G, Lachanis S, Panagou P, Siafakas NM. Exhaled hydrogen peroxide in steady-state bronchiectasis. *Chest* (in press).
  60. Montuschi P, Kharitonov SA, Carpagnano E, Culpitt S, Russell R, Collins JV, Barnes PJ. Exhaled prostaglandin  $E_2$ : a new biomarker of airway inflammation in COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:A821.
  61. Dauletbaev N, Diegel H, Oremek G, Wagenr TOF, Bargon J. Relationships of urea concentrations in breath condensate and blood vary between healthy individuals and patients with obstructive lung diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:A857.
  62. Garey KW, Neuhauser MM, Radice AL, Danziger LH, Rubinstein I. Protein, nitrite/nitrate, and cytokine concentrations in exhaled breath condensate of young smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161:A175.
  63. Gessner C, Seyfarth HJ, Hoheisel G, Winkler J, Hillebrand T, Schauer J. Identification of K-ras gene mutations in breathing condensate of patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) as a non invasive method for screening. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:A344.
  64. Hunt J, Byrns RE, Ignarro LJ, *et al.* Condensed expired nitrate as a home marker for acute asthma. *Lancet* 1995; 346:1235-1236.
  65. Jöbsis Q, Raatgeep HC, Schellekens SL, Kroesbergen A, Hop WCJ, de Jongste JC. Hydrogen peroxide and nitric oxide in exhaled air of children with cystic fibrosis during antibiotic treatment. *Eur Respir J* 2000; 16:95-100.

# Μη Επεμβατικός Μηχανικός Αερισμός Θετικής Πίεσης (ΜΕΜΑΘΠ) στο Σπίτι και το Νοσοκομείο: Πρόσφατες εξελίξεις

Α. Γρηγοράκος

Αναπλ. Καθηγητής Πνευμονολογίας-Εντατικής Θεραπείας Νοσηλευτικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ.** Ο Μη Επεμβατικός Μηχανικός Αερισμός, χρησιμοποιείται σήμερα για την αντιμετώπιση της αναπνευστικής ανεπάρκειας ποικίλης αιτιολογίας. Στην εργασία αυτή γίνεται προσπάθεια παρουσίασης της διεθνούς εμπειρίας από την εφαρμογή της μεθόδου αυτής στο σπίτι και το νοσοκομείο, δίνοντας έμφαση στις τελευταίες μελέτες και εξελίξεις. *Πνεύμων 2001, 14(3): 197-205.*

**Λέξεις κλειδιά:** Μη επεμβατικός μηχανικός αερισμός θετικής πίεσης

Αλληλογραφία:  
Λεωνίδας Γρηγοράκος,  
Πνευμονολόγος - Εντατικολόγος,  
Αναπλ. Καθηγητής Εντατικής Θεραπείας,  
Νοσηλευτικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών,  
Αγίας Σοφίας 51, Αθήνα 104 44,  
Τηλ.: 51 35 939

Μη Επεμβατικός Μηχανικός Αερισμός, που αναφέρεται στην έννοια της αναπνευστικής υποστήριξης χωρίς την ανάγκη ενός επεμβατικού τεχνητού αερισμού, χρησιμοποιείται σήμερα για αντιμετώπιση της αναπνευστικής ανεπάρκειας στο σπίτι ή το νοσοκομείο<sup>1</sup>. Πολλές μέθοδοι μη επεμβατικού αερισμού, έχουν χρησιμοποιηθεί τα προηγούμενα χρόνια αλλά πρόσφατα ο μη επεμβατικός μηχανικός αερισμός θετικής πίεσης - ΜΕΜΑΘΠ (Non Invasive Positive Pressure Ventilation-NPPV) που χρησιμοποιεί προσωπίδα (μάσκα), παίρνει αέρα από ένα αναπνευστήρα θετικής πίεσης και τον στέλνει στη μύτη ή τη στοματική κοιλότητα, έχει γίνει αποδεκτός για τη θεραπεία ποικίλων μορφών αναπνευστικής ανεπάρκειας<sup>2</sup>. Αυτή η μορφή είναι η προτιμητέα μέθοδος αναπνευστικής υποστήριξης στο σπίτι σε ασθενείς με χρόνια αναπνευστική ανεπάρκεια οφειλόμενη σε δυσμορφίες του θωρακικού τοιχώματος ή σε νευρομυϊκές νόσους βραδείας εξέλιξης<sup>3</sup>. Στη μονάδα εντατικής θεραπείας, ο ΜΕΜΑΘΠ χρησιμοποιείται πολύ συχνά σε διάφορες μορφές οξείας αναπνευστικής ανεπάρκειας, σε μετεγχειρητικούς ασθενείς και στην υποβοήθηση για αποσύνδεση από τον αναπνευστήρα ασθενών που είχαν εξαρτηθεί από αυτόν<sup>4</sup>. Ωστόσο αυτές οι χρήσεις πιστοποιούνται από λίγες ελεγχόμενες μελέτες και οι ενδείξεις και προϋποθέσεις για τη χρήση αυτού του αερισμού στο σπίτι και το νοσοκομείο βρίσκονται ακόμη σε εξέλιξη<sup>5-7</sup>.



## Ιστορική αναδρομή

Ο Μη Επεμβατικός Μηχανικός Αερισμός έχει χρησιμοποιηθεί για την αντιμετώπιση της Αναπνευστικής Ανεπάρκειας κατά τη διάρκεια των τελευταίων 100 χρόνων<sup>8</sup>. Το πρώτο μισό του 20ου αιώνα, αναπνευστήρες αρνητικής πίεσης, όπως ο σιδηρούς πνεύμων, χρησιμοποιήθηκαν στην παραλυτική πολιομυελίτιδα<sup>9,10</sup>. Ο ΜΕ-ΜΑΘΠ ήταν επίσης γνωστός από τις αρχές του αιώνα, αλλά δεν χρησιμοποιήθηκε όπως σήμερα. Ο διαλείπων αερισμός θετικής πίεσης (IPPB-Intermittent Positive Pressure Breathing) με επιστόμιο χρησιμοποιήθηκε κυρίως για χρήση νεφελοποιημένων βρογχοδιασταλτικών φαρμάκων και μπορεί να λειτουργήσει ως ΜΕΜΑΘΠ. Μερικές μελέτες κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του 1960, έδειξαν ότι η τεχνική IPPB μπορεί να χρησιμοποιηθεί για υποβοήθηση της αναπνοής σε ασθενείς με παρόξυνση χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας (ΧΑΠ), αλλά αυτή η μέθοδος δεν έγινε ποτέ ευρέως αποδεκτή<sup>11,12</sup>. Επίσης κατά τη διάρκεια της ίδιας δεκαετίας, πολλά κέντρα και νοσοκομεία χρησιμοποίησαν σωματικά ενδύματα για χρόνια αναπνευστική υποστήριξη με αναπνευστήρες θετικής πίεσης χωρίς όμως επιτυχία και έτσι η μέθοδος εγκαταλείφθηκε<sup>9,7,13,14</sup>.

Στα μέσα της δεκαετίας του 1980, η συνεχής θετική πίεση των αεραγωγών (CPAP) μέσω μάσκας, έγινε αποδεκτή για την αντιμετώπιση της αποφρακτικής άπνοιας κατά τον ύπνο<sup>15</sup>. Πολλοί ερευνητές χρησιμοποίησαν αυτή τη μάσκα στο σπίτι με φορητούς αναπνευστήρες θετικής πίεσης, για αντιμετώπιση της αναπνευστικής ανεπάρκειας ασθενών με χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια<sup>16</sup>. Ασθενείς που έλαβαν νυκτερινή αναπνευστική υποστήριξη στο σπίτι για εβδομάδες ή μήνες και έπασχαν από χρόνια αναπνευστική ανεπάρκεια οφειλόμενη σε δυσμορφίες του θωρακικού τοιχώματος ή σε νευρομυϊκά νοσήματα, παρουσίασαν σημαντική βελτίωση των αερίων αίματος κατά τη διάρκεια της ημέρας και των ενοχλητικών συμπτωμάτων τους, όπως του πρωϊνού πονοκεφάλου και της υπνηλίας<sup>17-19</sup>.

## Μείωση επιπλοκών

Ο πιο σημαντικός λόγος αντικατάστασης επεμβατικού από μη επεμβατικό αερισμό σε οξεία φάση, είναι η μείωση των επιπλοκών. Οι επιπλοκές του επεμβατικού αερισμού εμπίπτουν σε τρεις κύριες κατηγορίες:

1. Αυτές που σχετίζονται με τραυματισμούς από το σωλήνα.

2. Αυτές που σχετίζονται με την παρόκαμψη των ανώτερων αεραγωγών και των αμυντικών τους μηχανισμών λόγω ύπαρξης του σωλήνα και
3. Αυτές που σχετίζονται με δυσλειτουργία των ανώτερων αεραγωγών και δημιουργία συνθηκών και αισθήματος δυσανεξίας.

Στην πρώτη κατηγορία στοματικές, φαρυγγικές-λαρυγγικές και τραχειακές βλάβες, είναι συνηθισμένες και συχνά οδηγούν σε δευτεροπαθείς επιπλοκές όπως αιμορραγία, πνευμομεσοπνευμόνιο, παραλαρυγγικό απόστημα και παράλυση φωνητικών χορδών. Στη δεύτερη κατηγορία, ο ενδοτραχειακός σωλήνας είναι η κύρια αιτία συνεχούς επαφής των κατωτέρων αεραγωγών με το φυσικό περιβάλλον και αποικισμού τους με μικροοργανισμούς, διευκολύνοντας την εμφάνιση ενδονοσοκομειακής πνευμονίας. Ο τραχειοσωλήνας και το cuff, όσο καλά και αν είναι φουσκωμένο, επιτρέπουν συνήθως τη διόδο στοματο-φαρυγγικών εκκρίσεων και τροφών, αυξάνοντας περαιτέρω την εμφάνιση ενδονοσοκομειακής πνευμονίας και ερεθισμού των αεραγωγών. Από την πλευρά του ασθενούς, το πιο ενοχλητικό συναίσθημα που προκαλεί ο σωλήνας, είναι η αδυναμία ομιλίας και λήψης τροφής, συνεισφέροντας σε συναισθήματα απομόνωσης και δημιουργία άγχους<sup>5-7</sup>.

Η δυσανεξία του σωλήνα δημιουργεί δυσφορία και αυξάνει την ανάγκη για καταστολή και αναλγησία δημιουργώντας συνθήκες για επιπλοκές και δυσκολίες στην αποσύνδεση. Ο μη επεμβατικός μηχανικός αερισμός θετικής πίεσης, αποφεύγοντας όλες αυτές τις επιπλοκές, δυνητικά μειώνει τη νοσοκομειακή νοσηρότητα, διευκολύνει τη διαδικασία αποσύνδεσης από τη μηχανική αναπνοή, σμικρύνει το χρόνο νοσηλείας, μειώνει το κόστος και βελτιώνει τις συνθήκες παραμονής και θεραπείας του ασθενή στο νοσοκομείο και το σπίτι<sup>6</sup>.

Εκτός από την αποφυγή διασωλήνωσης, ο ΜΕΜΑΘΠ, συνήθως μέσα σε λίγες ώρες από την έναρξη της μεθόδου, μειώνει τη  $\text{PaCO}_2$ , την αναπνευστική συχνότητα, την καρδιακή συχνότητα με επακόλουθο τη βελτίωση του pH και της οξυγόνωσης. Λογικό επακόλουθο της βελτίωσης της οξυγόνωσης είναι η περαιτέρω βελτίωση των ζωτικών σημείων και η μείωση της δύσπνοιας κατά τη διάρκεια της χρήσης ΜΕΜΑΘΠ<sup>20</sup>. Επίσης μπορεί να υποστηριχθεί ότι ασθενείς με ΜΕΜΑΘΠ και όχι ενδοτραχειακή διασωλήνωση, οφελούνται από το αίσθημα ασφάλειας και την άνεση που τους προσφέρει μειώνοντας το άγχος και την ένταση, αλλά λίγες μελέτες έχουν

εξετάσει αυτή την παράμετρο επειδή τα παραπάνω συναισθήματα δεν είναι μετρήσιμα.

### Παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί

Ο μηχανισμός με τον οποίον ο ΜΕΜΑΘΠ βοηθά την αναπνοή είναι ο ίδιος με τον επεμβατικό αερισμό θετικής πίεσης. Υπο-ατμοσφαιρική πίεση εφαρμόζεται διαλλειπόντως μέσω των αεραγωγών, αυξάνοντας τη διαπνευμονική πίεση και εκπνύσσοντας τους πνεύμονες. Η εκπνοή επιτελείται παθητικά μέσω των ελαστικών δυνάμεων των πνευμόνων. Ένας μεγάλος αριθμός μελετών σε ασθενείς με σταθερή ΧΑΠ ή περιοριστικά νοσήματα του θώρακα έχουν αποδείξει ότι ο ΜΕΜΑΘΠ μειώνει ή περιορίζει στο ελάχιστο το έργο του διαφράγματος<sup>7,21</sup>. Επιπροσθέτως, χρησιμοποιώντας μερικούς τύπους αναπνευστήρων μπορεί να εφαρμοσθεί και θετική τελοεκπνευστική πίεση (PEEP) αποφεύγοντας έτσι την εμφάνιση auto-PEEP σε ασθενείς με σοβαρή παρόξυνση ΧΑΠ και βελτιώνοντας την οξυγόνωση<sup>22</sup>. Με αυτό τον τρόπο ο ΜΕΜΑΘΠ μπορεί να προλάβει-αποτρέψει την εμφάνιση της κόπωσης των αναπνευστικών μυών σε βαριά πάσχοντες ασθενείς, υποβοηθώντας τους κατά τη διάρκεια της κρίσης δύσπνοιας και δίνοντας την ευκαιρία να αποφύγουν τη διασωλήνωση και όλα όσα αυτή συνεπάγεται. Αν και η λειτουργία των αναπνευστικών μυών δεν έχει εκτιμηθεί άμεσα (μέσω διαδιαφραγματικής πίεσης) σε ασθενείς που κάνουν χρήση ΜΕΜΑΘΠ κατά τη διάρκεια της κρίσης, έμμεσοι δείκτες υποδηλώνουν ότι αυτός ο τρόπος μηχανικού αερισμού μειώνει την πιθανότητα εμφάνισης κόπωσης των αναπνευστικών μυών. Η επιτυχία του ΜΕΜΑΘΠ είναι αποκλειστικά εξαρτώμενη από την ικανότητα του ασθενούς να συνεργάζεται και να συγχρονίζει την αναπνοή του με τον αναπνευστήρα και από την παρεχόμενη ιατρική, νοσηλευτική υποστηρικτική και οικογενειακή φροντίδα. Οι χρήστες ΜΕΜΑΘΠ πρέπει να λαμβάνουν ήπια χαλάρωση, προκειμένου να συγχρονίζονται με τον αναπνευστήρα. Επιπλέον, οι ανώτεροι αεραγωγοί των ασθενών θα πρέπει να είναι ανοικτοί έτσι ώστε να μπορεί να φθάσει αέρας στους πνεύμονες. Αυτό συχνά είναι κατορθωτό σε ασθενείς συνεργάσιμους και με καλό επίπεδο συνείδησης, πιθανόν όμως να είναι αρκετά δύσκολο σε μη συνεργάσιμους ασθενείς ή ασθενείς με μεγάλη υπνηλία. Εάν οι ανώτεροι αεραγωγοί παρουσιάζουν δυσμορφίες ή η γλωττίδα είναι κλειστή, τότε ο πεπιεσμένος αέρας απλώς θα ακολουθήσει την οδό της ελάχιστης αντίστα-

σης και θα δημιουργηθεί διαφυγή από τη στοματική κοιλότητα ή τη μάσκα. Ευτυχώς όμως, παρ' όλα αυτά, το αναπνευστικό κέντρο φαίνεται ικανό να διορθώσει αυτές τις διαταραχές χωρίς εμείς να ξέρουμε τον ακριβή μηχανισμό. Μερικές μελέτες υποστηρίζουν ότι ο συνδυασμός ενεργητικών και παθητικών μηχανισμών ενεργοποιείται έτσι ώστε η μαλθακή υπερώα και ο λάρυγγας να λαμβάνουν τέτοια θέση ώστε ο αέρας να φθάνει άμεσα στην τραχεία<sup>6,7,23,24</sup>.

### Χρόνια Αναπνευστική Ανεπάρκεια (Α.Α.)

Την τελευταία δεκαετία πολλές μελέτες έχουν δημοσιευθεί για την αποτελεσματικότητα του ΜΕΜΑΘΠ στο σπίτι<sup>5-7,18</sup>. Πολλές έχουν δείξει εξαιρετικά αποτελέσματα, ενώ άλλες δεν είναι επαρκώς τεκμηριωμένες. Οι περισσότερες μελέτες εστιάζονται στην αναπνευστική ανεπάρκεια ασθενών με περιοριστικά νοσήματα. Πρόσφατα, η μικρή διακοπή εφαρμογής ΜΕΜΑΘΠ σε σταθερούς χρήστες, εδείχθη ότι οδηγεί σε επιδείνωση της νυκτερινής ανταλλαγής των αερίων και εμφάνιση δυσάρεστων συμπτωμάτων την ημέρα. Αυτή η παρατήρηση υποστηρίζει την άποψη ότι ο ΜΕΜΑΘΠ είναι αποτελεσματικός στον έλεγχο συγκεκριμένων μορφών Χρόνιας Αναπνευστικής Ανεπάρκειας, επειδή πιθανόν προλαμβάνει το σοβαρό νυκτερινό υποαερισμό, ο οποίος συνεισφέρει στη διακοπή του ύπνου και αυξάνει την ανοχή του αναπνευστικού κέντρου στο διοξείδιο του άνθρακα<sup>7,25</sup>.

Σε αντίθεση με αυτά τα ευρήματα από τη χρήση του ΜΕΜΑΘΠ σε ασθενείς με χρόνια αναπνευστική ανεπάρκεια που οφείλεται σε περιοριστικά νοσήματα των πνευμόνων, μελέτες σε ασθενείς με σοβαρή ΧΑΠ δεν έχουν πλήρως τεκμηριώσει την αποτελεσματικότητα του ΜΕΜΑΘΠ. Μερικές μελέτες προσπαθούν να αποδείξουν ότι η χρήση ΜΕΜΑΘΠ 4-5 ώρες ημερησίως ξεκουράζει τους αναπνευστικούς μυς, ενώ άλλες μελέτες έδειξαν ότι ασθενείς με ΧΑΠ δεν ωφελούνται από τη χρήση ΜΕΜΑΘΠ<sup>26</sup>. Σε σχετικά πρόσφατη μελέτη βρέθηκε ότι ασθενείς με ΧΑΠ και σοβαρή κατακράτηση διοξειδίου κατά τη διάρκεια της ημέρας και μεγάλο αποκορεσμό της Hb κατά τη διάρκεια της νύκτας ωφελούνται από τη χρήση ΜΕΜΑΘΠ κατά τη νύκτα, βελτιώνοντας τα αέρια αίματος κατά την ημέρα και τη νύκτα, την ποιότητα του ύπνου, τη σύγχυση και την υπνηλία. Εντούτοις, ασθενείς με μικρή κατακράτηση διοξειδίου και μικρή πτώση του κορεσμού της αιμοσφαιρίνης κατά τη νύκτα δεν φαίνεται ότι ωφελούνται από τη χρή-

ση ΜΕΜΑΘΠ<sup>27</sup>.

### Οξεία Αναπνευστική Ανεπάρκεια (Ο.Α.Α)

Κατά τη δεκαετία του 1980, η επιτυχία του ΜΕΜΑΘΠ στη θεραπεία συγκεκριμένων τύπων χρόνιας αναπνευστικής ανεπάρκειας και η απόδειξη ότι ο τύπος αυτός μειώνει το έργο της αναπνοής, οδήγησε τους ερευνητές να επανεξετάσουν την ιδέα του ΜΕΜΑΘΠ και να τη χρησιμοποιήσουν στη θεραπεία της οξείας αναπνευστικής ανεπάρκειας και την αποφυγή ενδοτραχειακής σωλήνωσης<sup>28,29</sup>. Σε μελέτη αποδείχθηκε ότι μεταξύ 13 ασθενών με παρόξυνση ΧΑΠ που αντιμετωπίστηκαν με ΜΕΜΑΘΠ μέσω μάσκας, μόνο ένας χρειάστηκε διασωλήνωση σε σύγκριση με τους 11 από τους 13 από ομάδα σύγκρισης<sup>30</sup>. Η μελέτη προκάλεσε ενθουσιασμό, ειδικότερα επειδή οι ασθενείς με ΜΕΜΑΘΠ χρειάστηκαν λιγότερο χρόνο στη ΜΕΘ, ελαττώθηκε η νοσηρότητα από τον αναπνευστήρα και μειώθηκε πολύ το κόστος.

Πολλές διαφορετικές τεχνικές έχουν χρησιμοποιηθεί για τον ΜΕΜΑΘΠ σε ασθενείς με Αναπνευστική Ανεπάρκεια. Ομάδα ερευνητών, βρήκε ίδια αποτελέσματα αλλά καλύτερη ανεκτικότητα σε ασθενείς που χρησιμοποίησαν αναπνευστήρες πίεσης<sup>31</sup>. Η επιτυχία ή όχι, φαίνεται να εξαρτάται περισσότερο από τον ειδικό που χρησιμοποιεί το μηχάνημα με προσαρμογή συγκεκριμένων παραμέτρων στον άρρωστο, παρά από τον τύπο του μηχανήματος ή της μάσκας<sup>14,31</sup>.

### Αποφυγή διασωλήνωσης

Αν και δεν υπάρχουν τυχαιοποιημένες ελεγχόμενες μελέτες, μερικές από αυτές υποστηρίζουν ότι ο ΜΕΜΑΘΠ αποτρέπει τη διασωλήνωση στην πλειονότητα επιλεγμένων ασθενών με ΧΑΠ και μερικές σειρές φθάνουν σε επιτυχία το 60-80%. Μάλιστα μια από αυτές έδειξε ελάττωση του ποσοστού των ασθενών που χρειάστηκαν διασωλήνωση από 73% σε 26% σ' αυτούς που έκαναν χρήση ΜΕΜΑΘΠ και σε μια υποομάδα με ΧΑΠ από 67% σε 9% με χρήση ΜΕΜΑΘΠ<sup>23</sup>. Ενδειξεις από άλλες μελέτες υποστηρίζουν ότι η χρήση ΜΕΜΑΘΠ βοηθά στην αποφυγή διασωλήνωσης, αλλά αυτό το συμπέρασμα, μπορεί μόνο να χρησιμοποιηθεί σε ασθενείς με παρόξυνση ΧΑΠ.

Μελέτες για έλεγχο της αποτελεσματικότητας του ΜΕΜΑΘΠ σε ασθενείς με οξεία αναπνευστική ανεπάρκεια, οφειλόμενη σε άλλες αιτίες εκτός ΧΑΠ περιλαμβάνουν λίγους ασθενείς για να μπορέσει κάποιος να

εξάγει συμπεράσματα, όμως μπορεί να γίνουν αρκετές παρατηρήσεις, όπως: 1) Σε παρόξυνση ασθενών με περιοριστικά νοσήματα, η χρήση ΜΕΜΑΘΠ είναι συγκριτικά καλύτερη από αυτή σε ασθενείς με ΧΑΠ. 2) Ασθενείς με σοβαρή πνευμονία ή ARDS ωφελούνται λιγότερο από τη χρήση ΜΕΜΑΘΠ σε σχέση με τους ασθενείς με ΧΑΠ. 3) Υπερκαπνικοί ασθενείς με  $\text{PaCO}_2 > 45 \text{ mmHg}$  ωφελούνται περισσότερο με ΜΕΜΑΘΠ και εμφανίζουν μειωμένη θνητότητα και μικρότερο χρόνο νοσηλείας στη ΜΕΘ σε σχέση με μη υπερκαπνικούς ασθενείς. 4) Υποομάδες με οξεία αναπνευστική ανεπάρκεια, όπως μετεγχειρητικές καταστάσεις και ασθενείς μετά από αποσύνδεση, ωφελούνται από τη χρήση ΜΕΜΑΘΠ. 5) Άλλα νοσήματα που ανταποκρίνονται στη χρήση ΜΕΜΑΘΠ είναι: α) Βρογχικό άσθμα, β) Κυστική ίνωση και γ) Καρδιογενές Πνευμονικό Οίδημα. Παρ' όλα αυτά όμως χρειάζονται περισσότερες μελέτες για να προσδιορισθεί ο ρόλος του ΜΕΜΑΘΠ σε πολλούς τύπους αναπνευστικής ανεπάρκειας και ειδικότερα η άμεση χρήση του στο τμήμα επειγόντων περιστατικών, στο νοσοκομείο και το σπίτι<sup>5-7,29,32</sup>.

### Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΜΕΜΑΘΠ ΣΤΟ ΣΠΙΤΙ ΚΑΙ ΤΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ

Η καθημερινή χρήση του ΜΕΜΑΘΠ στη ΜΕΘ θα διευκολυνθεί από τα θετικά αποτελέσματα και τις παραμέτρους όπως ο χρόνος παραμονής στον αναπνευστήρα, η νοσηρότητα, η θνησιμότητα, η νοσηλεία στη ΜΕΘ στο Νοσοκομείο και στο σπίτι, όπως και το συνολικό κόστος της θεραπείας του ασθενούς. Ένας μεγάλος αριθμός μελετών πιστοποιεί τη βελτίωση των ασθενών κατά τη διάρκεια χρήσης του ΜΕΜΑΘΠ, όμως όλες έχουν μεθοδολογικές ατέλειες. Ασθενείς που θεραπεύτηκαν με ΜΕΜΑΘΠ, είχαν μικρότερο χρόνο παραμονής στη ΜΕΘ και τον αναπνευστήρα αλλά η σύγκριση έγινε με στοιχεία παρελθόντων ετών και όχι με σύγχρονες μελέτες<sup>30</sup>.

Άλλη μελέτη έδειξε μείωση της θνησιμότητας σε ασθενείς που έκαναν χρήση ΜΕΜΑΘΠ αλλά αυτοί που απεβίωσαν είχαν λάβει διάφορες μορφές μηχανικής αναπνοής. Αυτή η μελέτη υποστηρίζει ότι οι ασθενείς που έκαναν χρήση ΜΕΜΑΘΠ είχαν μικρότερη θνησιμότητα από αυτούς που ήταν διασωληνωμένοι, χωρίς απαραίτητα να είναι σε μηχανική αναπνοή<sup>20</sup>.

Άλλη πρόσφατη μελέτη έδειξε μικρότερη διάρκεια

νοσηλείας στη ΜΕΘ, μικρότερη θνησιμότητα σε υπερκαπνικούς ασθενείς με διάφορες μορφές αναπνευστικής ανεπάρκειας αλλά όλα αυτά βασίστηκαν σε αναλύσεις μικρών ομάδων ασθενών, ενώ διαφορά στο χρόνο νοσηλείας και στη θνησιμότητα πιστοποιήθηκε σε μελέτη που αφορούσε μικρό αριθμό ασθενών και δεν ήταν επαρκής στατιστικά<sup>23,33</sup>. Τελικά, πολλές μελέτες στηρίζουν την εφαρμογή ΜΕΜΑΘΠ στην οξεία αναπνευστική ανεπάρκεια στο Νοσοκομείο και το σπίτι αποδεικνύοντας ότι βελτιώνει την έκβαση των ασθενών σε σχέση με τις κλασσικές μεθόδους υποστήριξης της αναπνοής, ενώ θεωρείται ότι χρειάζεται να γίνουν περισσότερες επιλεγμένες μελέτες για την επιβεβαίωση των θετικών αυτών αποτελεσμάτων.

#### ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΟΣ ΧΡΟΝΟΣ ΑΠΟ ΤΟ ΠΡΟΣΩΠΙΚΟ ΤΗΣ ΜΕΘ

Αν και η χρήση ΜΕΜΑΘΠ έχει καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με την κλασσική αντιμετώπιση αυτών των ασθενών, η ευρεία χρήση αυτής της τεχνικής θα πρέπει να περιορίζεται εάν ο απαιτούμενος χρόνος του ιατρικού-νοσηλευτικού και παραϊατρικού προσωπικού είναι πάρα πολύ μεγάλος (σπατάλη χρόνου). Την προηγούμενη δεκαετία ερευνητές έδωσαν μεγάλη σημασία σε αυτή την παράμετρο και βρήκαν ότι οι νοσηλευτές δεν ξοδεύουν περισσότερο χρόνο απ' ό,τι σε άλλους ασθενείς<sup>34</sup>. Όλοι όμως συμφωνούν ότι στα αρχικά στάδια της μεθόδου οι νοσηλευτές αφιερώνουν αρκετό χρόνο για σωστή εφαρμογή της μεθόδου, όταν όμως εξοικειωθούν με τη μέθοδο, ο χρόνος μειώνεται στο ελάχιστο και δεν υπερβαίνει αυτόν της κλασσικής αγωγής κατά την αρχική περίοδο.

#### Ενδείξεις εφαρμογής ΜΕΜΑΘΠ

Μελέτες σχετικές με την αποτελεσματικότητα του ΜΕΜΑΘΠ στην οξεία αναπνευστική ανεπάρκεια έχουν χρησιμοποιήσει ιδιαίτερα επιλεγμένους ασθενείς. Οι πλέον κατάλληλοι ασθενείς είναι αυτοί που έχουν μεγάλες πιθανότητες διασωλήνωσης επειδή πάσχουν από παρόξυνση μιας χρόνιας σοβαρής αναπνευστικής ανεπάρκειας με κατακράτηση CO<sub>2</sub>, ταχύπνοια, χρήση επικουρικών αναπνευστικών μυών και παράδοξη κοιλιακή αναπνοή (Πίνακας 1). Επειδή τα άμεσα θετικά του αποτελέσματα χρειάζονται στην καλύτερη περίπτωση, τουλάχιστον μερικά λεπτά της ώρας, αποκλείονται από τη χρήση ΜΕΜΑΘΠ, ασθενείς που είναι σε βαριά κατά-

σταση και διατρέχουν τον κίνδυνο να εμφανίσουν καρδιοαναπνευστική ανακοπή. Αποκλείονται επίσης ασθενείς με ήπια αναπνευστική δυσχέρεια, επειδή με συντηρητικά μέσα μπορούν να ξεπεράσουν πολύ καλά την αρχική κρίση και γρήγορα να βελτιωθούν.

Επιδείνωση της κατάστασης των ασθενών μετά τη χρήση ΜΕΜΑΘΠ, δεν δύναται να αποκλεισθεί, γι' αυτό η στενή παρακολούθησή τους κρίνεται απαραίτητη και επιβεβλημένη.

Ασθενείς με παρόξυνση ΧΑΠ συνήθως πληρούν τα κριτήρια για χρήση ΜΕΜΑΘΠ και, σε συνδυασμό με τη χορήγηση βρογχοδιασταλτικών, κορτικοστεροειδών και διουρητικών έχει βρεθεί ότι μπορεί να ξεπεράσουν την αρχικά κρίσιμη κατάστασή τους. Ασθενείς με βρογχικό άσθμα και οξύ πνευμονικό οίδημα φαίνεται ότι μπορεί να βοηθηθούν από τη χρήση ΜΕΜΑΘΠ, αλλά για τα νοσήματα αυτά απαιτούνται περαιτέρω εμπειρία και έρευνα. Βαριά ασθματική κρίση (status asthmaticus), πνευμονία με σοβαρή υποξαιμία και ARDS πρέπει να αντιμετωπίζονται με συμβατικό μηχανικό αερισμό θετικής πίεσης σε οργανωμένες ΜΕΘ.

*Πίνακας 1. Κριτήρια για τη χρήση Μη Επεμβατικού Αερισμού Θετικής Πίεσης (ΜΕΜΑΘΠ) στην Οξεία Αναπνευστική Ανεπάρκεια (ΟΑΑ).*

#### **Ασθενείς Μεγάλης Πιθανότητας Διασωλήνωσης**

- Οξεία επιδείνωση αερίων αίματος: pH < 7,35, αύξηση PaCO<sub>2</sub> > 4-5 mmHg/ώρα.
- Μέτρια έως σοβαρή αναπνευστική δυσχέρεια, μέτρια δύσπνοια, χρήση επικουρικών μυών, παράδοξη κοιλιακή αναπνοή (> 25/min).

#### **Ασθενείς Μικρής Πιθανότητας Διασωλήνωσης**

- Μη αναμενόμενη καρδιοαναπνευστική ανακοπή.
- Απουσία δυσλειτουργίας ανωτέρων αεραγωγών ή υπερβολικών εκκρίσεων.
- Απουσία απόφραξης ανωτέρων αεραγωγών ή τραύματος.
- Απουσία άλλης σοβαρής κλινικής εκδήλωσης (υπόταση, αρρυθμία, καρδιακή ισχαιμία, γαστρορραγία).
- Απουσία άγχους ή προβλημάτων συνεργασίας.

#### **Ασθενείς που χρήζουν ΜΕΜΑΘΠ**

- Αναπνευστική ανεπάρκεια που θα αναταχθεί σε λίγες ώρες ή μέρες όπως παρόξυνση ΧΑΠ, κυστική ίνωση, περιοριστικά νοσήματα πνευμόνων, βρογχικό άσθμα, οξύ πνευμονικό οίδημα και πνευμονία.
- Διαταραχές αερίων μετά αποσωλήνωση.
- Ασθενείς αρνούμενοι τη διασωλήνωση.

## Τεχνικές ΜΕΜΑΘΠ

Σε οξείες καταστάσεις, σε μερικά κέντρα του εξωτερικού που έχουν την ανάλογη εμπειρία στη χρόνια αναπνευστική ανεπάρκεια, εφαρμόζεται ο ΜΕΜΑΘΠ με ρινική ή στοματορινική μάσκα, ενώ με χρήση επιστομίου αυτός χρησιμοποιείται ιδίως στο σπίτι<sup>5-7,19</sup>.

Η επιλογή του είδους της προσωπίδας (μάσκας), εξαρτάται από την προτίμηση που δείχνει το ιατρικό και νοσηλευτικό προσωπικό και λιγότερο από την προτίμηση-επιθυμία του αρρώστου. Οι ρινικές μάσκες έχουν το πλεονέκτημα ότι αφήνουν τη στοματική κοιλότητα ελεύθερη και έτσι ο ασθενής αισθάνεται πιο ελεύθερος, ομιλεί, γευματίζει και δείχνει περισσότερη ανεκτικότητα. Το μεγάλο μειονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι η διαφυγή αέρα από τη στοματική κοιλότητα και έτσι συστήνεται στον ασθενή η χρήση στοματορινικής μάσκας.

Η χρήση ρινικής μάσκας πολλές φορές δημιουργεί έλκη στην περιοχή, τα οποία επιτείνουν το ήδη υπάρχον πρόβλημα δυσανεξίας. Η χρήση στοματορινικής μάσκας, μπορεί να μειώνει τα προβλήματα διαφυγής αέρα γύρω από το πρόσωπο, αλλά δημιουργεί προβλήματα ως προς τη λήψη φαγητού και ομιλίας, γι' αυτό η πλειοψηφία των ασθενών αυτών, απορρίπτει αυτή τη μέθοδο. Η δημιουργία πολλών τύπων μάσκας για χρήση ΜΕΜΑΘΠ, έχει σκοπό να μειώσει αυτά τα προβλήματα<sup>6,7,10,15</sup>.

## Έναρξη ΜΕΜΑΘΠ

Επιλεγμένοι ασθενείς πρέπει να αρχίζουν ΜΕΜΑΘΠ προσεκτικά και όχι κάτω από καταστάσεις έντασης. Οι περισσότεροι ασθενείς είναι αρνητικά προδιαθετημένοι στη χρήση τέτοιων τεχνικών, γι' αυτό ο σκοπός και το κάθε επιμέρους κομμάτι του μηχανήματος θα πρέπει να εξηγούνται στον ασθενή πριν την εφαρμογή του.

Πολλοί τύποι αναπνευστήρων έχουν χρησιμοποιηθεί στο ΜΕΜΑΘΠ (αναπνευστήρες όγκου-αναπνευστήρες πίεσης), όμως όλες σχεδόν οι μελέτες έχουν δείξει περίπου τα ίδια αποτελέσματα<sup>5-7</sup>. Πολλές φορές πρέπει να δίδεται η ευκαιρία στον ασθενή να διαλέγει τα μηχανήματα που του ταιριάζουν και που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στο νοσοκομείο και το σπίτι. Εμπειρία πολλών κέντρων συστήνει μικρές μάσκες που εφαρμόζουν πολύ καλά στο πρόσωπο. Οι ιμάντες της μάσκας πρέπει να είναι άνετοι (χαλαροί) και όχι πολύ σφικτοί γιατί προκαλούν δυσφορία-πονοκέφαλο και οδηγούν σε αποτυχία την προσπάθεια χρήσης ΜΕΜΑΘΠ. Χαμηλή πίεση έναρξης BiPAP S/T (8-12 cmH<sub>2</sub>O IPAP & 2-4

cmH<sub>2</sub>O EPAP) διευκολύνει τον ασθενή και έχει καλά αποτελέσματα, δίνοντας συγχρόνως την ευκαιρία για σταδιακή αύξηση των πιέσεων του BiPAP<sup>32</sup>. Για την επιτυχία της χρήσης ΜΕΜΑΘΠ στο σπίτι χρειάζεται πολύ καλή συνεργασία ασθενούς, ιατρού, νοσηλευτικού προσωπικού, οικογενειακού περιβάλλοντος, μεγάλη υπομονή και πολύς χρόνος. Συνήθως οι ασθενείς αυτοί έχουν άγχος, αισθάνονται άβολα και απαιτούν αρκετό χρόνο, έως ότου πεισθούν για τη χρησιμότητα της μεθόδου. Μερικοί ασθενείς, εμφανίζουν πανικό, δυσανεξία στη μάσκα και το μηχανήμα και παρά τις εναλλακτικές μεθόδους δεν δείχνουν ότι μπορεί να ανεχθούν κάποια από αυτές. Εάν μετά 2-3 ώρες προσπάθειας ο ασθενής δεν επιθυμεί τη μέθοδο, δεν δείχνει σημάδια συνεργασίας, αισθάνεται κόπωση και η κατάστασή του επιδεινώνεται τότε γίνεται διακοπή της εφαρμογής της μεθόδου και ο ασθενής αντιμετωπίζεται με άλλα μέσα.

Όλοι οι ασθενείς που λαμβάνουν ΜΕΜΑΘΠ στο σπίτι πρέπει να βρίσκονται σε στενή παρακολούθηση και εφόσον η κατάστασή τους επιδεινωθεί να εισάγονται στο Νοσοκομείο και τη ΜΕΘ. Μερικοί από αυτούς πιθανόν να εμφανίσουν οξεία δύσπνοια και βαριά αναπνευστική ανεπάρκεια και να χρειαστούν διασωλήνωση τραχείας. Από τη στιγμή που ο ασθενής ξεπεράσει την οξεία φάση της νόσου μπορεί εύκολα να αποσυνδεθεί από τον αναπνευστήρα. Μερικοί συγγραφείς, από τη στιγμή που ο ασθενής παρουσιάσει σημεία βελτίωσης, προτείνουν άμεση και όχι σταδιακή αποσύνδεση από τη μηχανική αναπνοή<sup>23</sup>. Μεταξύ των δύο τρόπων δεν έχει βρεθεί ότι υπάρχουν ουσιαστικές διαφορές, επειδή είναι πολύ εύκολο ο ασθενής να ξαναρχίσει ΜΕΜΑΘΠ. Η πλειοψηφία των ασθενών μετά πάροδο ορισμένου χρονικού διαστήματος βελτιώνονται και χρειάζεται να κάνουν χρήση στο σπίτι μόνο κατά τη νύκτα<sup>5,15,18,19</sup>.

## Η σημερινή εμπειρία και προοπτική

Σε επιλεγμένους ασθενείς, ο ΜΕΜΑΘΠ είναι ασφαλής, καλά ανεκτός με σχετικά λίγες επιπλοκές, που συνήθως οφείλονται στην προσαρμογή των συσκευών (Πίνακας 2). Περίπου 10-25% των ασθενών παρουσιάζουν δυσανοχή στη μάσκα παρά τις αλλαγές των τύπων και των μεγεθών της. Η διαφυγή αέρα γύρω από τη μάσκα μερικές φορές είναι αναπόφευκτη λόγω σωματικής κατασκευής. Άλλα προβλήματα είναι το ερυθήμα που παρουσιάζεται γύρω από τα σημεία επαφής της μάσκας,

Πίνακας 2. Επιπλοκές ΜΕΜΑΘΠ κατά τη χρήση του στην αναπνευστική ανεπάρκεια.

| Επιπλοκές                                                   | Ποσοστό % |
|-------------------------------------------------------------|-----------|
| Διαφυγή αέρα από τη μάσκα ή γύρω από τη στοματική κοιλότητα | 80-100    |
| Ξηρότητα ρινός-Συμφορηση                                    | 40-60     |
| Ερυθρότητα προσώπου                                         | 25-40     |
| Δυσανεξία μάσκας                                            | 15-25     |
| Έλκος ρινός                                                 | 10-15     |
| Γαστρικός φόρτος                                            | 5-10      |
| Επιπεφυκίτις                                                | 5-10      |
| Εισρόφηση                                                   | 5         |

και τα έλκη από την πίεση που ασκεί επάνω στη μύτη, πόνος των ιγμορείων, των αυτιών, ενώ ξηρότητα ρινικών κοιλοτήτων και ερεθισμός των ματιών είναι επιπλοκές που συνδέονται με τη διαφυγή αέρα<sup>19</sup>. Γαστρική διάταση και εμφάνιση πνευμοθώρακα είναι μια άλλη σπάνια επιπλοκή. Μερικές φορές η χρήση καταπραΰντικών, πιθανόν να ωφελήσει τον ασθενή μειώνοντάς του το άγχος και τη νευρικότητα. Η χρήση ρινογαστρικού καθετήρα βοηθά στην αποφυγή εισρόφησης αλλά δεν υπάρχουν επαρκή βιβλιογραφικά δεδομένα που να στηρίζουν αυτή την άποψη<sup>35</sup>. Προοδευτικός υποαερισμός συμβαίνει στη μειοψηφία καλά επιλεγμένων ασθενών αλλά όταν αυτό συμβεί τότε η διασωλήνωση τραχείας είναι αναπόφευκτη<sup>5,7</sup>.

Η τεχνολογία για χρήση ΜΕΜΑΘΠ στο νοσοκομείο και στο σπίτι σε ασθενείς με οξεία αναπνευστική ανε-

πάρκεια είναι διαθέσιμη εδώ και αρκετά χρόνια, αλλά μόνο τα τελευταία χρόνια, έχει κερδίσει την εμπιστοσύνη των γιατρών, των νοσηλευτών και των ασθενών<sup>18,19</sup>. Σε επείγουσες καταστάσεις υπάρχουν ενδείξεις που συνηγορούν ότι ο ΜΕΜΑΘΠ προσφέρει σημαντική βοήθεια στην οξεία επιδείνωση της ΧΑΠ, στη μετεγχειρητική αναπνευστική ανεπάρκεια, και στην οξεία αναπνευστική ανεπάρκεια ασθενών που αρνούνται τη διασωλήνωση. Ασθενείς με άλλες οξείες καταστάσεις, εκτός ΧΑΠ, όπως βρογχικό άσθμα, οξύ πνευμονικό οίδημα, περιοριστικά νοσήματα πνευμόνων και πνευμονία, πιθανόν να ωφελούνται από τη χρήση ΜΕΜΑΘΠ<sup>28,32</sup>.

Ασθενείς με δυσμορφίες ανωτέρων αεραγωγών και άφθονες εκκρίσεις ή ασθενείς που δεν συνεργάζονται, πρέπει να αποκλείονται για άμεση χρήση ΜΕΜΑΘΠ στο σπίτι και να προτιμάται η μεταφορά τους στο νοσοκομείο και εφαρμογή μηχανικής αναπνοής μέσω τραχειοστομίας<sup>19,36</sup>.

Εάν ληφθούν σοβαρά υπόψη τα παραπάνω, τότε η χρήση του ΜΕΜΑΘΠ είναι ασφαλής, χαμηλού κόστους και παρουσιάζει λίγες επιπλοκές στο σπίτι και το νοσοκομείο<sup>37-40</sup>.

Η αφιέρωση αρκετού χρόνου από το ιατρικό, νοσηλευτικό και βοηθητικό προσωπικό για την εφαρμογή και την εκμάθηση του ΜΕΜΑΘΠ είναι επιβεβλημένη αλλά τα καλά αποτελέσματα και η μείωση της νοσηρότητας και θνησιμότητας είναι δείκτες που επιβάλλουν τη συνέχεια της προσπάθειας για τελειοποίηση των μεθόδων ΜΕΜΑΘΠ και την ευρύτερη εφαρμογή τους στο νοσοκομείο και στο σπίτι<sup>5,6,19,41</sup>.

## SUMMARY

### *Non Invasive Positive Pressure Ventilation at home and in the hospital. Recent developments*

**L. Gregorakos**

*Non invasive mechanical ventilation refers to the provision of ventilatory assistance without the need for an invasive artificial airway. In this article many different approaches to assisting ventilation non-invasively are reviewed for the treatment of various forms of respiratory failure at home and in critical hospital care setting. Recent studies and development of these methods are presented. **Pneumon 2001, 14(3):197-205.***

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Hill NS. Clinical application of body ventilators. Chest 1986, 90:905-987.
- Meyer TJ. Hill NS. Noninvasive positive pressure ventilation to treat respiratory failure. Ann Internal Med 1994, 120:760-770.
- Hill NS. Non invasive ventilation: does it work, for whom, and how? Am Rev Respir Dis 1993, 147:1050-1055.
- Udwadia ZF, Santis GK, Stevan MH, et al (1992). Nasal ventilation to facilitate weaning in patients with chron-

- ic respiratory insufficiency. *Thorax* 1992, 47:715-718.
5. Evans T. International Consensus Conferences in Intensive Care Medicine: Non-Invasive positive pressure ventilation in acute respiratory failure. *Int Care Med* 2001, 27:166-178.
6. Make B, Hill N, Goldberg A. Mechanical ventilation beyond the Intensive Care unit: report of a consensus conference of the American College of Chest Physicians. *Chest* 1998, 113:2895-3445.
7. Γρηγοράκος Α. Μη Επεμβατικός Μηχανικός Αερισμός. Μονογραφία. Επιμέλεια-Έκδοση Α. Γρηγοράκος, Αθήνα, σελ 75, 1994.
8. Woollam CHM. The development of apparatus for intermittent negative pressure respiration. *Anaesth* 1976, 3:666-675.
9. Γρηγοράκος Α. Μη Επεμβατικός Μηχανικός Αερισμός. Μετεκπαιδευτικά Σεμινάρια Πνευμονολογικής Κλινικής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, τόμος εισηγήσεων-περιλήψεων, σελ. 128-129, Ιωάννινα 1992.
10. Γρηγοράκος Α. Μέθοδοι Μη Επεμβατικού Μηχανικού Αερισμού (MEMA). Μετεκπαιδευτικά Σεμινάρια Πνευμονολογικής Κλινικής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, τόμος εισηγήσεων-περιλήψεων, σελ. 1-6, Ιωάννινα, 1994.
11. Borelli M, Benini A, Denkewitz. Effects of continuous negative extrathoracic pressure versus positive end-expiratory pressure in acute lung injury patients. *Crit Care Med* 1998, 26:1025-1031.
12. Corrado A, Gorini M, Pelagatti C. Negative pressure ventilation versus conventional mechanical ventilation in the treatment of acute respiratory failure in COPD patients. *Eur Respir J* 1998, 12:519-525.
13. Kannan S. Practical issues in non-invasive positive pressure ventilation. *Care of the Crit Ill* 1999, Vol 15(3):76-79.
14. Cordova F, Criner G. Negative Pressure ventilation: who, when, how? *Clin Pulm Med* 2001, Vol. 8, No 1:33-41.
15. Γρηγοράκος Α. Μη Επεμβατικός Μηχανικός Αερισμός (MEMA) και Αναπνευστική Ανεπάρκεια - Νεότερες εξελίξεις. *Πνεύμων* 1996 9(16):113-115.
16. Kerby GR, Mayer LS, Pingleton SK. Nocturnal positive pressure ventilation via nasal mask. *Am Rev Respir Dis* 1987, 135:738-740.
17. Plant PK, Owen J, Eliot MW. One-year prevalence study of acidosis in patients admitted to hospital with an exacerbation of COPD-implications for non-invasive ventilation. *Thorax* 2000, 55:550-554.
18. Γρηγοράκος Α. Μηχανικός Αερισμός - Μετά τη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας και στο Σπίτι. *Πνεύμων* 1999, τόμος 12, τεύχος 26, σελ. 249-255.
19. Γρηγοράκος Α. Μη Επεμβατικός Μηχανικός Αερισμός (MEMA) στο σπίτι. *Ιατρικά Χρονικά Σεπτέμβριος* 1998, τόμος ΚΑ, τεύχος 9, σελ. 411-416.
20. Bott J, Carroll MP, Conway JH. Randomized controlled trial of nasal ventilation in acute ventilatory failure due to chronic obstructive airways disease. *Lancet* 1993, 341:1555-1557.
21. Carrey Z, Gottfried SB, Levy RD. Ventilatory muscle support in respiratory failure with nasal positive pressure ventilation. *Chest* 1990, 97:150-158.
22. Appendini L, Paleasio A, Zanaboni S. Physiologic effects of positive end-expiratory pressure and mask pressure support during exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1994, 149:1069-1076.
23. Kramer N, Mayer TJ, Meharg J. Randomized, prospective trial of noninvasive positive pressure ventilation in acute respiratory failure. *Am J Respir Crit Care Med* 1995, 151:1799-1806.
24. Γρηγοράκος Α. Η θρεπτική και μεταβολική υποστήριξη των βαριά πασχόντων. *Ιατρικά Χρονικά* 1989, τόμος 12, τεύχος 3:205-216.
25. Navalesi P, Fanfula F, Frigero P, Gregoret C. Physiologic evaluation of noninvasive mechanical ventilation delivered with three types of mask in patients with chronic hypercapnic respiratory failure. *Crit Care Med* 2000, 28:1785-1790.
26. Shapiro SH, Erenst P, Gray-Donald K. Effect of negative pressure ventilation in severe pulmonary disease. *Lancet* 1992, 340:1425-1429.
27. Meecham Jones DJ, Paul EA, Wedzicha JA. Nasal pressure support ventilation plus oxygen compared with oxygen therapy alone in hypercapnic COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 1995, 152:539-544.
28. Martin TJ, Hovis JD, Constantine JR, Bierman MI, Donahoe MP, Rogers RM, Kreit JW, Sciubra FC, Stillner RA, Sanders MH. A randomized, prospective evaluation of noninvasive ventilation for acute respiratory failure. *Am J Respir Crit Care Med* 2000, 161:807-813.
29. Poponick JM, Renston JR, Bennet RP, Emerman CL. Use of a ventilatory support system (BiPAP) for acute respiratory failure in the emergency department. *Chest* 1999, 116:166-171.
30. Brochard L, Isabey D, Piquet J. Reversal of acute exacerbations of chronic obstructive lung disease by inspiratory assistance with a face mask. *N Eng J Med* 1990, 322:1523-1530.
31. Vitacca M, Rubini F, Foglio K. Non-invasive modalities of positive pressure ventilation improved the outcome of acute exacerbations in COLD patients. *Intensive Care Med* 1993, 19:450-455.
32. Matte P, Jacquet L, Van Duck M, Goenen M. Effects of

- conventional physiotherapy, continuous positive airway pressure and non-invasive ventilatory support with bi-level positive airway pressure after coronary artery bypass grafting. *Acta Anaesthesiol Scand* 2000, 44:75-81.
33. Wysocki M, Laurent T, Wolff MA. Non-invasive pressure support ventilation in patients with acute respiratory failure. A randomized comparison with conventional therapy. *Chest* 1995, 107:761-768.
  34. Chevreton JC, Joliet P, Abajo B. Nasal positive pressure ventilation in patients with acute respiratory failure. *Chest* 1991, 100:775-782.
  35. Meduri GU, Abou-Shala N, Fox RC. Noninvasive face mask mechanical ventilation in patients with acute hypercapnic respiratory failure. *Chest* 1991, 100:445-454.
  36. Bach JR, Alba AS, Saporito LR. Intermittent positive pressure ventilation via the mouth as an alternative to tracheostomy for 257 ventilator users. *Chest* 1993, 103:174-182.
  37. Γρηγοράκος Α, Κανιαδάκη Κ, Κότσαρη Β. Η αντιμετώπιση των βαρέως πασχόντων στη Μονάδα Εντατικής Θεραπείας. *Ελλ Πνευμ Επιθ* 1988, 6:140-151.
  38. Gregorakos L, Sakayianni K, Hroni D, Harizopoulou V, Milona L, Papazaharias Ch. Bedside lower limb venography in ICU patients with recurrent pulmonary embolism. In Gullo A (ed), Italy. *Anaesthesia pain and Intensive Care and Emergency Medicine (APICE)* 1998, pp 245-249.
  39. Gregorakos L, Sakayianni K, Hroni D, Adamidou M, Harizopoulou V, Georgiadou G. Mechanical Ventilation at Home. A ten year experience in Greece. In: Gullo A (ed) Italy. *Anaesthesia pain and Intensive Care and Emergency Medicine (APICE)* 1998, pp 224-228.
  40. Γρηγοράκος Α. Νοσοκομειακή Πνευμονία, Αιτιολογία-Διάγνωση και Αντιμετώπιση. Στο Τραύμα. Έκδοση Εταιρείας Νοσηλευτικών Σπουδών, Αθήνα. Επιμέλεια Α. Γρηγοράκος και συν 1998, σελ. 297-311.
  41. Γρηγοράκος Α, Καλογήρου Ε. Θρεπτική υποστήριξη βαρέως πασχόντων στο σπίτι. *Ιατρική Συνεργασία* 1992, τόμος 5, 6:10-13.



# Το μονοκλωνικό αντίσωμα *rhuMAb-25* στη θεραπεία του άσθματος

Φ. Βλαστός<sup>1</sup>,  
Μ. Μιχαηλίδου<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Πνευμονολόγος, Επιμελητής Κέντρου Αναπνευστικής Ανεπάρκειας, Νοσοκομείο "Σωτηρία", <sup>2</sup>Ειδικευόμενη Πνευμονολόγος, Κέντρο Αναπνευστικής Ανεπάρκειας, Νοσοκομείο "Σωτηρία"

Λέξεις κλειδιά: Ανοσοσφαιρίνη Ε, ηωσινόφιλα, φλεγμονή αεραγωγών, άσθμα

Αλληλογραφία:  
Φώτης Βλαστός, "Η Σωτηρία", Λεωφ. Μεσογείων  
152, Αθήνα 11527, Τηλ.: 0107778611

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ.** Τα μονοκλωνικά αντισώματα έναντι των ανοσοσφαιρινών IgE αποτελούν μια νέα τάξη αντιασθματικών φαρμάκων. Η χρήση αυτών των φαρμάκων στηρίζεται στην παραδοχή ότι οι ανοσοσφαιρίνες IgE ευθύνονται σε μεγάλο βαθμό για τη διατήρηση της ασθματικής φλεγμονής και, κατά συνέπεια, των κλινικών συμπτωμάτων της νόσου. Νεότερα δεδομένα εμπλέκουν τις ανοσοσφαιρίνες IgE και στην παθογένεια του ενδογενούς άσθματος, μέσω τοπικής υπερπαραγωγής τους στους ασθματικούς αεραγωγούς. Τα μονοκλωνικά αντισώματα rhuMAb-25 συνδέονται με τους υποδοχείς υψηλής συγγένειας της IgE, στην επιφάνεια των μαστοκυττάρων και των βασεοφίλων κυττάρων, παρεμβαίνοντας έτσι στους εξαρτώμενους από την IgE μηχανισμούς της φλεγμονής των αεραγωγών. Τα αντισώματα rhuMAb-25 μειώνουν τα επίπεδα της ελεύθερης IgE καθώς και την έκφραση των υποδοχέων της IgE. Οι κλινικές μελέτες του φαρμάκου δείχνουν σημαντικό θεραπευτικό όφελος κυρίως στους ασθενείς με αλλεργικό άσθμα, ενηλίκους και παιδιά. *Πνεύμων 2001, 14(3): 206-216.*

## 1. Ανοσοσφαιρίνη IgE και άσθμα

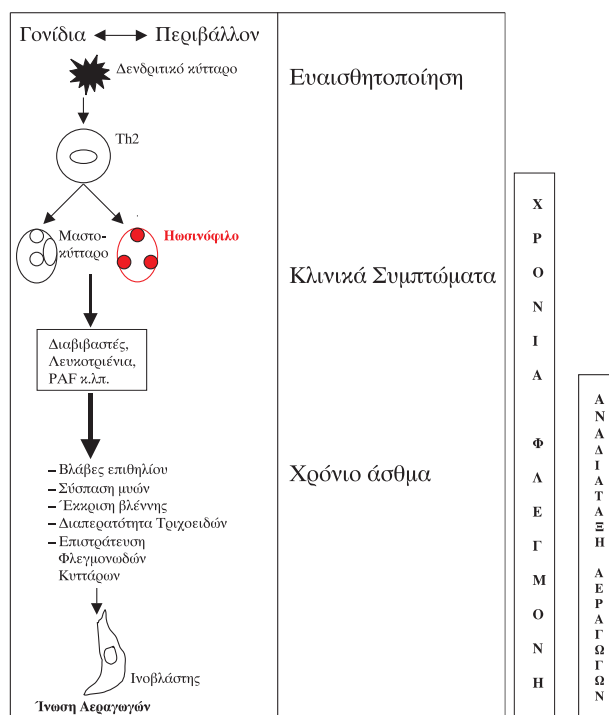
Το άσθμα είναι μια χρόνια φλεγμονώδης νόσος των αεραγωγών, στην παθογένεια της οποίας παίζουν ρόλο νευρογενείς και κυτταρικοί μηχανισμοί. Τα κύτταρα της λευκής σειράς του αίματος συμμετέχουν στη δημιουργία και στη συντήρηση της φλεγμονής των αεραγωγών στους ασθενείς με άσθμα. Κεντρικό ρόλο μεταξύ των λευκοκυττάρων για την πρόκληση της ασθματικής φλεγμονής παίζει το μαστοκύτταρο, το οποίο παράγει ουσίες με φλεγμονώδη (κυτταροκίνες) και χημειοτακτική δράση (χημειοκίνες). Οι ουσίες αυτές εμπλέκονται στη φλεγμονή του βλεννογόνου των αεραγωγών, καθώς και στην προσέλκυση των φλεγμονογόνων κυττάρων του αίματος (ουδετερόφιλων και ηωσινόφιλων). Τα ηωσινόφιλα κύτταρα θεωρούνται ως τα κυρίως υπεύθυνα για τη διατήρηση της ασθματικής φλεγμονής, λόγω της ικανότητάς τους να εκκρίνουν ουσίες με

τοξικές ιδιότητες για το βρογχικό επιθήλιο (ηωσινοφιλική κατιονική πρωτεΐνη-ECP, μεγίστη βασική πρωτεΐνη-MBP, ηωσινοφιλική περοξειδάση-EPO) (Σχήμα 1).

Η ανοσοσφαιρίνη E (IgE) παράγεται από τα B-λεμφοκύτταρα, τα οποία διεγείρονται για την παραγωγή της από την ιντερλευκίνη 4 (IL-4) των TH2 λεμφοκυττάρων. Η IgE που βρίσκεται στην επιφάνεια των μαστοκυττάρων ενώνεται με το αντιγόνο και ενεργοποιεί το μαστοκύτταρο, πυροδοτώντας τις αντιδράσεις που οδηγούν στη φλεγμονή.

Τα τελευταία χρόνια έχουν εμφανισθεί ενδείξεις που υποδηλώνουν τοπική παραγωγή της IgE στους αεραγωγούς. Φαίνεται ότι η τοπική αυτή παραγωγή είναι ανεξάρτητη του αλλεργικού ή ενδογενούς χαρακτήρα του άσθματος και της αποπίας του ασθενούς. Η πληροφορία ότι η IgE μπορεί να παράγεται τοπικά στο βλεννογόνο των βρόγχων αναθεωρεί τις γνώσεις μας για τη σχέση που μπορεί να έχει η ανοσοσφαιρίνη αυτή με το ενδογενές άσθμα<sup>1</sup>. Οι Corris και Dark παρατήρησαν ότι μη ασθματικοί ασθενείς, σε τελικό στάδιο κυστικής ινώσεως ή με πρωτοπαθή πνευμονική υπέρταση, στους οποίους έγινε μεταμόσχευση πνευμόνων από δότες με ήπιο άσθμα, ανέπτυξαν στη μετέπειτα ζωή τους άσθμα<sup>2</sup>. Αντίθετα, ασθματικοί ασθενείς στους οποίους έγινε μεταμόσχευση πνευμόνων από δότες μη ασθματικούς, δεν εμφάνισαν άσθμα επί τρία χρόνια μετά τη μεταμόσχευση. Οι παρατηρήσεις αυτές υποστηρίζουν την άποψη ότι το άσθμα είναι ενδεχομένως μια "τοπική" νόσος<sup>2</sup>. Μελέτες σε άτομα με πυρετό εκ χόρτου, έδειξαν ότι τα B λεμφοκύτταρα του ρινικού βλεννογόνου τους μπορούν να παράγουν τοπικά IgE<sup>3,4</sup>. Μια μελέτη σε άτομα με χρόνια αλλεργική ρινίτιδα έδειξε ότι τα μαστοκύτταρα του ρινικού βλεννογόνου επιδεικνύουν αυξημένη έκφραση των FcεR1 υποδοχέων και των IL-4 και IL-13 και προάγουν τη σύνθεση της IgE από τα B λεμφοκύτταρα<sup>5</sup>. Οι παρατηρήσεις αυτές για την παραγωγή της IgE στο τοπικό μικροπεριβάλλον των ανωτέρων αεραγωγών μπορούν ίσως να μας εξηγήσουν γιατί κάποιοι αποπικοί ασθενείς εμφανίζουν ρινίτιδα, ενώ άλλοι δεν έχουν όμοιες κλινικές εκδηλώσεις ή αναπτύσσουν αποπική νόσο αλλού.

Ενδιαφέρον επίσης παρουσιάζουν οι μελέτες σε ασθματικούς ασθενείς, αποπικούς και μη, οι οποίες συγκλίνουν στην άποψη ότι αυτές οι δύο μορφές άσθματος μπορεί μεν να παρουσιάζουν διαφορές στην κλινι-



Τροποποιημένο από K.F. Chung, Chronic inflammation in asthma. Eur Respir Rev 1988;8, 62, 999-1006 και R. Pauwells, chronicity and progression of asthma. Eur Respir Rev 1998;8, 62, 1016-1019.

Σχήμα 1. Κυτταρικά, βιοχημικά, παθολογοανατομικά και κλινικά χαρακτηριστικά της φυσικής πορείας του βιοχημικού άσθματος.

κή τους εκδήλωση, αλλά μοιράζονται κοινούς ανοσοπαθολογικούς μηχανισμούς. Οι Humbert και συν. έδειξαν, με ανοσοϊστοχημικές μεθόδους σε βιοψίες βρογχικού βλεννογόνου αποπικών και μη αποπικών ασθενών με άσθμα, ότι αυξάνεται ο αριθμός των κυττάρων που εκφράζουν το mRNA για την IL-4 και την IL-5<sup>6</sup>. Το ίδιο επίσης έχει βρεθεί για τα κύτταρα που εκφράζουν το mRNA για την αIL-5 (διαλυτή και μεμβρανική) και για τις χημειοκίνες των ηωσινοφίλων (ηωταξίνη, ηωταξίνη-2, RANTES, χημειοελκτική πρωτεΐνη μονοκυττάρων 3 και 4)<sup>7,8</sup>. Οι Ying και συν. έδειξαν επίσης ότι τα CD8+ και τα CD4+ T λεμφοκύτταρα μαζί με τα μαστοκύτταρα και τα ηωσινόφιλα εκφράζουν το mRNA για την IL-4 και την IL-5 σε ασθματικούς ασθενείς, αποπικούς και μη<sup>9</sup>. Σε βιοψίες από βρογχικό βλεννογόνο ασθενών με άσθμα, βρέθηκε αυξημένος αριθμός κυττάρων που φέρουν υποδοχείς υψηλής συγγένειας για την IgE (FcεR1), ανεξαρτήτως του αποπικού ή όχι χαρακτήρα του άσθμα-

τος<sup>10</sup>.

Το ενδογενές άσθμα λοιπόν μπορεί να συσχετίζεται με εξαρτώμενους από την IgE μηχανισμούς, παρά την απουσία ανιχνεύσιμης ειδικής IgE, όπως φαίνεται από τις αρνητικές RAST δοκιμασίες και τις αρνητικές δερματικές δοκιμασίες σε αυτούς τους ασθενείς. Το γεγονός ότι η ολική IgE του ορού είναι ελαφρώς αυξημένη σε μη αποπικούς ασθενείς με άσθμα σε σχέση με μη αποπικά φυσιολογικά άτομα ενισχύει αυτή την άποψη<sup>10</sup>.

Δύο μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι το άσθμα συσχετίζεται με την IgE, εφόσον οι συγκεντρώσεις αυτής προσαρμοσθούν στην ηλικία και στο φύλο και ότι η βρογχική υπεραντιδραστικότητα στα παιδιά συσχετίζεται με τα επίπεδα της IgE ακόμη και σε ασθενείς χωρίς ιστορικό αποπικής νόσου<sup>11,12</sup>.

Είναι λοιπόν πιθανόν ότι στο ενδογενές άσθμα υπάρχει κάποιος παράγοντας ακόμη μη αναγνωρίσιμος, όπως π.χ. ιοί, που πυροδοτεί IgE-εξαρτώμενους μηχανισμούς. Μήπως λοιπόν πρόκειται για την ίδια νόσο παθογενετικά, στο ένα άκρο της οποίας βρίσκεται το αποπικό άσθμα, αντανakλώντας την απάντηση σε περιβαλλοντικά αλλεργιογόνα (η οποία αναγνωρίζεται από το ιστορικό και την ειδική IgE), και στο άλλο άκρο το ενδογενές άσθμα, το οποίο θα μπορούσε να εκφράζει την απάντηση σε παράγοντες που δεν έχουν ακόμη αναγνωριστεί;

## 2. Η φαρμακολογική βάση του αντί-IgE αντισώματος rhuMAb-25

Μια νέα ανοσολογική θεραπευτική προσέγγιση του άσθματος στοχεύει στη μείωση της αλλεργικής αντίδρασης μέσω αναστολής της δράσης της IgE. Αυτό φαίνεται να επιτυγχάνεται με ένα ανασυνδυασμένο, ανθρωποποιημένο, μονοκλωνικό αντίσωμα, το rhuMAb-25. Το αντίσωμα αυτό δημιουργήθηκε από την ανοσοποίηση ποντικών με ανθρώπινη ανοσοσφαιρίνη IgE. Πρόκειται για ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που στοχεύει στην ειδική περιοχή Ce3 της IgE. Η περιοχή Ce3 συνδέεται με τους υψηλής συγγένειας υποδοχείς της IgE (υποδοχείς FcER1). Οι υποδοχείς αυτοί βρίσκονται στην επιφάνεια των μαστοκυττάρων και των βασεοφίλων. Έξι αμινοξέα-"κλειδιά" αυτού του υποδοχέα σχηματίζουν ένα έπαρμα στο πιο εκτεθειμένο τμήμα της IgE<sup>13</sup>. Το rhuMAb-25 δημιουργεί εκλεκτικά συμπλέγματα με την ελεύθερη (μη δεσμευμένη στα μαστοκύτταρα) IgE και

μάλιστα με τον υποδοχέα της Ce3. Με αυτό τον τρόπο αναστέλλει τη σύνδεσή της με τους υποδοχείς στην επιφάνεια των φλεγμονογόνων κυττάρων. Το rhuMAb-25 έχειδειχθεί ότι, εκτός από τη μείωση των επιπέδων της IgE, μεταβάλλει και τη λειτουργία των υποδοχέων της IgE, μειώνοντας την έκφρασή τους.

Προκειμένου το αρχικό αντίσωμα να είναι σε θέση να χρησιμοποιηθεί στους ανθρώπους, τα αμινοξέα των ανοσοσφαιρινών των ποντικών που ενέχονται στη δέσμευση της IgE ενσωματώθηκαν πάνω στη σταθερή περιοχή μιας ανθρώπινης IgG ανοσοσφαιρίνης. Έτσι δημιουργήθηκε μια ανοσοσφαιρίνη που είναι ανθρώπινη σε ποσοστό πάνω από 95%. Από τις διάφορες ανθρωποποιημένες μορφές, καλύτερη χαρακτηρίστηκε η έκδοση 25, εξ ου και η ονομασία rhuMAb-25 (recombinant humanized Monoclonal Antibody 25).

## 3. Σημαντικές κλινικές μελέτες για το μονοκλωνικό αντίσωμα rhuMAb-25

### 3.1. Μελέτες σε πειραματόζωα

Η ασφάλεια, η αποτελεσματικότητα καθώς και οι φαρμακοδυναμικές και φαρμακοκινητικές ιδιότητες του rhuMAb-E25 μελετήθηκαν πρώτα σε πιθήκους. Μετά από υποδόρια ή ενδοφλέβια χορήγηση σε πιθήκους, το αντίσωμα E25 απομακρύνεται αργά από την κυκλοφορία και έχει χρόνο ημίσειας ζωής 1-4 εβδομάδες<sup>14</sup>. Ο ρυθμός κάθαρσης ελαττώνεται με την αύξηση της δόσης και είναι αυξημένος σε πειραματόζωα με υψηλές αρχικές τιμές IgE. Αυτό οφείλεται στο ότι τα συμπλέγματα της IgE με το αντίσωμα E25 απομακρύνονται ταχύτερα από ό,τι το E25 μόνο του. Από την άλλη πλευρά, αποβάλλονται πιο αργά από ό,τι η ελεύθερη IgE, και αυτό το γεγονός σε συνάρτηση με το σχηματισμό των ίδιων των συμπλεγμάτων, ήταν ο λόγος που παρατηρήθηκαν αυξημένα επίπεδα της ολικής IgE του ορού (6-9 φορές περισσότερο) σε σχέση με την ημέρα έναρξης. Η ελεύθερη όμως IgE ελαττώθηκε και η πτώση των επιπέδων της ήταν δόσοεξαρτώμενη<sup>15</sup>.

Το μοριακό βάρος του συμπλέγματος IgE: E25 είναι από 400.000 έως 1.000.000. Δεν παρατηρήθηκε ειδική πρόσληψη των συμπλεγμάτων από όργανα ή ιστούς σε σχέση με το αίμα και δεν ανιχνεύθηκαν μεταβολίτες του φαρμάκου στο αίμα. Το ουροποιητικό σύστημα είναι η πρώτη οδός απέκκρισης του φαρμάκου. Ο αργός ρυθμός κάθαρσης των συμπλεγμάτων δεν έχει εμφανείς

τοξικές συνέπειες<sup>16</sup>.

Μελετήθηκαν επίσης η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα του E25 σε αλλεργικούς ασθενείς και πιθήκους. Το σημαντικό εύρημα σε αυτή τη μελέτη ήταν η παρατήρηση ότι το αντίσωμα E25 δεν συνδέεται με ανθρώπινα βασεόφιλα *in vitro*<sup>17</sup>. Τα ευαισθητοποιημένα βασεόφιλα με ειδική IgE στο ragweed ενεργοποιούνταν μόνο με το ειδικό ragweed αντιγόνο για την απελευθέρωση ισταμίνης και όχι με το E25. Κατά συνέπεια, το E25 δεν παρουσιάζει διασταυρούμενη αντίδραση με συμπλέγματα υποδοχέων και δεν προκαλεί απελευθέρωση μεσολαβητών. Επίσης, στην ίδια μελέτη, το αντίσωμα E25 βρέθηκε να αναστέλλει την αποκοκκίωση των μαστοκυττάρων, σε τμήματα ανθρώπινων πνευμόνων διαποτισμένων με ειδική IgE για το ragweed, μετά την πρόκληση με αντιγόνο. Το φάρμακο επίσης δεν προκάλεσε βλάβη στους νεφρούς και δεν ανιχνεύθηκαν αντισώματα έναντι του φαρμάκου μετά από 42 ημέρες.

Η χορήγηση του φαρμάκου σε δόση 75 mg/kg υποδορίως σε εγκύους πιθήκους δεν προκάλεσε τοξικότητα στο έμβρυο και τη μητέρα, ούτε τερατογένεση<sup>18</sup>. Σε εγκύους πιθήκους, η IgG μεταφέρεται από τη μητέρα στο έμβρυο, όχι όμως και η IgE (φραγμός του πλακούντα). Το υπό έρευνα φάρμακο ανιχνεύθηκε στον ορό που ελήφθη από τον ομφάλιο λώρο<sup>19</sup>.

### 3.2. Μελέτες σε ενήλικες με αλλεργικό άσθμα

Οι πρώτες μελέτες σχετικά με την ασφάλεια, την αποτελεσματικότητα, τις φαρμακοκινητικές και τις φαρμακοδυναμικές ιδιότητες του rhuMAb-E25 επιβεβαιώνουν τα ευρήματα που έχουν προαναφερθεί για τα πειραματόζωα.

Το φάρμακο χορηγούμενο σε ανθρώπους, υποδορίως ή ενδοφλεβίως, είναι καλά ανεκτό, δεν εμφανίζει ανεπιθύμητες ενέργειες, παρουσιάζει χρόνο ημίσειας ζωής 1-4 εβδομάδες, ο ρυθμός κάθαρσής του μειώνεται με την αύξηση της δόσης και ελαττώνει τα επίπεδα της ελεύθερης IgE με τρόπο δόσοεξαρτώμενο<sup>20</sup>. Η IgE του ορού παρέμεινε σε επίπεδα μη ανιχνεύσιμα από 2 έως 4 εβδομάδες στους ασθενείς που έλαβαν υψηλότερες δόσεις αντισώματος<sup>21</sup>, ο δε αριθμός των CD23+ Β λεμφοκυττάρων, θεωρούμενος ως δείκτης σύνθεσης της IgE, παρουσίασε ελάττωση<sup>21</sup>. Η παρατήρηση ότι η χορήγηση του rhuMAb-E25 δεν επηρεάζει καθόλου τις δερματικές αλλεργικές δοκιμασίες δείχνει ότι το αντίσωμα E25

δεν επιδρά στην IgE που είναι ήδη συνδεδεμένη στα δερματικά μαστοκύτταρα<sup>22</sup>.

Η ασφάλεια του rhuMAb-E25 μελετήθηκε σε 460 ασθενείς με μέτριο και σοβαρό άσθμα κατά τη διάρκεια ενός έτους. Ο συνολικός αριθμός των ανεπιθύμητων ενεργειών ήταν όμοιος στην ομάδα που έλαβε θεραπεία και στην ομάδα που έλαβε εικονικό φάρμακο. Οι συχνότερες παρενέργειες ήταν: κνησμός, κεφαλαλγία, ιγμορίτις και ιογενείς λοιμώξεις. Η πλειοψηφία αυτών ήταν ήπιας και μέτριας σοβαρότητας και δεν συσχετίστηκαν με το χορηγούμενο φάρμακο<sup>23</sup>.

Μελετήθηκε επίσης η επίδραση του E25 στην πρώιμη φάση του αλλεργικού άσθματος. Βρέθηκε ότι η μέση συγκέντρωση του αλλεργιογόνου που απαιτήθηκε για την πτώση της FEV<sub>1</sub> κατά 15% (PC15) αυξήθηκε σημαντικά στην ομάδα που έλαβε το αντίσωμα<sup>24</sup>. Η συγκέντρωση της μεταχολίνης που απαιτήθηκε για την πτώση της FEV<sub>1</sub> κατά 20% (PC20) παρουσίασε σημαντική μεταβολή μόνο κατά την όψιμη φάση της θεραπείας (76η ημέρα) και η ελεύθερη IgE του ορού των ασθενών ελαττώθηκε κατά 89%<sup>24</sup>.

Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με την εργασία των Fahy και συν., οι οποίοι μελέτησαν την επίδραση του αντί-IgE μονοκλωνικού αντισώματος στην πρώιμη και όψιμη αντίδραση μετά την εισπνοή αλλεργιογόνου, σε ασθενείς με αλλεργικό άσθμα<sup>25</sup>. Για τη μελέτη αυτή, επιλέχθηκαν 19 ασθενείς με ήπιο άσθμα, στους μισούς εκ των οποίων χορηγήθηκε rhuMAb-25 (5 mg/ml) σε δόση 0,5 mg/kg ενδοφλεβίως, σε 9 επισκέψεις, και στους άλλους μισούς εικονικό φάρμακο. Η συνολική διάρκεια της παρακολούθησης ήταν 9 εβδομάδες. Κατά την έναρξη και τη λήξη της μελέτης, οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε:

- δερματικές δοκιμασίες,
- δοκιμασία πρόκλησης με μεταχολίνη, με την οποία καθορίστηκε η βρογχική υπεραντιδραστικότητα,
- εισπνοές του αλλεργιογόνου έως ότου παρατηρήθηκε πτώση της FEV<sub>1</sub> στο 80% της αρχικής τιμής (ειδική βρογχική υπεραντιδραστικότητα) και τότε η FEV<sub>1</sub> μετρήθηκε στα 20, 30, 45, 60, 90, 120 λεπτά και ανά ώρα για τις επόμενες 7 ώρες,
- πρόκληση πτυέλων για μέτρηση ηωσινοφίλων,
- μέτρηση των επιπέδων της ολικής και της ελεύθερης IgE και του rhuMAb-25 στον ορό του αίματος των ασθενών.

Στην ομάδα των ασθενών που έλαβε rhuMAb-25 παρατηρήθηκαν:

- ελάττωση της μέσης μέγιστης πτώσης της FEV<sub>1</sub> κατά τη διάρκεια της πρώιμης φάσης της βρογχικής αντίδρασης στην εισπνοή του αλλεργιογόνου (από 30% σε 18,8%),
- αύξηση στη δόση του απαιτούμενου αλλεργιογόνου για να προκληθεί η πρώιμη αντίδραση,
- ελάττωση της μέσης, μέγιστης πτώσης της FEV<sub>1</sub> στην όψιμη φάση της βρογχικής αντίδρασης στο εισπνεόμενο αλλεργιογόνο (από 24% σε 9%),
- ελάττωση των επιπέδων της ελεύθερης IgE στον ορό των ασθενών που έλαβαν το δραστικό φάρμακο.

Το ποσοστό των ηωσινοφίλων στα πτύελα καθώς και στο αίμα παρουσίασε πτώση στους ασθενείς που έλαβαν το φάρμακο, αλλά η διαφορά τους από τους μάρτυρες δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στην αξιολόγηση των δερματικών δοκιμασιών πριν και μετά τη θεραπεία (χιλιοστά πομπού). Το φάρμακο ήταν καλώς ανεκτό και δεν αναπτύχθηκαν αντισώματα έναντι αυτού.

Οι ασθενείς που έλαβαν το rhuMAb-E25 ελάττωσαν τη χρήση των κορτικοειδών (εισπνεόμενων και χορηγούμενων από το στόμα) και των β2 διεγερτών και παρουσίασαν βελτίωση των συμπτωμάτων και ελάττωση των κρίσεων αλλεργικού άσθματος<sup>26,27</sup>.

Η δυνατότητα μείωσης της αντιασθματικής αγωγής και η επίδραση στην ποιότητα ζωής μελετήθηκε διεξοδικά. Η μελέτη των Milgrom και συν. συμπεριέλαβε 317 ασθενείς με μέτριο προς σοβαρό αλλεργικό άσθμα, ηλικίας 11 έως 50 ετών, που ελάμβαναν εισπνεόμενα ή από το στόμα κορτικοειδή ή και τα δύο<sup>28</sup>. Οι ασθενείς διαιρέθηκαν σε τρεις ομάδες εκ των οποίων η πρώτη έλαβε υψηλή δόση rhuMAb-25 (5,8 μg/kg/ng IgE/ml), η δεύτερη χαμηλή δόση (2,5 μg) και η τρίτη εικονικό φάρμακο. Η χορήγηση του φαρμάκου έγινε ενδοφλεβίως τις ημέρες 0 (μισή δόση), 4 (μισή δόση) και 7 (ολόκληρη δόση) και στη συνέχεια κάθε δύο εβδομάδες για συνολικά 20 εβδομάδες. Τις πρώτες 12 εβδομάδες, οι ασθενείς έλαμβαναν την ίδια αγωγή με την περίοδο πριν τη μελέτη και τις επόμενες 8 εβδομάδες έγινε προσπάθεια ελάττωσης της δόσης των φαρμάκων. Οι παράμετροι εκτίμησης των ασθενών ήταν:

- η βαρύτητα των συμπτωμάτων του άσθματος, με βάση μια κλίμακα 7 σημείων,

- η ποιότητα ζωής,
- ο αριθμός των κρίσεων,
- η χρήση β2-διεγερτών,
- ο βαθμός ελάττωσης της χορηγούμενης κορτιζόνης,
- οι σπироμετρικές τιμές.

Μετά από 12 εβδομάδες θεραπείας,

- ο μέσος βαθμός βαρύτητας μειώθηκε από 4 σε  $2,8 \pm 0,1$  για την ομάδα της υψηλής δόσης θεραπείας και την ομάδα της χαμηλής δόσης θεραπείας σε σύγκριση με  $3,1 \pm 0,1$  της ομάδας ελέγχου.
- Μετά από 20 εβδομάδες θεραπείας,
- ο μέσος δείκτης βαρύτητας μειώθηκε σε  $2,7 \pm 0,1$  στις ομάδες που έλαβαν το υπό δοκιμή φάρμακο σε σύγκριση με  $2,9 \pm 0,1$  στην ομάδα των μαρτύρων.

Επίσης περισσότερα άτομα στις δύο πρώτες ομάδες ήταν σε θέση να ελαττώσουν ή να διακόψουν την αγωγή με κορτικοειδή σε σχέση με τους μάρτυρες. Η ποιότητα ζωής βελτιώθηκε σημαντικά στις δύο πρώτες ομάδες και οι παροξύνσεις του άσθματος ήταν περισσότερες στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου. Η ελεύθερη IgE ελαττώθηκε στους ασθενείς που έλαβαν rhuMAb-25 σε ένα ποσοστό πάνω από 95% μετά από 20 εβδομάδες. Η θεραπεία ήταν καλώς ανεκτή και κανένας ασθενής δεν ανέπτυξε αντισώματα έναντι του rhuMAb-25.

Πιο πρόσφατη είναι η μελέτη των Busse και συν. σχετικά με την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια του E25 σε 525 ασθενείς με κορτικοεξαρτώμενο άσθμα, οι οποίοι ήταν συμπτωματικοί παρά τη λήψη αγωγής με εισπνεόμενη μεκλομεθαζόνη (420-840 μg την ημέρα) και σαλβουταμόλη (μέγιστη ημερήσια δόση 8 εισπνοές)<sup>29</sup>. Σε αυτούς τους ασθενείς χορηγήθηκε rhuMAb-E25 υποδορίως, σε εφάπαξ χορήγηση 150 έως 300 mg κάθε 4 εβδομάδες, ή 225 mg έως 375 mg κάθε 2 εβδομάδες αναλόγως του σωματικού βάρους και της ολικής IgE του ορού κατά την ημέρα έναρξης της μελέτης. Τα αποτελέσματα στην ομάδα που έλαβε το αντίσωμα ήταν τα εξής: Ελάττωση του μέσου αριθμού εξάρσεων και του ποσοστού των ασθενών με εξάρσεις, ελάττωση της δόσης των κορτικοειδών (κατά 75% έναντι 50% της ομάδας του εικονικού φαρμάκου,  $p < 0,001$ ), βελτίωση των συμπτωμάτων και της πνευμονικής λειτουργίας ( $p < 0,05$ ), ελάττωση της χρήσης της σαλβουταμόλης ως ανακουφιστικής θεραπείας. Η βελτίωση του άσθματος παρέμεινε σταθερή και στη φάση ελάττωσης των κορτικοειδών.

Οι μέχρι σήμερα μελέτες δείχνουν ότι η χορήγηση του rhuMAb-E25 ελαττώνει τα επίπεδα της ελεύθερης IgE του ορού, βελτιώνει τα συμπτώματα και την ποιότητα ζωής των ασθενών<sup>30-32</sup>, ελαττώνει τον αριθμό των κρίσεων<sup>31,32</sup>, καθυστερεί την εμφάνιση της πρώτης κρίσης<sup>34</sup>, ελαττώνει τη χρήση των β2 διεγερτών ως ανακουφιστική θεραπεία<sup>32</sup>, επιτρέπει τη μείωση των χορηγούμενων κορτικοειδών από το στόμα και των εισπνεόμενων σε όλα τα στάδια του αλλεργικού άσθματος<sup>32,33,35</sup>, με υψηλότερα ποσοστά επιτυχίας στο ήπιο και μέτριο άσθμα<sup>36</sup>.

Σε πολυκεντρική μελέτη σε 9 χώρες, το 66,2% των ερευνητών χαρακτήρισαν την αγωγή με αντί-IgE ως εξαιρετική (πλήρης έλεγχος του άσθματος) ή καλή (σημαντική βελτίωση του άσθματος), σε σύγκριση με μόνο 34,8% για τη θεραπεία με εικονικό φάρμακο<sup>37</sup>. Στην ίδια μελέτη, το 70% των ασθενών με άσθμα που έλαβαν αγωγή με αντί-IgE χαρακτήρισαν την αγωγή ως εξαιρετική ή καλή σε σύγκριση με το 42,6% της ομάδας του εικονικού φαρμάκου (Πίνακας 1).

### 3.3. Μελέτες σε ενήλικες με αλλεργική ρινίτιδα

Τα επίπεδα της ελεύθερης IgE συσχετίζονται με τα ρινικά συμπτώματα των ασθενών με αλλεργική ρινίτιδα (παρμός, καταρροή, ρινική συμφόρηση, κνησμός). Συνεπώς, η μείωση της ελεύθερης IgE αναμένεται να έχει ευεργετικά αποτελέσματα στην κλινική εικόνα της νόσου.

Το rhuMAb-E25 μελετήθηκε για την αποτελεσματικότητά του στην προφύλαξη από την αλλεργική ρινίτιδα στο ragweed, σε 240 ασθενείς. Ο χρόνος ημίσειας ζωής του φαρμάκου ήταν 2.9 εβδομάδες και οι συγκεντρώσεις του παρέμειναν σταθερές επί 14 έως 28 ημέρες. Οι φαρμακοκινητικές παράμετροι δεν διέφεραν μεταξύ ενδοφλέβιας και υποδόριας χορήγησης. Από τη μελέτη προέκυψε ότι το αντίσωμα E25 ελαττώνει τα επίπεδα της ελεύθερης IgE με τρόπο δόσοεξααρτώμενο και εξαρτώμενο από την IgE της ημέρας έναρξης, καθώς και ότι τα συμπτώματα συσχετίζονται με τα επίπεδα της ειδικής έναντι του ragweed IgE. Οι παρενέργειες που παρατηρήθηκαν ήταν ήπιες και δεν υπήρχαν διαφορές από την ομάδα του εικονικού φαρμάκου<sup>38</sup>.

Σε άλλη μελέτη, οι ασθενείς που έλαβαν 300 mg, 150 mg, 50 mg ή εικονικό φάρμακο παρουσίασαν σε ποσοστά 63%, 33%, 4% και 3% αντίστοιχα, μείωση των τιμών της ελεύθερης IgE του ορού σε επίπεδα κατώτερα των 25 ng/ml<sup>39</sup>.

Σε μελέτη που αφορούσε την ασφάλεια της χορήγησης του rhuMAb-E25 στην εποχιακή αλλεργική ρινίτιδα, το φάρμακο χορηγήθηκε σε 287 ασθενείς και η πλειοψηφία των ανεπιθύμητων ενεργειών (91%) ήταν ήπιες ή μέτριες. Ως συνηθέστερες ανεπιθύμητες ενέργειες κατεγράφησαν η κεφαλαλγία και λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού. Ένα μικρό ποσοστό των παρενεργειών αποδόθηκε στο φάρμακο. Δεν ανευρέθησαν αντι-

Πίνακας 1. Αποτελέσματα μελετών σε ενήλικες ασθενείς με αλλεργικό άσθμα

| Αριθμός<br>εργασίας | PC15 | PC20 | IgE<br>ελεύθ. | PEFR | Συμπτώματα | Χρήση<br>β2 διεγ. | CS*<br>εισπν. | CS*<br>per os | Κρίσεις | Ποιότητα<br>ζωής |
|---------------------|------|------|---------------|------|------------|-------------------|---------------|---------------|---------|------------------|
| 22                  | ↑    | ↑    | ↓             |      |            |                   |               |               |         |                  |
| 23                  | ↑    |      | ↓             |      |            |                   |               |               |         |                  |
| 24                  |      |      |               |      | ↓          | ↓                 | ↓             | ↓             | ↓       |                  |
| 25                  |      |      | ↓             | ↑    | ↓          | ↓                 |               |               |         |                  |
| 27                  |      |      |               |      | ↓          | ↓                 | ↓             |               | ↓       |                  |
| 28                  |      |      |               |      | ↓          | ↓                 |               |               |         |                  |
| 34                  |      |      |               |      |            |                   | ↓             |               |         |                  |
| 29                  |      |      |               |      | ↓          |                   |               |               |         | ↑                |
| 32                  |      |      |               |      |            |                   | ↓             |               | ↓       |                  |
| 30                  |      |      |               |      | ↓          |                   |               |               |         | ↑                |
| 37                  |      |      |               |      |            |                   |               |               | ↓       |                  |
| 31                  |      |      |               |      | ↓          | ↓                 | ↓             |               | ↓       |                  |
| 26                  |      |      | ↓             |      | v          |                   | ↓             | ↓             | ↓       | ↑                |

\*: κορτικοστεροειδή

σώματα έναντι του φαρμάκου προ και μετά τη θεραπεία. Στο σημείο έγχυσης παρατηρήθηκε σπανίως ένας ήπιος ερεθισμός<sup>40</sup>.

Το E25 βρέθηκε ότι ελαττώνει την ελεύθερη IgE του ορού πάνω από 98% σε σχέση με την αρχική τιμή της, καταστέλλει σημαντικά την αντίδραση στις δερματικές δοκιμασίες, μπορεί να χορηγηθεί με ασφάλεια για μεγάλα χρονικά διαστήματα (έως 322 ημέρες) και σε υψηλές δόσεις (0,015 mg/kg/IU/ml)<sup>41</sup>.

Οι Corpen και συν. μελέτησαν την επίδραση του rhuMAb-E25 στην αντίδραση του ρινικού βλεννογόνου στα αλλεργιογόνα και τη σύνθεση της IgE σε ασθενείς με χρόνια αλλεργική ρινίτιδα. Οι ερευνητές βρήκαν ότι το αντισώμα E25 ελαττώνει την ελεύθερη IgE του ορού <15 ng/ml, μειώνει τα ρινικά συμπτώματα κατά 63% ( $p < 0,05$ ) και ελαττώνει την ειδική έναντι των ακάρεων IgE<sup>42</sup>. Ανάλογη μελέτη σε ασθενείς με εποχιακή αλλεργική ρινίτιδα από γύρη της σημύδας βρήκε ότι το E25 βελτιώνει τα ρινικά και τα οφθαλμικά συμπτώματα ( $p < 0,001$  και  $p = 0,03$ , αντίστοιχα). Οι ασθενείς που έλαβαν το φάρμακο χρειάστηκαν επιπρόσθετη θεραπεία για την αλλεργική τους ρινίτιδα σε ποσοστό 23% των ημερών μελέτης του E25 σε αντιδιαστολή με το 45% στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου<sup>43</sup>. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν και με άλλες σχετικές μελέτες<sup>44,45</sup>.

Σχετικά με την ποιότητα ζωής των ασθενών με εποχιακή αλλεργική ρινίτιδα που έλαβαν θεραπεία με rhuMAb-E25, αναφέρονται δύο μεγάλες μελέτες σε 435 ασθενείς η καθεμιά<sup>46,47</sup>. Οι ασθενείς έλαβαν διαφορετικές δόσεις φαρμάκου (300 mg, 150 mg, 50 mg) ή εικονικό φάρμακο (η δόση καθορίστηκε αναλόγως της τιμής της IgE την ημέρα έναρξης), κάθε 3 ή 4 εβδομάδες. Οι ασθενείς που έλαβαν υψηλές δόσεις φαρμάκου (150 mg

ή 300 mg) παρουσίασαν βελτίωση της ποιότητας ζωής σε σχέση με αυτούς που έλαβαν 50 mg ή εικονικό φάρμακο ( $p < 0,025$ ) στους τομείς των καθημερινών δραστηριοτήτων, του ύπνου, των ρινικών και οφθαλμικών συμπτωμάτων και των ψυχολογικών επιπτώσεων της ρινίτιδας (Πίνακας 2).

### 3.4. Μελέτες σε παιδιά με αλλεργικό άσθμα

Η υποδόρια χορήγηση του rhuMAb-E25 σε παιδιά και εφήβους με αλλεργικό άσθμα συνδυάστηκε με βραδεία απορρόφηση του φαρμάκου κατά τη διάρκεια αρκετών ημερών και παρατεταμένο χρόνο αποβολής αρκετών εβδομάδων. Η ελεύθερη IgE του ορού μειώθηκε κατά τρόπο δόσοεξαρτώμενο. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες ήταν ήπιες ή μέτριες (λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού) και ίδιες με την ομάδα του εικονικού φαρμάκου<sup>48</sup>.

Σε ειδική μελέτη, οι ανεπιθύμητες ενέργειες του φαρμάκου στα παιδιά βρέθηκε ότι είναι σπάνιες (6,2%) και όμοιες με την ομάδα του εικονικού φαρμάκου<sup>49</sup>.

Σε 334 παιδιά με κορτικοεξαρτώμενο αλλεργικό άσθμα, τα οποία ήδη ελάμβαναν αγωγή με μπεκλομεθαζόνη και σαλβουταμόλη, μελετήθηκαν η αποτελεσματικότητα και η ασφάλεια του αντισώματος E25. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι το E25 ελάττωσε τη χρήση των κορτικοειδών ( $p = 0,001$ ), τη χρήση της σαλβουταμόλης, το μέσο αριθμό των κρίσεων και το ποσοστό των ασθενών που παρουσίασαν κρίσεις<sup>50</sup>.

Παιδιά με μέτριο προς σοβαρό άσθμα που έλαβαν αγωγή με αντί-IgE αντισώματα πέτυχαν υποδιπλασιασμό της μέσης δόσης των εισπνεόμενων κορτικοειδών σε σύγκριση με την ομάδα του εικονικού φαρμάκου

Πίνακας 2. Αποτελέσματα μελετών σε ενήλικες ασθενείς με αλλεργική ρινίτιδα

| Αριθμός εργασίας | Ελεύθερη IgE ορού | Ρινικά συμπτώματα | Οφθαλμικά συμπτώματα | Έκτακτη αγωγή με αντιϊσταμινικά | Ποιότητα ζωής |
|------------------|-------------------|-------------------|----------------------|---------------------------------|---------------|
| 38               | ↓                 | ↓                 |                      |                                 |               |
| 41               | ↓                 | ↓                 |                      |                                 |               |
| 42               |                   | ↓                 | ↓                    | ↓                               |               |
| 43               |                   | ↓ $p < 0,001$     | ↓ $p < 0,031$        | ↓                               |               |
| 44               |                   | ↓                 | ↓                    | ↓                               |               |
| 45               |                   |                   |                      |                                 | ↑ $p = 0,025$ |
| 46               |                   |                   |                      |                                 | ↑ $p = 0,025$ |

( $p=0,001$ ). Κατά τη φάση μείωσης των στεροειδών, ένα ποσοστό 55% των παιδιών που λάμβαναν αντί-IgE αντισώματα ήταν σε θέση να διακόψουν πλήρως τα εισπνεόμενα κορτικοειδή<sup>51</sup>.

Τα παιδιά που έλαβαν rhuMAb-E25 παρουσίασαν λιγότερες σοβαρές κρίσεις άσθματος που απαίτησαν νοσηλεία σε νοσοκομείο ή χαρακτηρίστηκαν ως απειλητικές για τη ζωή, καθώς και λιγότερες ήπιες κρίσεις από αυτές που αντιμετωπίζονται με διπλασιασμό της δόσης των εισπνεομένων κορτικοειδών ή προσθήκη στην αγωγή κορτικοειδών από το στόμα<sup>52</sup>.

Η αγωγή με rhuMAb-E25 βελτίωσε και την ποιότητα ζωής των παιδιών, ειδικά στους τομείς των δραστηριοτήτων και των συμπτωμάτων<sup>53</sup>. Τα συμπεράσματα αυτής της εργασίας συμφωνούν με τα αποτελέσματα μίας πολυκεντρικής μελέτης στην οποία 85% των παιδιών με μέτριο προς σοβαρό άσθμα και 76% των ιατρών χαρακτήρισαν την αγωγή με αντί-IgE ως αρίστη (πλήρης έλεγχος της νόσου) ή καλή (σημαντική βελτίωση) σε σύγκριση με το 49% των ιατρών για την ομάδα του εικονικού φαρμάκου ( $p<0,001$ )<sup>54</sup>.

### 3.5. Ασθενείς με ενδογενές άσθμα

Το E25 μελετήθηκε σε ενήλικες με μέτριο προς σοβαρό "ενδογενές" άσθμα. Το φάρμακο απεδείχθη ασφαλές, δεν προκάλεσε ανεπιθύμητες ενέργειες και παρουσίασε τη μεγαλύτερη συγκέντρωσή του στο αίμα 3-14 ημέρες μετά τη χορήγησή του. Τα επίπεδα της ελεύθερης IgE του ορού μειώθηκαν στο 60% (σε σχέση με την ημέρα έναρξης) στην ομάδα που έλαβε το φάρμακο υποδορίως και στο 20% στην ομάδα που το έλαβε ενδοφλεβίως. Όταν τα επίπεδα του rhuMAb-E25 ήταν τουλάχιστον 10 φορές υψηλότερα από την ολική IgE, η ελεύθερη IgE του ορού παρέμενε σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα, δηλαδή κατώτερα των 24 ng/ml<sup>55</sup>.

Η αντιφλεγμονώδης δράση του E25 μελετήθηκε σε

525 ασθενείς με μέτριο και σοβαρό άσθμα. Η μελέτη είχε ως κριτήριο τα κυκλοφορούντα ηωσινόφιλα στο αίμα των ασθενών. Το συμπέρασμα ήταν ότι το E25 ελαττώνει περαιτέρω τα ηωσινόφιλα όταν προστίθεται στα κορτικοειδή. Ενώ η μείωση των κορτικοειδών οδήγησε σε αύξηση των ηωσινοφίλων στην ομάδα που λάμβανε επίσης και εικονικό φάρμακο, οι ασθενείς που έλαβαν το E25, παρά τη μείωση των κορτικοειδών, διατήρησαν τα ηωσινόφιλα σε χαμηλά επίπεδα<sup>56</sup>.

## 4. Συμπέρασμα

Η χορήγηση του μονοκλωνικού αντισώματος rhuMAb-25 φαίνεται ότι επηρεάζει θεραπευτικά την πορεία του χρόνιου, μέτριου και σοβαρού αλλεργικού άσθματος. Τα δημοσιευμένα αποτελέσματα δικαιολογούν το ενδιαφέρον του ιατρικού κόσμου, αλλά όχι τον ενθουσιασμό. Οι ακριβείς ενδείξεις και η δοσολογία του φαρμάκου αναμένεται να διευκρινισθούν με νεότερες μελέτες.

Η αποτελεσματικότητα της αγωγής αυτής σε ασθενείς με ενδογενές άσθμα παραμένει αδιευκρίνιστη. Οι υπάρχουσες ερευνητικές ενδείξεις υπέρ της συσχέτισης των μηχανισμών του ενδογενούς άσθματος με τοπική παραγωγή ανοσοσφαιρινών IgE δεν αρκούν για να τεκμηριώσουν την αγωγή της νόσου με μονοκλωνικά αντισώματα rhuMAb-25. Τέλος, παραμένει προβληματική η οδός χορήγησης του φαρμάκου, καθώς οι συχνές ενδοφλέβιες εγχύσεις και η αξιολόγηση του θεραπευτικού αποτελέσματος απαιτούν νοσοκομειακό περιβάλλον.

Η έρευνα και η θεραπευτική παρέμβαση στους μηχανισμούς του άσθματος που εξαρτώνται από τις ανοσοσφαιρίνες IgE συνιστά μια νέα προσέγγιση στη νόσο, με συμπληρωματικό χαρακτήρα σε σχέση με την καθιερωμένη αντασθματική αγωγή.

## SUMMARY

### *RhuMAb-25 monoclonal antibody in the treatment of asthma*

*Ph. Vlastos, M. Michailidou*

*Monoclonal antibodies against IgE immunoglobulins are a novel class of antiasthmatic agents. The use of these agents is based upon the evidence that IgE is involved in the mechanisms of airways inflammation and, consequently, in clinical symptoms of asthma. Newly published data indicate a*



*pathophysiologic role of locally released IgE in the airways of non allergic asthmatic patients. RhuM-Ab-25 monoclonal antibodies are binded to the high affinity receptors of IgE, on the membrane of mast cells and basophils. Therefore, they block the IgE-mediated mechanisms of asthmatic airways inflammation. They decrease the levels of free IgE, as well as the expression of IgE receptors on pro-inflammatory cells. The up today clinical studies of the drug indicate a good therapeutic potency primarily in patients with allergic asthma, either adults or children. Pneumon 2001, 14(3):206-216.*

**Key words:** IgE, eosinophils, airways inflammation, asthma

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Menz G, Ying S, Dusham SR, et al. Molecular concepts of IgE-initiated inflammation in atopic and nonatopic asthma. *Allergy* 1998, 53:15-21.
2. Paul A, Corris, John H. Dark. Aetiology of asthma: lessons from lung transplantation. *Lancet* 1993, 341:1369-71.
3. Stephen R. Durham, Hannah J. Gould, Qutayba A. Hamid. Local IgE production in nasal allergy. *Int Arch Allergy Immunol* 1997, 113:128-130.
4. Zurcher AW, Derer T, Lang AB, Stadler BM. Culture and IgE synthesis of nasal B cells. *Int Arch Allergy Immunol* 1996, 111:77-82.
5. Pawankar R, Okuda M, Yssel H, et al. Nasal mast cells in perennial allergic rhinitis exhibit increased expression of the FcεRI, CD40L, IL-4 and IL-13, and can induce IgE synthesis in B cells. *J Clin Invest* 1997, 99:1492-1499.
6. Humbert M, Durham SR, Ying S, et al. IL-4 and IL-5 mRNA and protein in bronchial biopsies from patients with atopic and nonatopic asthma: Evidence against "intrinsic" asthma being a distinct immunopathologic entity. *Am J Respir Crit Care Med* 1996, 154:1497-1504.
7. Yasruel Z, Humbert M, Kotsimbos TC, et al. Membrane-bound and soluble αIL-5 receptor mRNA in the bronchial mucosa of atopic and nonatopic asthmatics. *Am J Respir Crit Care Med* 1997, 155:1413-1418.
8. Ying S, Meng Q, Zeibecoglou K, et al. Eosinophil chemotactic chemokines (Eotaxin, Eotaxin-2, RANTES, Monocyte Chemoattractant Protein-3 (MCP-3), and MCP-4), and C-C Chemokine Receptor 3 expression in bronchial biopsies from atopic and nonatopic (intrinsic) asthmatics. *The Journal of Immunology* 1999, 163:6321-6329.
9. Ying S, Humbert M, Barkans J, et al. Expression of IL-4 and IL-5 mRNA and protein product by CD4+ and CD8+ T cells, eosinophils, and mast cells in bronchial biopsies obtained from atopic and nonatopic (intrinsic) asthmatics. *The Journal of Immunology* 1997, 158:3539-3544.
10. Humbert M, Grant JA, Taborda-Barata L, et al. High-affinity IgE receptor (FcεRI)-bearing cells in bronchial biopsies from atopic and nonatopic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996, 153:1931-7.
11. Burrows B, et al. Association of asthma with serum IgE levels and skin-test reactivity to allergens. *N Eng J Med* 1989, 320:271-277.
12. Sears MR, Burrows B, et al. Relation between airway responsiveness and serum IgE levels in children with asthma and in apparently normal children. *N Eng J Med* 1991, 325:841-846.
13. Jardieu PM, Fick RB Jr. IgE inhibition as a therapy for allergic disease. *Int Arch Allergy Immunol* 1999, 118:112-5.
14. Schoenhoff M, Lin Y, Froehlich J, et al. Pharmaceutical Research 12 (9, Suppl.), p. S-411 (Abs. PPDM 8340), 1995. Annual meeting of the American Association of Pharmaceutical Scientists, Miami Beach, FL (USA), 5-9 November, 1995.
15. Schoenhoff M, Bares D, Ruppel J, et al. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 95 (1, Part 2), p. 356 (Abs. 864), 1995. 51th Annual Meeting, "Fifty-second Anniversary of the American Academy of Allergy and Immunology", New York (USA), 24 February - 1 March, 1995.
16. Fox JA, Hotelling TE, Reitz BL, et al. ISSX Proceedings 8, p. 39 (Abs.-), 1995. 4th ISSX (International Society for the Study of Xenobiotics) Meeting, Seattle, WA (USA), 27-31 August 1995.
17. Shields RL, Whether WR, Zioncheck K, et al. *International Archives of Allergy and Immunology* 107, p. 308-312, 1995.
18. Gross MC, Marion M, Ruppel J, et al. *Teratology* 57, p. 240 (Abs. P69), 1998. 38th Annual Meeting of the Teratology Society and the 22nd Annual Meeting of the Neurobehavioral Teratology Society and the 11th International Conference of the Organization of Teratology Information, San Diego (USA), 19-25, 1998.

19. Leddy CA., Bussiere JL, Gross MC, et al. Teratology 57, p. 244 (Abs. P85), 1998. 38TH Annual Meeting of the Teratology Society and the 22nd Annual Meeting of the Neurobehavioral Teratology Society and the 11th International Conference of the Organization of Teratology Information, San Diego (USA), 19-25, 1998.
20. Froehlich J, Schoenhoff M, Tremblay T, et al. Clinical Pharmacology and Therapeutics 57, p. 162 (Abs. OI-A-2), 1995. 96th Annual Meeting of the American Society for Clinical Pharmacology and Therapeutics, San Diego (USA), March 15-17, 1995.
21. Froehlich J, Schoenhoff M, Jardieu P, et al. Journal of Allergy and Clinical Immunology 95 (1, part 2), p. 356 (Abs.863), 1995. 51st Annual Meeting, New York (USA), 24 February-1 March, 1995.
22. Demoly P, Bousquet J. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 155, p. 1825-1827, 1997.
23. Berger W, Corren J, Lanier R, et al. Long-term safety and tolerability of rhuMab-E25- A double-blind, placebo-controlled study. ACAAI 2000.
24. Boulet LP, Chapman KR, Cote J, et al. Am J Respir Crit Care Med 1997, 155, p. 1835-1840.
25. Fahy JV, Fleming HE, Wong HH, et al. The effect of an anti-IgE monoclonal antibody on the early- and late-phase responses to allergen inhalation in asthmatic subjects. Am J Respir Crit Care Med 1997, 155: 1828-34.
26. Metzger WJ, Fick RB. J Allergy Clin Immunol 101 (1, Part 2), p. S231 (Abs. 960), 1998 54th Annual Meeting of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology, Washington, DC (USA), 13-18 March, 1998.
27. Fick RB, Simon SJ, Su JQ, et al. Annals of Allergy, Asthma & Immunology 80, p. 80 (Abs. 8), 1998. Annual Meeting of the American College of Allergy, Asthma and Immunology, San Diego (USA), 7-12 November, 1997.
28. Milgrom H, Fick RB Jr, Su JQ, et al. Treatment of allergic asthma with monoclonal anti-IgE antibody. N Engl J Med 1999, 341:1966-73.
29. Busse W, Corren J, Lanier BQ, et al. RhuMab-E25 (E25), a novel therapy for the treatment of asthma. J Allergy Clin Immunol 105 (12), p. 1246 (Abs. 5), 2000. 56th Annual Meeting of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology, San Diego (USA), 3-8 March 2000.
30. Kishiyama JL, Lanier BQ, Corren J, et al. RhuMab-25 (E25) improves asthma-specific quality of life in patients with allergic asthma. ICACI 2000.
31. Buhl R, Kunkel J, Soler J, et al. RhuMab-25 improves asthma-specific quality of life in patients with allergic asthma. ERS 2000.
32. Soler M, Matz J, Townley RG, et al. RhuMab-E25, a novel therapy for the treatment of allergic asthma. ERS Congress, Florence 2000.
33. Soler M. Kantonsspital, Bern. Decreased exacerbations and steroid use during rhuMab-E25 (E25) treatment of moderate to severe asthma. ICACI 2000.
34. Nelson H, Corren J, Lanier R, et al. Increased time to first asthma exacerbation seen in rhuMab-25-treated patients compared with placebo. ACAAI 2000.
35. Metzger J. Anti-IgE reduces the requirement for inhaled corticosteroid treatment in patients with moderate-severe asthma. ACCP 2000.
36. Lanier R, Townley R, Metz J, et al. Effect of severity of disease on the efficacy of rhuMab-25-results from two double-blind, placebo-controlled studies. ACAAI 2000.
37. Tillinghast JP. Physician and patient global evaluation of an anti IgE antibody in patients with moderate to severe asthma. ACCP 2000.
38. Casale TB, Bernstein IL, Busse WW, et al. J Allergy Clin Immunol 1997, 100, 110-121.
39. Casale TB, Racine A, Sallas W, et al. Relationship between the clinical efficacy of rhuMab-E25 (E25) and serum free IgE in seasonal allergic rhinitis. ACAAI 2000.
40. Casale TB, Condemi J, Bernstein JA, et al. Safety of readministration of rhuMab-E25 in seasonal allergic rhinitis. Annals of Allergy, Asthma & Immunology 84, 125 (Abs. 70), 2000.
41. Togias A, Corren J, Shapiro G, et al. J Allergy Clin Immunol 101 (1, Part 2), p. S171 (Abs. 706), 1998. 54th Annual Meeting of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology, Washington (USA), 13-18 March, 1998.
42. Corren J, Diaz Sanchez D, Reimann J, et al. J Allergy Clin Immunol 101 (1, Part 2), p. S105 (Abs. 436), 1998. 54th Annual Meeting of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology, Washington (USA), 13-18 March, 1998.
43. Sandstroem T, Aedelroth E, Aasand OG, et al. Allergy 54 (Suppl. 50), p.7 (Abs. 011), 1999. 20th Nordic Congress of Allergology, Oslo (Norway), 13-16 May, 1999.
44. Adelroth E, Rak S, Haahtela T, et al. Anti-IgE monoclonal antibody rhuMab-E25 in safe and effective in treatment of seasonal (birch pollen) allergic rhinitis. ICACI 2000.
45. LaForce C, Casale TB, Condemi J, et al. RhuMab-E25 (E25) provides dose-dependent improvement of symptoms in patients with seasonal allergic rhinitis. ICACI 2000.

46. Nayak A, LaForce C, Rowe M, et al. RhuMab-E25 improves quality of life in patients with seasonal allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 103 (1, Part 2) (12), p.S49 (Abs. 185), 1999. 55th Annual Meeting of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology, Orlando (USA), 26 February-3 March 3, 1999.
47. Fahy JV. Reducing IgE levels as a strategy for the treatment of asthma. *Clinical and Experimental Allergy* 30 (Suppl. 1), p. 16-21, 2000.
48. Bisberg D, Froehlich J, Schoenhoff M, et al. Pediatric Research 39 (4, Part 2), p. 9A (Abs. 39), 1996. Joint Meeting of the American Pediatric Society and the Society for Pediatric Research, Washington (USA), 6-10 May, 1996.
49. Berger W. Safety of anti-IgE monoclonal antibody rhuMab-E25 (E250 in treatment of children with allergic asthma. ICACI 2000.
50. Milgrom H, Nayak A, Berger W, et al. The efficacy and safety of rhuMab-E25 (E25) in children with allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 105 (3), p. 1246 (Abs. 4), 2000. 56th Annual Meeting of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology, San Diego, CA (USA), 3-8 March 2000.
51. Bernstein J. Anti-IgE reduces the requirement for inhaled corticosteroid treatment in children with moderate-severe asthma. ACCP 2000.
52. Buhl R, Soler M, Fox H, et al. Recombinant humanized monoclonal antibody (rhuMab-E25) in the prevention of serious asthma exacerbations. ERS Congress, Florence 2000.
53. Nayak A, Milgrom H, Berger W, et al. RhuMab-E25 (E25) improves quality of life (QOL) in children with allergic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 161 (3, Suppl.) (3), p. A504 (Abs. -), 2000. American Thoracic Society International Conference, Toronto (Canada), 5-10 May 2000.
54. Lisberg E. Global evaluation of anti IgE by pediatric patients with moderate to severe asthma. ACCP 2000.
55. Corren J, Froehlich J, Schoenhoff M, et al. *J Allergy Clin Immunol* 97 (1, Part 3), p. 245 (Abs. 251), 1996. 52th Annual Meeting of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology, New Orleans, LA (USA), 15-20 March, 1996.
56. Fick RB, Rohane RW, Gupta N, et al. Anti-inflammatory effects of a recombinant monoclonal anti-IgE (E25) in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 161 (3, Suppl.), p. A199 (Abs.-), 2000. American Thoracic Society International Conference, Toronto (Canada), 5-10 May 2000.

## *Η έκφραση της εοταξίνης στα προκλητά πτύελα ατοπικών και μη ατοπικών ασθματικών ασθενών*

**K. Ζεϊμπέκογλου<sup>1</sup>,  
S. Ying<sup>1</sup>,  
N. Γεωργιάτου<sup>2</sup>,  
M. Γκάγκα<sup>3</sup>,  
D.S. Robinson<sup>1</sup>,  
A.B. Kay<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Τμήμα Αλλεργίας και Κλινικής Ανοσολογίας, National Heart and Lung Institute, Imperial College, Λονδίνο,  
<sup>2</sup>5<sup>η</sup> Πνευμονολογική Κλινική Νοσοκομείου Νοσημάτων Θώρακος Αθηνών "Η Σωτηρία", <sup>3</sup>Πνευμονολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών

**Λέξεις κλειδιά:** ατοπία, βρογχικό άσθμα, προκλητά πτύελα

Το άσθμα είναι πολυπαραγοντικό νόσημα που οφείλεται σε πολλά αίτια, τόσο αλλεργικά (εξωγενή) όσο και μη αλλεργικά (ενδογενή). Η διήθηση ωστόσο του βρογχικού βλεννογόνου από ηωσινόφιλα αποτελεί κοινό χαρακτηριστικό όλων των τύπων της νόσου<sup>1,2</sup>. Αυτή η εκλεκτική επιστράτευση των ηωσινοφίλων οφείλεται σ' ένα ευρύ δίκτυο χημειοτακτικών ουσιών, των C-C χημειοκινών, το οποίο σε συνεργασία με άλλες κυταροκίνες, συμβάλλει στη βλάβη του βρογχικού επιθηλίου<sup>3,4</sup>. Η εοταξίνη είναι μια C-C χημειοκίνη με ισχυρή εκλεκτική δράση για τα ηωσινόφιλα<sup>5</sup>, και αρκετές μελέτες την έχουν ενοχοποιήσει στην παθογένεση της αλλεργικής φλεγμονής. Για παράδειγμα, αυξημένη παραγωγή εοταξίνης έχει βρεθεί στο βρογχικό βλεννογόνο αλλεργικών ασθματικών<sup>6,7</sup>, όπως και στις βιοψίες ρινικού βλεννογόνου σε άτομα με αλλεργική ρινίτιδα<sup>8</sup>.

Η παρούσα εργασία είχε σκοπό να μελετήσει την έκφραση της εοταξίνης στα προκλητά πτύελα αλλεργικών και μη αλλεργικών ασθματικών, και να τη συγκρίνει με τα πτύελα αλλεργικών ατόμων χωρίς άσθμα (ρινιτιδικοί), καθώς και με τα πτύελα ατόμων χωρίς άσθμα και αλλεργία.

### **ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

#### **Άτομα που μελετήθηκαν**

Έντεκα αλλεργικοί ασθματικοί (AA=11), 10 μη αλλεργικοί ασθματικοί (NAA=10), 10 ρινιτιδικοί (AC=10) και 12 φυσιολογικοί (NC=12) συμμετείχαν στη μελέτη. Όλα τα άτομα προήλθαν από το Νοσοκομείο Royal Brompton του Λονδίνου, εκτός από πέντε ενδογενείς ασθματικούς που επιστρατεύτηκαν από το Νοσοκομείο Νοσημάτων Θώρακος Αθηνών "Σωτηρία". Όλοι οι ασθματικοί ασθενείς είχαν μακροχρόνιο ιστορικό άσθματος, με βρογχική αναστρεψιμότητα ( $FEV_1 > 15\%$  μετά εισπνοή β2-διεγέρτη), και ευαισθησία στην ισταμίνη ( $PC20 < 6\text{mg/ml}$ ). Οι αλλεργικοί ασθενείς είχαν θετική τουλάχιστον μια δερματική δοκιμασία σ' ένα από τα συνήθη τοπικά αλλεργιογόνα. Τα μη αλλεργικά άτομα είχαν αρνητικά δερματικά τεστ σε πληθώρα αλλεργιογόνων, φυσιολογικά επίπε-

δα ολικής ανοσοσφαιρίνης E (IgE) στον ορό (0-150 IU) και αρνητικά RAST. Κανένα από τα άτομα που συμμετείχαν δεν ήταν καπνιστής και δεν είχε λάβει εισπνεόμενα κορτικοειδή (για τουλάχιστον 2 εβδομάδες) ή κορτικοειδή από το στόμα (για τουλάχιστον 2 μήνες) από την εισαγωγή του στη μελέτη.

### Πρόκληση και επεξεργασία πτυέλων

Η τεχνική της πρόκλησης πτυέλων βασίστηκε στο πρωτόκολλο του Pin και συν.<sup>9</sup> Οι ασθενείς εισέπνευσαν σταδιακά αυξανόμενες συγκεντρώσεις υπέρτονου διαλύματος (3%, 4%, 5%) από νεφελοποιητή χαμηλής παροχής (Sonix 2000). Τα διαχωρισμένα από το σίελο πτύελα επεξεργάστηκαν με διάλυμα διθειοθειετριόλης (DTT 0,1%). Μετά ανάδευση 15 λεπτών προστέθηκε ίσος όγκος ισότονου φωσφορικού διαλύματος (D-PBS) που φιλτραρίστηκε και φυγοκεντρήθηκε.

Στο υπερκείμενο του δείγματος μετρήθηκε η ηωσινοφιλική κατιονική πρωτεΐνη (ECP), ενώ από το κυτταρικό ίζημα παρασκευάστηκαν πλακίδια που φυλάχθηκαν στους -80 °C για περαιτέρω ανάλυση με τη μέθοδο του *in situ* υβριδισμού και της ανοσοϊστοχημείας.

Η ζωτικότητα καθώς και ο συνολικός αριθμός των κυττάρων εκτιμήθηκε με τη χρώση trypan blue. Το δείγμα των πτυέλων θεωρήθηκε αποδεκτό όταν η ζωτικότητα των κυττάρων υπερέβαινε το 50%, ενώ η παρουσία επιθηλιακών κυττάρων δεν ξεπερνούσε το 10%. Στην παρούσα μελέτη η μέση τιμή της ζωτικότητας των κυττάρων υπερέβη το 65%, ενώ η παρουσία επιθηλιακών κυττάρων δεν υπερέβη το 5%. Η διαφοροδιάγνωση των κυτταρικών υποπληθυσμών έγινε στα πλακίδια με τη χρώση Romanowsky<sup>10</sup>. Σε όλες τις περιπτώσεις μετρήθηκαν 400 εμπύρνα μη πλακώδη κύτταρα, και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν ως ποσοστιαία αναλογία επί του συνόλου των μη πλακωδών κυττάρων. Η ECP εκτιμήθηκε με ραδιοενζυματική μέθοδο (RIA).

### *In situ* υβριδισμός

Η αλληλουχία των νουκλεοτιδίων (riboprobes) που ανιχνεύει την εοταξίνη παρασκευάστηκε από 308 ζευγάρια βάσεων ανθρώπινης εοταξίνης (3' UTR, περιοχή 893-1201 bp)<sup>11</sup>, με ραδιοσημασμένα probes (<sup>35</sup>S-UTP). Όλα τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν κάτω από συνθήκες που ελαχιστοποιούσαν μη ειδικές αντιδράσεις και σε όλες τις περιπτώσεις χρησιμοποιήθηκε θετικός και

αρνητικός μάρτυρας. Τα πλακίδια επωάστηκαν με τα riboprobes για διάστημα 15 ημερών σε απόλυτο σκοτάδι στους 40 °C και μετά επεξεργάστηκαν με αιματοξυλίνη. Τα κύτταρα που εξέφραζαν mRNA για την εοταξίνη εμφανίζονταν ως κόκκοι χρώματος γκρι. Όλα τα πλακίδια μετρήθηκαν δύο φορές από ερευνητή που δε γνώριζε τα κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών. Τα αποτελέσματα εκφράζονται ως αριθμός θετικών κυττάρων ανά 400 κύτταρα που μετρήθηκαν σε κάθε περίπτωση.

### Ανοσοϊστοχημεία

Με τη μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας μελετήθηκε η παραγωγή εοταξίνης σε επίπεδο πρωτεΐνης. Αυτό έγινε με τη μέθοδο της αλκαλικής φωσφατάσης αντιαλκαλικής φωσφατάσης (APAAP)<sup>7</sup>, χρησιμοποιώντας το μονοκλωνικό αντίσωμα 2G6 που χαρακτηρίζει την ανθρώπινη εοταξίνη. Σε όλες τις περιπτώσεις χρησιμοποιήθηκαν θετικοί και αρνητικοί μάρτυρες για σύγκριση.

### Στατιστική ανάλυση

Όλα τα στοιχεία επεξεργάστηκαν με το στατιστικό πρόγραμμα Minitab for Windows. Το τεστ Mann-Whitney χρησιμοποιήθηκε για τη συγκριτική αξιολόγηση των 4 ομάδων με τη διόρθωση Bonferroni. Οι μεταξύ τους συσχετίσεις εξετάστηκαν με τη μέθοδο Spearman. Σε όλες τις περιπτώσεις τιμή του p μικρότερη του 0,05 θεωρήθηκε ως στατιστικά σημαντική.

### ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Κατάλληλα δείγματα για εξέταση ήταν μόνο 45 από τα 65 άτομα που μελετήθηκαν συνολικά. Καμιά σημαντική κλινική διαφορά δεν παρατηρήθηκε μεταξύ των ατόμων που έδωσαν κατάλληλο και ακατάλληλο δείγμα, ούτε και μεταξύ των ασθενικών του Λονδίνου και της Αθήνας. Τόσον οι αλλεργικοί, όσον και οι μη αλλεργικοί ασθενικοί ήταν της ίδιας ηλικίας και η νόσος τους της ίδιας βαρύτητας, όπως εκτιμήθηκε από την FEV<sub>1</sub> και την PC20 στην ισταμίνη. Η πρόκληση πτυέλων έγινε καλά ανεκτή από όλους τους ασθενείς. Η μέση πτώση της FEV<sub>1</sub> (% προβλεπόμενης) μετά την πρόκληση στα φυσιολογικά άτομα ήταν 4% (εύρος 2-10), 7% (εύρος 5-15) στους ρινιτιδικούς, 15% στους αλλεργικούς ασθενικούς (εύρος 12-23) και 18% (εύρος 17-28) στους μη αλλεργικούς ασθενικούς αντίστοιχα.

Οι ασθματικοί ασθενείς, ανεξάρτητα από την ύπαρξη αλλεργίας ή όχι, είχαν αυξημένο αριθμό ηωσινοφίλων στο περιφερικό αίμα σε σχέση με τους μη ασθματικούς ( $p < 0,05$ ). Τα αλλεργικά άτομα, ανεξάρτητα από την ύπαρξη άσθματος είχαν υψηλά επίπεδα ολικής IgE στον ορό σε σχέση με τους μη αλλεργικούς ( $p < 0,05$ ), (Πίνακας 1).

### Μέτρηση κυτταρικών πληθυσμών

Ο μέσος αριθμός κυττάρων στα πτύελα των ατόμων που μελετήθηκαν είχε ως εξής: Μη αλλεργικοί ασθματικοί:  $30,3 \times 10^5$  (εύρος  $3-80 \times 10^5$ ), αλλεργικοί ασθματικοί:  $9,4 \times 10^5$  (εύρος  $1,5-82 \times 10^5$ ), ρινιτιδικοί:  $27,4 \times 10^5$  (εύρος  $2-70 \times 10^5$ ) και φυσιολογικοί:  $9,5 \times 10^5$  (εύρος  $2,4-69 \times 10^5$ ).

Ο αριθμός των κυττάρων στους ενδογενείς ασθματικούς και στους ρινιτιδικούς ήταν σημαντικά αυξημένος σε σχέση με τους εξωγενείς ασθματικούς και τους φυσιολογικούς ( $p < 0,05$ ). Καμιά άλλη διαφορά τόσο στη ζωτικότητα όσο και στον αριθμό των πλακωδών κυττάρων δεν διεπιστώθη μεταξύ των τεσσάρων ομάδων.

Η μέση τιμή του ποσοστού των ηωσινοφίλων που ανιχνεύθηκε στα πτύελα των μη αλλεργικών ασθματικών (7%, εύρος 0-44) και των αλλεργικών ασθματικών (4%, εύρος 0-12,5) ήταν σημαντικά αυξημένη συγκρινόμενη με των ρινιτιδικών (2,5%, εύρος 0-10) και φυσιολογικών μαρτύρων (0,5%, εύρος 0-2,5). Καμιά σημαντική διαφορά δε βρέθηκε μεταξύ αλλεργικών και μη αλλεργικών ατόμων.

Παρομοίως, ο απόλυτος αριθμός των ηωσινοφίλων ήταν σημαντικά αυξημένος στα πτύελα των μη αλλεργικών ( $0,62 \times 10^5$ , εύρος  $0,0036-15,4 \times 10^5$ ) και αλλεργικών

ασθματικών ( $0,47 \times 10^5$ , εύρος  $0,0007-5,9 \times 10^5$ ) σε σχέση με τους ρινιτιδικούς ( $0,41 \times 10^5$ , εύρος  $0,0002-1,8 \times 10^5$ ) και φυσιολογικούς μάρτυρες ( $0,03 \times 10^5$ , εύρος  $0,0003-1,384 \times 10^5$ ).

Επίσης βρέθηκε σημαντική αύξηση στο ποσοστό των επιθηλιακών κυττάρων των πτυέλων και στις δύο κατηγορίες ασθματικών συγκριτικά με τα άτομα που δεν είχαν άσθμα ( $p < 0,005$ ). Καμιά σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε στα ποσοστά των μακροφάγων, ουδετεροφίλων και λεμφοκυττάρων μεταξύ των τεσσάρων ομάδων (Σχήμα 1).

Τέλος, βρέθηκε μία σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ των ηωσινοφίλων των πτυέλων και των ηωσινοφίλων του αίματος στους ενδογενείς ασθματικούς ( $p < 0,01$ ,  $r = 0,88$ ).

### Ηωσινοφιλική κατιονική πρωτεΐνη (ECP) στα πτύελα

Η συγκέντρωση της ECP στο υπερκείμενο του πτυέλων, όπως μετρήθηκε με ραδιοενζυματική μέθοδο, ήταν σημαντικά αυξημένη στους ασθματικούς, ανεξάρτητα από την παρουσία αλλεργίας ή όχι, συγκριτικά με τους φυσιολογικούς μάρτυρες ( $p < 0,05$ ). Αξίζει να σημειωθεί πως αυξημένα επίπεδα ECP βρέθηκαν και σε δύο ρινιτιδικούς χωρίς άσθμα. Καμιά άλλη σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε μεταξύ των ασθματικών και των ομάδων ελέγχου (Σχήμα 2). Μια σημαντική αρνητική συσχέτιση βρέθηκε μεταξύ της PC20 στην ισταμίνη και του ποσοστού των ηωσινοφίλων, καθώς και της ECP στα πτύελα των ασθματικών ασθενών (AA+NAA), ( $p < 0,05$ ,  $r = -0,5$ ). Στην ίδια ομάδα ασθενών η συγκέντρωση της ECP σχετιζόταν θετικά με το ποσοστό των ηωσινοφίλων στο περιφερικό αίμα ( $p < 0,05$ ,  $r = 0,67$ ).

Πίνακας 1. Κλινικά χαρακτηριστικά ατόμων που συμμετείχαν στη μελέτη

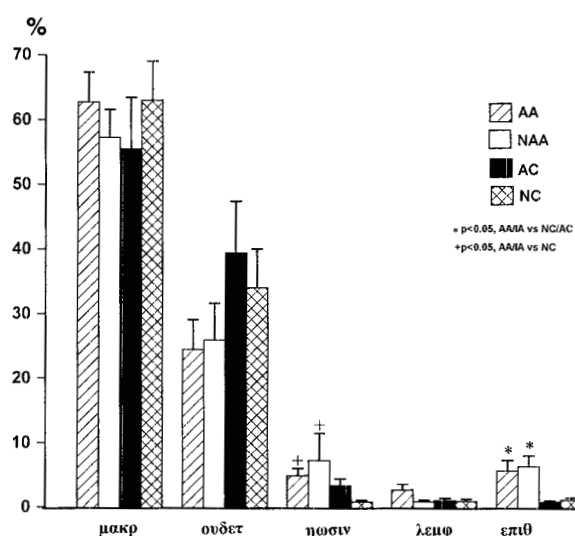
| Ατομα  | Ηλικία (έτη) | Φύλο (Α:Θ) | FEV <sub>1</sub> % | Ισταμίνη PC <sub>20</sub> (mg/ml) | IgE (IU/ml) | Ηωσινόφιλα ( $\times 10^9/l$ ) |
|--------|--------------|------------|--------------------|-----------------------------------|-------------|--------------------------------|
| AA     | 28           | 4:7        | 100                | 1.16                              | 353**       | 0,3 <sup>+</sup>               |
| (n=11) | (20-54)      | (74-120)   | (0,096-4)          | (43-831)                          | (0,2-0,9)   |                                |
| NAA    | 32           | 5:5        | 91,5 <sup>#</sup>  | 2                                 | 17,5        | 0,3 <sup>+</sup>               |
| (n=10) | (23-56)      | (76-110)   | (1,9-5)            | (1-83)                            | (0,1-1,2)   |                                |
| AC     | 26           | 7:3        | 105                | >16                               | 103*        | 0,15                           |
| (n=10) | (20-35)      | (80-124)   | (15-166)           | (0,1-0,7)                         |             |                                |
| NC     | 31           | 7:5        | 108                | >16                               | 20          | 0,1                            |
| (n=12) | (22-51)      | (94-140)   | (6-150)            | (0,1-0,3)                         |             |                                |

\* $p < 0,01$ , AC σε σχέση με NC/NAA

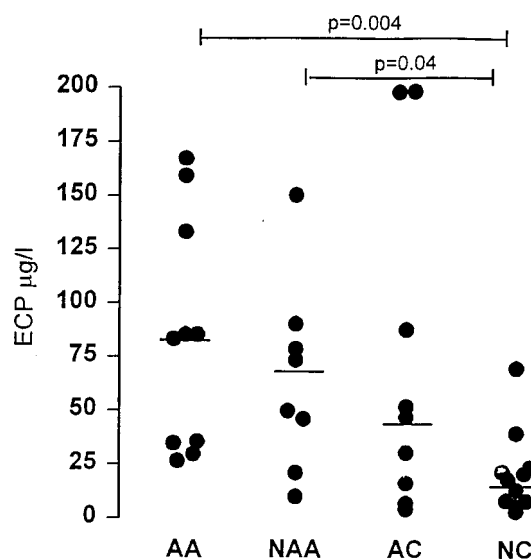
\*\* $p < 0,005$ , AA σε σχέση με AC/NC/NAA

+ $p < 0,005$ , AA/NAA σε σχέση με NC

<sup>#</sup> $p < 0,05$ , NAA σε σχέση με NC



Σχήμα 1. Κυτταρικοί υποπληθυσμοί που ανιχνεύθηκαν στα πτύελα αλλεργικών ασθματικών (AA), μη αλλεργικών ασθματικών (NAA), ρινιτιδικών (AC) και φυσιολογικών μαρτύρων (NC).



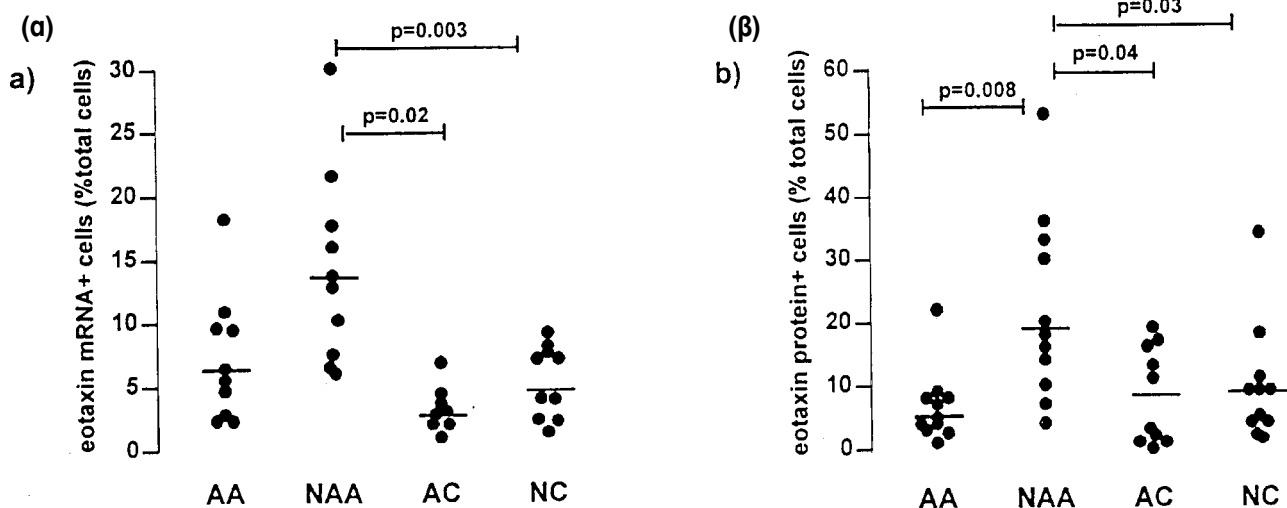
Σχήμα 2. Η συγκέντρωση της ECP (mg/l) στα πτύελα αλλεργικών ασθματικών (AA), μη αλλεργικών ασθματικών (NAA), ρινιτιδικών (AC) και φυσιολογικών μαρτύρων (NC).

### Η έκφραση της εοταξίνης στα πτύελα

Ο αριθμός των κυττάρων που εξέφραζαν mRNA για την εοταξίνη ήταν σημαντικά αυξημένος στους ενδογενείς ασθματικούς σε σχέση με τα άτομα που δεν είχαν άσθμα ( $p < 0,05$ ). Με τη μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας, ο αριθμός των κυττάρων που εξέφραζαν εοταξίνη σε επίπεδο πρωτεΐνης βρέθηκε σημαντικά αυξημένος στους ενδογενείς ασθματικούς συγκριτικά με τις υπόλοιπες

τρεις ομάδες που μελετήθηκαν ( $p < 0,05$ ) (Σχήμα 3).

Ο αριθμός των κυττάρων που εξέφραζαν εοταξίνη, τόσο σε επίπεδο mRNA όσο και πρωτεΐνης σχετιζόταν θετικά με το ποσοστό των ηωσινοφίλων των πτυέλων μόνο στους ενδογενείς ασθματικούς. Στους ενδογενείς ασθματικούς επίσης, το ποσοστό των κυττάρων που εξέφραζαν mRNA για την εοταξίνη σχετιζόταν αρνητικά με την PC20 στην ισταμίνη ( $p < 0,01$ ,  $r = -0,81$ ). Καμιά



Σχήμα 3. Ποσοστό κυττάρων που εξέφραζαν mRNA (α) και πρωτεΐνη (β) για την εοταξίνη στα πτύελα αλλεργικών ασθματικών (AA), μη αλλεργικών ασθματικών (NAA), ρινιτιδικών (AC) και φυσιολογικών μαρτύρων (NC).

άλλη συσχέτιση μεταξύ εοταξίνης και κλινικών χαρακτηριστικών ή χαρακτηριστικών των πτυέλων δεν παρατηρήθηκε μεταξύ των ομάδων που μελετήθηκαν.

Η πλειονότητα των κυττάρων που εξέφραζαν εοταξίνη στα πτύελα, όπως εκτιμήθηκε με μακροσκοπικά κριτήρια, ήταν τα μακροφάγα. Η μέση τιμή του ποσοστού των μακροφάγων ήταν 53% (εύρος 35-55) στους ενδογενείς ασθματικούς, 63% (εύρος 30-85) στους εξωγενείς ασθματικούς, 68% (εύρος 45-90) στους ρινιτιδικούς και 58% (εύρος 25-80) στους φυσιολογικούς μάρτυρες. Από την άλλη πλευρά, η συμμετοχή των ηωσινοφίλων στην παραγωγή εοταξίνης ανήλθε στο 12% (εύρος 0-30) στην ομάδα των ενδογενών ασθματικών, 12% (εύρος 0-34) στους εξωγενείς ασθματικούς, 17% (εύρος 0-37) στους ρινιτιδικούς και 25% (εύρος 0-40) στους φυσιολογικούς μάρτυρες.

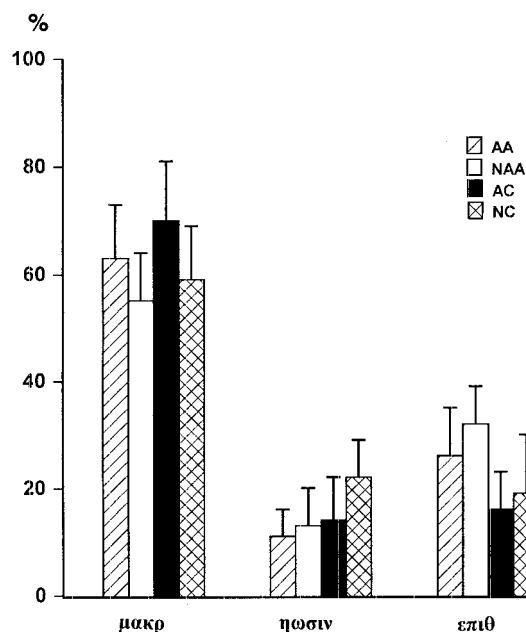
Όσον αφορά στα επιθηλιακά κύτταρα, ποσοστό 35% (εύρος 17-60) συμμετείχε στην παραγωγή εοταξίνης στην ομάδα των ενδογενών ασθματικών, 25% (εύρος 0-45) στους εξωγενείς ασθματικούς, 15% (εύρος 5-20) στους ρινιτιδικούς και 17% (εύρος 0-40) στους φυσιολογικούς. Καμιά άλλη διαφορά στην έκφραση της εοταξίνης από τους άλλους τύπους κυττάρων δεν παρατηρήθηκε μεταξύ των τεσσάρων ομάδων (Σχήμα 4).

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Αν και υπάρχουν κλινικές διαφορές μεταξύ αλλεργικού και μη αλλεργικού άσθματος, η διήθηση του βρογχικού βλεννογόνου από ηωσινοφιλα αποτελεί σταθερό χαρακτηριστικό της νόσου<sup>1,2</sup>.

Στην παρούσα μελέτη εξετάσαμε έναν από τους μηχανισμούς της επιστράτευσης των ηωσινοφίλων στους αεραγωγούς των αλλεργικών και μη αλλεργικών ασθματικών μελετώντας την έκφραση/παραγωγή του ισχυρού χημειοτακτικού παράγοντα των ηωσινοφίλων, της εοταξίνης, στα πτύελα. Τα δεδομένα που προέκυψαν δείχνουν αυξημένο αριθμό ηωσινοφίλων και εοταξίνης στα πτύελα των ενδογενών ασθματικών που επιπλέον σχετίζονται μεταξύ τους. Τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν έναν πιο σημαντικό ρόλο για την εοταξίνη στη δημιουργία της ηωσινοφιλικής φλεγμονής του βρογχικού βλεννογόνου στους αλλεργικούς ασθματικούς σε σχέση με τους μη αλλεργικούς.

Αξίζει να σημειωθεί πως στα πτύελα των ασθματι-



Σχήμα 4. Φαινότυπος των κυττάρων που εξέφραζαν πρωτεΐνη για την εοταξίνη (όπως ανιχνεύτηκαν με τη μέθοδο της ανοσοϊστοχημείας).

κών, ανεξάρτητα από την ύπαρξη αλλεργίας ή όχι, βρέθηκε αυξημένος αριθμός επιθηλιακών κυττάρων, εύρημα συμβατό με προηγούμενες μελέτες<sup>12,13</sup>. Παρομοίως η ECP με την ισχυρή κυτταροτοξική της δράση, ήταν αυξημένη στα πτύελα και των ενδογενών και των εξωγενών ασθματικών, και μάλιστα σε επίπεδα παρόμοια με αυτά που έχουν αναφερθεί σε αλλεργικούς ασθματικούς<sup>14,15</sup>, αν και οι μηχανισμοί που ευθύνονται για την έκλυση της ECP στα πτύελα δεν έχουν πλήρως διευκρινιστεί.

Η παρατηρούμενη αρνητική συσχέτιση μεταξύ της ECP των πτυέλων και της βρογχικής υπεραντιδραστικότητας στους ασθματικούς (AA+NAA) υποδηλώνει ομοιότητες στην ενεργοποίηση και αποκοκκίωση των ηωσινοφίλων και στους δύο τύπους άσθματος. Στη συγκεκριμένη μελέτη, δύο ρινιτιδικοί ασθενείς χωρίς άσθμα είχαν επίσης υψηλά επίπεδα ECP στα πτύελα. Αν και δεν μετρήσαμε την ECP του αίματος, θα μπορούσαμε να υποθέσουμε πως η ECP των πτυέλων αντανακλά τα συστηματικά επίπεδα αυτής, μιας και οι δύο αυτοί ασθενείς ήταν έντονα αλλεργικοί στο άκαρι της οικιακής σκόνης (συνεχής έκθεση).

Η αλλεργία φαίνεται πως επηρεάζει τα επίπεδα της ECP. Πράγματι, αυξημένα επίπεδα ECP αίματος έχουν



παρατηρηθεί σε ρινιτιδικούς ασθενείς τα οποία σχετίζονται επίσης με τα επίπεδα της ολικής IgE στον ορό<sup>16</sup>.

Η παραγωγή εοταξίνης βρέθηκε αυξημένη μόνο στα πτύελα των ενδογενών ασθματικών και όχι των εξωγενών. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί το σχετικά μεγαλύτερο αριθμό ηωσινοφίλων που έχει παρατηρηθεί σε μη αλλεργικούς ασθματικούς, τόσο σε βιοψίες βρόγχου όσο και στα πτύελα<sup>7,17</sup>.

Προηγούμενες μελέτες που εξέτασαν την παραγωγή χημειοκινών με ισχυρή ηωσινοφιλική δράση στο βρογχικό βλεννογόνο ασθματικών, όπως των RANTES, MCP-3 και MCP-4, δεν εντόπισαν κάποια σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο μορφών άσθματος<sup>7,17</sup>. Εδώ αξίζει να αναφερθεί ότι αν και η εξέταση του πτυέλου στη μελέτη του άσθματος αποτελεί μέθοδο αξιόπιστη και αναπαραγωγίμη<sup>18,19</sup>, το δείγμα που λαμβάνεται είναι διαφορετικό και από τις βιοψίες βρόγχου και από το βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα. Το μειονέκτημα της μεθόδου είναι ο σχετικά μικρός αριθμός κυττάρων που λαμβάνεται, μιας και μερικοί ασθενείς δεν παράγουν ικανοποιητική ποσότητα για ανάλυση (συντελεστής επιτυχίας ~ 75%)<sup>20</sup>. Στην παρούσα μελέτη ικανοποιητικά δείγματα πτυέλων ελήφθησαν από 43 επί συνόλου 65 ατόμων (ποσοστό επιτυχίας 66%). Στα πτύελα, τα μακροφάγα αποτελούν την κυριότερη πηγή παραγωγής εοταξίνης, ενώ σε μικρότερη αναλογία συμβάλλουν τα ηωσινόφιλα και τα επιθηλιακά κύτταρα. Στις βιοψίες βρόγχου όμως, ο κυριότερος τύπος κυττάρου που παράγει εοταξίνη είναι τα ενδοθηλιακά και επιθηλιακά κύτταρα<sup>6</sup>. Ίσως οι διαφορετικοί τύποι κυττάρων που ευθύνονται για την παραγωγή εοταξίνης στα διάφορα βιολογικά υλικά να ευθύνονται για τα διαφορετικά αποτελέσματα των μελετών μεταξύ βρογχικού βλεννογόνου και πτυέλων.

Πράγματι, σε μια άλλη μελέτη, ο Folkard και συν. βρήκαν επίσης αυξημένη παραγωγή της χημειοκίνης RANTES από τα μακροφάγα του βρογχοκυψελιδικού έκπλυματος ενδογενών ασθματικών<sup>21</sup>.

Το ερέθισμα που ευθύνεται για την παραγωγή εοταξίνης στο άσθμα δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί, αλλά πιθανώς οφείλεται σε κυτταροκίνες που εκλύονται από τα μακροφάγα, όπως η TNF-α και IL-10<sup>5</sup>.

Το γεγονός ότι τα μακροφάγα αποτελούν την κυριότερη πηγή εοταξίνης και στο ενδογενές άσθμα, ενισχύει παλαιότερες απόψεις που υποστήριζαν έναν διαφορε-

τικό ρόλο για τα μακροφάγα στην παθογένεια του μη αλλεργικού άσθματος<sup>1,22</sup>.

Αξίζει να σημειωθεί ότι οι όποιες διαφορές που έχουν παρατηρηθεί μέχρι σήμερα μεταξύ αλλεργικού και μη αλλεργικού άσθματος έχουν αποδοθεί στη στατιστικά μεγαλύτερη ηλικία των ενδογενών ασθματικών που συμμετείχαν στις μελέτες, μιας και το ενδογενές άσθμα εμφανίζεται αργότερα σε σχέση με το εξωγενές. Στην προκειμένη περίπτωση, και οι δύο κατηγορίες ασθματικών που έλαβαν μέρος δεν διέφεραν στην ηλικία, αλλά ούτε και στη βαρύτητα της νόσου, γεγονός το οποίο ισχυροποιεί τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης.

Συμπερασματικά, αυξημένη παραγωγή εοταξίνης βρέθηκε στα πτύελα των μη αλλεργικών ασθματικών, που πιθανώς να ευθύνεται για την εντονότερη ηωσινοφιλική διήθηση του βρογχικού βλεννογόνου σε αυτή τη μορφή της νόσου.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Bentley AM, Menz G, Storz C, Robinson DS, Bradley B, Jeffery PK, Durham SR, Kay AB. Identification of T lymphocytes, macrophages, and activated eosinophils in the bronchial mucosa in intrinsic asthma. Relationship to symptoms and bronchial responsiveness. *Am Rev Respir Dis* 1992, 146(2):500-6.
2. Humbert M, Durham SR, Ying S, Kimmitt P, Barkans J, Assoufi B, Pfister R, Menz G, Robinson DS, Kay AB, et al. IL-4 and IL-5 mRNA and protein in bronchial biopsies from patients with atopic and nonatopic asthma: evidence against "intrinsic" asthma being a distinct immunopathologic entity. *Am J Respir Crit Care Med* 1996, 154(5):1497-504.
3. Coyle AJ, Ackerman SJ, Burch R, Proud D, Irvin CG. Human eosinophile-granule major basic protein and synthetic polycations induce airway hyperresponsiveness in vivo dependent on bradykinin generation. *J Clin Invest* 1995, 95(4):1735-40.
4. Rochester CL, Ackerman SJ, Zheng T, Elias JA. Eosinophil-fibroblast interactions. Granule major basic protein interacts with IL-1 and transforming growth factor-beta in the stimulation of lung fibroblast IL-6-type cytokine production. *J Immunol* 1996, 156(11):4449-56.
5. Baggiolini M. Eotaxin: a VIC (very important chemokine) of allergic inflammation? [editorial]. *J Clin Invest* 1996, 97(3):587.
6. Lamkhieoued B, Renzi PM, Abi Younes S, Garcia Zepeda EA, Allakhverdi Z, Ghaffar O, Rothenberg MD,

- Luster AD, Hamid Q. Increased expression of eotaxin in bronchoalveolar lavage and airways of asthmatics contributes to the chemotaxis of eosinophils to the site of inflammation. *J Immunol* 1997, 159(9):4593-601.
7. Ying S, Meng Q, Zeibecoglou K, Robinson D, Macfarlane A, Humbert M, Kay AB. Eosinophil chemotactic chemokines (eotaxin, eotaxin-2, RANTES, MCP-3, MCP-4) and CCR3 expression in bronchial biopsies from atopic and non-atopic asthmatics. *J Clin Invest* 2000.
  8. Minshall EM, Cameron L, Lavigne F, Leung DY, Hamilos D, Garcia Zepeda EA, Rothenberg M, Luster AD, Hamid Q. Eotaxin mRNA and protein expression in chronic sinusitis and allergen-induced nasal responses in seasonal allergic rhinitis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997, 17(6):683-90.
  9. Pin I, Freitag AP, O'Byrne PM, Girgis Gabardo A, Watson RM, Dolovich J, Denburg JA, Hargreave FE. Changes in the cellular profile of induced sputum after allergen-induced asthmatic responses. *Am Rev Respir Dis* 1992, 145(6):1265-9.
  10. Romanowsky. ICSH reference method for staining of blood and bone marrow films by azure B and eosin Y (Romanowsky stain). International Committee for Standardization in Haematology. *Br J Haematol* 1984, 57(4):707-10.
  11. Ponath PD, Qin S, Post TW, Wang J, Wu L, Gerard NP, Newman W, Gerard C, Mackay CR. Molecular cloning and characterization of a human eotaxin receptor expressed selectively on eosinophils. *J Exp Med* 1996, 183(6):2437-48.
  12. Laitinen LA, Heino M, Laitinen A, Kava T, Haahtela T. Damage of the airway epithelium and bronchial reactivity in patients with asthma. *Am Rev Respir Dis* 1985, 131(4):599-606.
  13. Gibson PG, Girgis Gabardo A, Morris MM, Mattoli S, Kay JM, Dolovich J, Denburg J, Hargreave FE. Cellular characteristics of sputum from patients with asthma and chronic bronchitis. *Thorax* 1989, 44(9):693-9.
  14. Pizzichini MM, Popov TA, Efthimiadis A, Hussack P, Evans S, Pizzichini E, Dolovich J, Hargreave FE. Spontaneous and induced sputum to measure indices of airway inflammation in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996, 154(4 Pt 1):866-9.
  15. Pizzichini MM, Pizzichini E, Clelland L, Efthimiadis A, Mahony J, Dolovich J, Hargreave FE. Sputum in severe exacerbations of asthma: kinetics of inflammatory indices after prednisone treatment. *Am J Respir Crit Care Med* 1997, 155(5):1501-8.
  16. Remes S, Korppi M, Remes K, Savolainen K, Mononen I, Pekkanen J. Serum eosinophil cationic protein (ECP) and eosinophil protein X (EPX) in childhood asthma: the influence of atopy. *Pediatr Pulmonol* 1998, 25(3):167-74.
  17. Humbert M, Ying S, Corrigan C, Menz G, Barkans J, Pfister R, Meng Q, Van Damme J, Opdenakker G, Durham SR, et al. Bronchial mucosal expression of the genes encoding chemokines RANTES and MCP-3 in symptomatic atopic and nonatopic asthmatics: relationship to the eosinophil-active cytokines interleukin (IL)-5, granulocyte macrophage-colony-stimulating factor, and IL-3. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997, 16(1):1-8.
  18. Spanevello A, Migliori GB, Sharara A, Ballardini L, Bridge P, Pisati P, Neri M, Ind PW. Induced sputum to assess airway inflammation: a study of reproducibility. *Clin Exp Allergy* 1997, 27(10):1138-44.
  19. Pavord ID, Pizzichini MM, Pizzichini E, Hargreave FE. The use of induced sputum to investigate airway inflammation [editorial]. *Thorax* 1997, 52(6):498-501.
  20. Wong HH, Fahy JV. Safety of one method of sputum induction in asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1997, 156(1):299-303.
  21. Folkard SG, Westwick J, Millar AB. Production of interleukin-8, RANTES and MCP-1 in intrinsic and extrinsic asthmatics. *Eur Respir J* 1997, 10(9):2097-104.
  22. Kotsimbos AT, Humbert M, Minshall E, Durham S, Pfister R, Menz G, Tavernier J, Kay AB, Hamid Q. Upregulation of alpha GM-CSF-receptor in nonatopic asthma but not in atopic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1997, 99(5):666-72.

# Τα επίπεδα των νιτρικών/νιτρωδών στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα ασθενών με βρογχικό άσθμα

Κ. Γκάνας<sup>1</sup>,  
Σ. Λουκίδης<sup>1</sup>,  
Γ. Παπαθεοδώρου<sup>2</sup>,  
Κ. Κωστίκας<sup>1</sup>,  
Κ. Ψαθάκης<sup>1</sup>,  
Π. Πανάγου<sup>1</sup>,  
Ν. Καλογερόπουλος<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Πνευμονολογική Κλινική 401 ΓΣΝΑ Αθήνα, <sup>2</sup>Εργαστήριο Κλινικής Έρευνας 401 ΓΣΝΑ Αθήνα

**Λέξεις κλειδιά:** Βρογχικό άσθμα, οξειδωτική φλεγμονή, νιτρικά/νιτρώδη, συμπύκνωμα εκπνεόμενου αέρα, υπεροξειδίο του υδρογόνου

Αλληλογραφία:  
Στέλιος Λουκίδης, Σμόλικα 2, Αθήνα 166 73, τηλ.: 89 54 603, FAX: 74 94 095, E-mail: ssat@hol.gr

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ.** Η παραγωγή του μονοξειδίου του αζώτου (NO) αυξάνεται σε φλεγμονώδεις παθήσεις των αεραγωγών συμπεριλαμβανομένου και του βρογχικού άσθματος. Τα τελικά παράγωγα του βιολογικού μεταβολισμού του NO είναι τα νιτρικά (NO<sub>3</sub>) και τα νιτρώδη (NO<sub>2</sub>). Το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) είναι αυξημένο στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα ασθενών με βρογχικό άσθμα και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης οξειδωτικού στρες. Η συγκέντρωση των νιτρικών/νιτρωδών (NO<sub>3</sub>/NO<sub>2</sub>) καθώς και τα επίπεδα του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) μετρήθηκαν στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα πενήντα ασθενών με βρογχικό άσθμα οι οποίοι βρίσκονταν σε σταθερή κλινική πορεία (όλοι άρρενες, όλοι ατοπικοί, με μέσο όρο ηλικίας: 22±3 χρόνια (SD), FEV<sub>1</sub>: 91±10% αναμ. PD<sub>20</sub> 0,262±0,16 mg, 20 υπό εισπνεόμενα στεροειδή, 30 χωρίς στεροειδή από τους οποίους οι 20 καπνιστές) καθώς και σε 10 φυσιολογικούς μη ατοπικούς (όλοι άρρενες με μέσο όρο ηλικίας: 23±4 χρόνια (SD), FEV<sub>1</sub>: 101±14% αναμ., PD<sub>20</sub>: 1,3±0,55 mg). Τα επίπεδα των νιτρικών/νιτρωδών (NO<sub>3</sub>/NO<sub>2</sub>) στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα ασθενών με βρογχικό άσθμα βρέθηκαν σημαντικά αυξημένα συγκριτικά με τους φυσιολογικούς (1,08, 95% CI 0,86-1,3 μM έναντι 0,6, 95% CI 0,46-0,8 μM, p<0,001). Οι ασθενείς οι οποίοι ήταν σε αγωγή με εισπνεόμενα στεροειδή είχαν σημαντικά χαμηλότερες τιμές συγκριτικά με αυτούς οι οποίοι δεν ελάμβαναν εισπνεόμενα στεροειδή (0,71, 95% CI 0,55-0,87 μM έναντι 1,33, 95% CI 1-1,65 μM, p<0,001). Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και μεταξύ καπνιστών και μη καπνιστών (1,11, 95% CI 0,74-1,47 μM έναντι 1,77 95% CI 1,1-2,4 μM, p<0,0001). Βρέθηκε επίσης μια στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων των νιτρικών/νιτρωδών και της συγκεντρώσεως του υπεροξειδίου του υδρογόνου στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα (r=0,48, p<0,0001). Αντίθετα, καμιά συσχέτιση δεν παρατηρήθηκε μεταξύ των επι-

πέδων των νιτρικών/νιτρωδών, της απόφραξης των αεραγωγών, όπως αυτή εκφράζεται με την  $FEV_1\%$  αναμ. και της βρογχικής υπεραντιδραστικότητας, όπως αυτή εκφράζεται με την  $PD_{20}$  ως προς την ισταμίνη. Συμπερασματικά, τα επίπεδα των νιτρικών/νιτρωδών στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα, είναι αυξημένα στους ασθενείς με βρογχικό άσθμα και φαίνεται να συσχετίζονται θετικά με το οξειδωτικό στρες, όπως αυτό καθορίζεται από τη συγκέντρωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου. Η ταυτόχρονη μέτρηση των επιπέδων των  $NO_2/NO_3$  και του  $H_2O_2$  στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα έχει κλινική σημασία για την αξιολόγηση της φλεγμονής των αεραγωγών σε ασθενείς με βρογχικό άσθμα. *Πνεύμων 2001, 14 (3): 224-231.*

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το βρογχικό άσθμα είναι μια χρόνια νόσος του αναπνευστικού, με κύρια χαρακτηριστικά την αναστρεψιμότητα της αποφράξεως των αεραγωγών, τη φλεγμονή του βρογχικού επιθηλίου και τη βρογχική υπεραντιδραστικότητα. Έχει παρατηρηθεί ότι τα επίπεδα του μονοξειδίου του αζώτου ( $NO$ ) είναι αυξημένα στον εκπνεόμενο αέρα ασθενών με βρογχικό άσθμα, ενώ είναι σημαντικά χαμηλότερα σε ασθενείς οι οποίοι βρίσκονται υπό αγωγή με εισπνεόμενα στεροειδή<sup>1</sup>. Έχει επίσης βρεθεί ότι η αυξημένη παραγωγή  $NO$ , ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις επιτείνει την προκαλούμενη με οξειδωτικούς μηχανισμούς φλεγμονή των αεραγωγών<sup>2</sup> μπορεί να έχει συγχρόνως και προστατευτικές ιδιότητες απέναντι στην κυτταροτοξικότητα που προκαλείται από τη φλεγμονή αυτή<sup>3</sup>. Σε ένα υγρό περιβάλλον όπως είναι η εσωτερική επιφάνεια των αεραγωγών, η παραγωγή του  $NO$  μπορεί να εκφράζεται με το σχηματισμό σταθερών τελικών παραγώγων του μεταβολισμού του, όπως είναι τα νιτρικά ( $NO_3$ ) και νιτρώδη ( $NO_2$ )<sup>4</sup>.

Το οξειδωτικό στρες, το οποίο ορίζεται ως αυξημένη έκθεση σε οξειδωτικούς παράγοντες και/ή μειωμένη αντιοξειδωτική δραστηριότητα, εμπλέκεται στις φλεγμονώδεις παθήσεις των αεραγωγών συμπεριλαμβανομένου και του άσθματος<sup>5</sup>. Τα κύτταρα τα οποία συμμετέχουν στη διαδικασία της φλεγμονής και ειδικά τα ηωσινόφιλα, έχει βρεθεί ότι απελευθερώνουν αρκετά παράγωγα οξυγόνου και αζώτου<sup>6</sup>. Ο συνδυασμός  $O_2$  και  $NO$  οδηγεί στο σχηματισμό υπεροξειδίου του αζώτου ( $ONOO^-$ ) το οποίο είναι ένα ιδιαίτερα δραστικό μόριο

και μπορεί να προκαλέσει βλάβη στο βρογχικό επιθήλιο. Το  $O_2$  μεταβολίζεται ταχέως προς το σχηματισμό υπεροξειδίου του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) το οποίο διαχέεται στους αεραγωγούς και εξατμίζεται στον εκπνεόμενο αέρα. Το  $H_2O_2$  είναι αυξημένο στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα σε ασθενείς με βρογχικό άσθμα και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μη επεμβατικός δείκτης της φλεγμονής των αεραγωγών.

Βασισμένοι σε προηγούμενες έρευνες όπου τα τελικά παράγωγα του

$NO$  αντανakλούν την παραγωγή του<sup>7</sup> στον εκπνεόμενο αέρα και χρησιμοποιώντας μια μη επεμβατική μέθοδο, όπως είναι το συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα, ερευνήσαμε το κατά πόσο η ολική συγκέντρωση των νιτρικών/νιτρωδών αυξάνεται σε κλινικά σταθερούς ασθενείς με βρογχικό άσθμα και εάν αυτή η αύξηση σχετίζεται με την απόφραξη των αεραγωγών όπως αυτή εκφράζεται με την  $FEV_1\%$  αναμ. και με τη βρογχική υπεραντιδραστικότητα όπως αυτή εκφράζεται με την  $PD_{20}$  ως προς την ισταμίνη. Επιπλέον προσπαθήσαμε να δείξουμε εάν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης των νιτρικών/νιτρωδών και του υπεροξειδίου του υδρογόνου. Για να διαπιστώσουμε τυχόν επίδραση των εισπνεόμενων στεροειδών όπως επίσης και του καπνίσματος, διενεργήθηκε περαιτέρω ανάλυση, κατανέμοντας τους συμμετέχοντες στις ανάλογες ομάδες.

## ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΙ

Στη μελέτη συμμετείχαν πενήντα ασθενείς με βρογχικό άσθμα (20 υπό αγωγή με εισπνεόμενα στεροειδή ( $ES+$ ), 30 χωρίς στεροειδή ( $ES-$ ), εκ των οποίων 20 καπνιστές) και δέκα υγιείς μη ατοπικοί, μη καπνιστές (Πίνακας 1). Όλοι οι ασθματικοί είχαν θετικές δερματικές δοκιμασίες σε έξι κοινά αεροαλλεργιογόνα. Η διάγνωση του άσθματος τέθηκε με βάση τα κριτήρια της Αμερικανικής Θωρακικής Εταιρείας<sup>8</sup>. Οι ασθενείς οι οποίοι συμπεριελήφθησαν στην έρευνα ήταν όλοι σε σταθερή κλινική πορεία και δεν υπήρχαν ενδείξεις παροξύνσεως της νόσου για τουλάχιστον τέσσερις εβδομάδες πριν από τη συμμετοχή τους στη μελέτη. Κανένας δεν ελάμβανε

εισπνεόμενα ή από του στόματος βλεννολυτικά ούτε οξυγονοθεραπεία. Είκοσι από τους ασθματικούς ελάμβαναν β<sub>2</sub> διεγέρτες βραχείας δράσης ως ανακουφιστική αγωγή και δεκαπέντε ελάμβαναν β<sub>2</sub> διεγέρτες μακράς δράσης. Οι φυσιολογικοί που συμμετείχαν είχαν αρνητικό ιστορικό αλλεργίας (αρνητικές δερματικές δοκιμασίες στα κοινά αλλεργιογόνα), φυσιολογική σπироμέτρηση και δεν διαπιστώθηκε βρογχική υπεραντιδραστικότητα κατά τη δοκιμασία πρόκλησης με ισταμίνη στην οποία υποβλήθηκαν (PD<sub>20</sub> > 0,800 mg, 1,3 ± 0,55 mg) (Πίνακας 1). Η ερευνητική μελέτη εγκρίθηκε από την Επιστημονική Επιτροπή του νοσοκομείου μας και όλοι οι συμμετέχοντες ενημερώθηκαν πριν τη συμμετοχή τους.

#### ΑΝΑΛΥΣΗ ΓΙΑ ΤΟ ΡΟΛΟ ΤΩΝ ΕΙΣΠΝΕΟΜΕΝΩΝ ΣΤΕΡΟΕΙΔΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ ΚΑΠΝΙΣΤΙΚΗΣ ΣΥΝΗΘΕΙΑΣ

Οι συμμετέχοντες διαιρέθηκαν σε δύο ομάδες ανάλογα με τη χρήση των εισπνεόμενων στεροειδών: σε αυτούς οι οποίοι ελάμβαναν εισπνεόμενα στεροειδή (n=20) και σε αυτούς οι οποίοι δεν ελάμβαναν (n=30). Παρόμοια διαίρεση έγινε και ανάλογα με την καπνιστική συνήθεια των συμμετεχόντων: είκοσι ασθενείς ήταν καπνιστές (εκ των οποίων κανένας δεν ελάμβανε στεροειδή), ενώ οι υπόλοιποι τριάντα δεν είχαν κανένα ιστορικό καπνιστικής συνήθειας.

#### ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ

Ο βίαια εκπνεόμενος όγκος σε ένα δευτερόλεπτο (FEV<sub>1</sub>) μετρήθηκε χρησιμοποιώντας ξηρό σπироμέτρο (Vica-test, Mijnhardt, Holland). Πραγματοποιήθηκαν τρεις προσπάθειες και η καλύτερη από αυτές εκφρά-

στηκε ως επί τοις εκατό της αναμενόμενης. Η βρογχική υπεραντιδραστικότητα υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας τη δοκιμασία πρόκλησης με ισταμίνη. Η PD<sub>20</sub> υπολογίστηκε με τον υπολογισμό της ημιλογαριθμικής καμπύλης που περιγράφει τη σχέση δόσης-απάντησης.

#### Συλλογή συμπτωνώματος εκπνεόμενου αέρα και μέτρηση ολικών νιτρικών/νιτρωδών και υπεροξειδίου του υδρογόνου

Η συλλογή του συμπτωνώματος του εκπνεόμενου αέρα έγινε σε πρωινές ώρες χρησιμοποιώντας μια εναλλακτική μέθοδο ψύξεως των σωλήνων συλλογής. Το μηχανήμα που χρησιμοποιείται για την πρόκληση με ψυχρό αέρα λειτούργησε στη συγκεκριμένη μέθοδο ως μέσο παραγωγής ψυχρού αέρα σε θερμοκρασίες -15°C έως -18°C με ροή αέρα 80 λίτρα/λεπτό. Το ένα άκρο ενός διπλού γυάλινου σωλήνα μήκους 30 cm συνδέθηκε με το σημείο εξόδου του ψυχρού αέρα, ενώ στο άλλο άκρο γινόταν η εκπνοή των ατόμων της μελέτης. Ο σωλήνας στο επάνω μέρος είχε μια βαλβίδα 2 κατευθύνσεων (Heins Rudolf), με σκοπό να διακρίνεται η εισπνοή από την εκπνοή. Όλοι οι συμμετέχοντες στη μελέτη πριν ξεκινήσουν τη διαδικασία συλλογής του συμπτωνώματος εκπνεόμενου αέρα έκαναν στοματοφαρυγγικές πλύσεις με νερό, ενώ η διαδικασία συλλογής έγινε σε καθιστική θέση με σταθερή και ήρεμη αναπνοή και για χρονικό διάστημα 10 λεπτών. Το συμπτώνωμα του εκπνεόμενου αέρα συλλέχθηκε στο άκρο που ήταν συνδεδεμένο με το μηχανήμα του ψυχρού αέρα και άμεσα διατηρήθηκε στους -70°C για τη μετέπειτα επεξεργασία. Με την παραπάνω μέθοδο συλλέγεται τουλάχιστον 1 ml συμπτωνώματος του εκπνεόμενου αέρα σε πλαστικό σωληνάριο χωρητικότητας 3 ml. Η μέτρηση όλων των δειγμά-

Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά συμμετεχόντων ασθενών

|                          | Όλοι                  | Ασθματικοί<br>Στεροειδή (+) | Ασθματικοί<br>Στεροειδή (-) | Φυσιολογικοί        |
|--------------------------|-----------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------------|
| n                        | 50                    | 20                          | 30                          | 10                  |
| Ηλικία                   | 22±3 (19-30)          | 23±3 (19-29)                | 21±3 (19-30)                | 23±4 (21-32)        |
| FEV <sub>1</sub> % αναμ. | 91±10 (70-111)        | 89±9 (75-109)               | 92±10 (70-111)              | 101±14 (89-117)     |
| PD <sub>20</sub> (mg)    | 0,26±0,16 (0,06-0,65) | 0,35±0,16 (0,12-0,65)       | 0,2±0,13 (0,06-0,53)        | 1,3±0,55 (0,9-1,86) |
| Κάπνισμα                 | 20                    | 0                           | 20                          | 0                   |

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέση τιμή (SD) με το εύρος των τιμών στην παρένθεση.

Συντμήσεις: n= αριθμός, FEV<sub>1</sub>=βίαια εκπνεόμενος όγκος σε ένα δευτερόλεπτο, PD<sub>20</sub>: η δόση της ισταμίνης που προκαλεί πτώση της FEV<sub>1</sub> κατά 20%.

των του  $N_2O_2$  και των  $NO_3/NO_2$  έγινε την ίδια ημέρα και σε διάστημα 20 ημερών από τη στιγμή της συλλογής. Οι μετρήσεις έγιναν σε 4 ομάδες (μικρότερος χρόνος μέτρησης 2 ημέρες - μεγαλύτερος χρόνος μέτρησης 20 ημέρες από τη συλλογή). Όλα τα δείγματα ελέγχθηκαν για την παρουσία σιέλου με τη μέθοδο ανίχνευσης της αμυλάσης. Η ανίχνευση αμυλάσης έγινε με φασματοφωτομετρική μέθοδο, χρησιμοποιώντας ως αντιδραστήριο το KONE Instr. Finland. Με αυτή τη μέθοδο, η αμυλάση του δείγματος και το ένζυμο α-γλυκοσιδάση υδρολύουν το υπόστρωμα π-νιτροφενυλο-α-δ μαλτοχεπταοσίδη σε γλυκόζη και π-νιτροφενόλη. Ακολουθεί η απελευθέρωση της π-νιτροφενόλης στα 405 nm ( $37^\circ C$ ) για 2 λεπτά. Σε δύο δείγματα έγινε έγχυση σιέλου, με σκοπό να ελεγχθεί η ευαισθησία της μεθόδου. Χρησιμοποιώντας τη μέθοδο που περιγράφηκε δεν ανευρέθηκε αμυλάση σε κανένα από τα δείγματα της μελέτης. Στα δείγματα που έγινε έγχυση σιέλου ανιχνεύθηκε αμυλάση  $>5000$  IU. Η αναπαραγωγιμότητα των επιπέδων του  $H_2O_2$  και των  $NO_3/NO_2$  ελέγχθηκε σε 2 διαφορετικές ημέρες σε 5 φυσιολογικούς και σε δέκα ασθενείς που επιλέχθηκαν τυχαία. Για τον έλεγχο σταθερότητας του δείγματος χρησιμοποιήθηκαν 8 άτομα (4 ασθενείς). Στα παραπάνω άτομα ελήφθησαν 4 ml δείγματος. Αυτή η ποσότητα χωρίστηκε σε 4 ίσα μέρη και η μέτρηση του  $H_2O_2$  και των  $NO_3/NO_2$  έγινε σε χρονικό διάστημα 2 ημερών, 1 εβδομάδας, 2 εβδομάδων και 3 εβδομάδων, που αποτελεί και το μέγιστο χρόνο μέτρησης που χρησιμοποιήθηκε για όλα τα δείγματα. Η αναπαραγωγιμότητα των επιπέδων τόσο των  $NO_3/NO_2$  όσο και του  $H_2O_2$  καθώς και η σταθερότητα των δειγμάτων εκτιμήθηκαν όπως περιγράφηκε προηγούμενα στη βιβλιογραφία<sup>9</sup>.

Όσον αφορά στη μέτρηση των νιτρικών/νιτρώδων, προσδιορίστηκε η συνολική ποσότητά τους στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα. Τα νιτρικά κατ' αρχήν μετατράπηκαν ενζυμικά σε νιτρώδη με την επίδραση της αναγωγάσης των νιτρικών<sup>10</sup> και ακολούθως προσδιορίστηκε η συνολική ποσότητα νιτρικών στο δείγμα (αναχθέντα νιτρικά+νιτρώδη) με την αντίδραση Griess<sup>11</sup>. Αναλυτικότερα: 60  $\mu$ l συμπυκνώματος εκπνεόμενου αέρα αναμείχθηκαν με 10  $\mu$ l NADPH 0,5 mM και 10  $\mu$ l μίγματος αναγωγάσης των νιτρικών (2000 U/l) και FAD 50 mol/l. Τα δείγματα επωάστηκαν για 30 λεπτά στους  $37^\circ C$  και εν συνεχεία προστέθηκαν 10  $\mu$ l LDH (100 mg/l) και 10  $\mu$ l πυροσταφυλικού νατρίου (100 mmol/l). Ακο-

λούθησε περαιτέρω επώαση επί 10 λεπτά στους  $37^\circ C$  ώστε να επιτευχθεί η οξείδωση της περιόσσειας του NADPH. Στη συνέχεια, τα ανωτέρω 100  $\mu$ l δείγματος αναμείχθηκαν με 100  $\mu$ l αντιδραστηρίου Griess (1 g/f σουλφανιλαμίδη, 25 g/l  $H_3PO_4$  και 0,1 g/l N-1 ναφθυλεθυλενδιαμίνη). Μετά από παραμονή για 10 λεπτά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, μετρήθηκε η απορρόφηση του έγχρωμου προϊόντος στα 550 nm σε φωτόμετρο και προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις έναντι πρότυπης καμπύλης. Οι προσδιορισθείσες συγκεντρώσεις εκφράζουν τη συνολική ποσότητα νιτρικών και νιτρώδων στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα. Για τη μέτρηση του  $H_2O_2$  χρησιμοποιήθηκε η παραπάνω περιγραφείσα ενζυμική μέθοδος<sup>12,13</sup>. Περιληπτικά 250  $\mu$ l διαλύματος 420  $\mu$ M 3',3,5,5' τετραμεθυλβενζιδίνης (διαλυμένης σε 0,42 M κιτρικού ρυθμιστικού διαλύματος, pH 3,8) και 10  $\mu$ l διαλύματος 52,5 U/ml υπεροξειδάσης horseradish (HRP, Sigma Chemicals, St Louis, USA) αναμείχθηκαν με 250  $\mu$ l δείγματος εκπνεόμενου αέρα για 20 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Το μείγμα αυτό οξειδώθηκε σε pH 1 με 10  $\mu$ l διαλύματοςθειικού οξέος 18 N. Το προϊόν της αντίδρασης προσδιορίστηκε ποσοτικά με απορρόφηση σε 450 nm, χρησιμοποιώντας φασματοφωτόμετρο διπλής ακτίνας (Uvicon 940, Kontron Instr.). Μετρήθηκε τελικά με αυτόματο αναλυτή (model EL 312 Biotec). Το κατώτερο όριο μέτρησης ήταν 0,1  $\mu$ M  $H_2O_2$ .

### Στατιστική ανάλυση

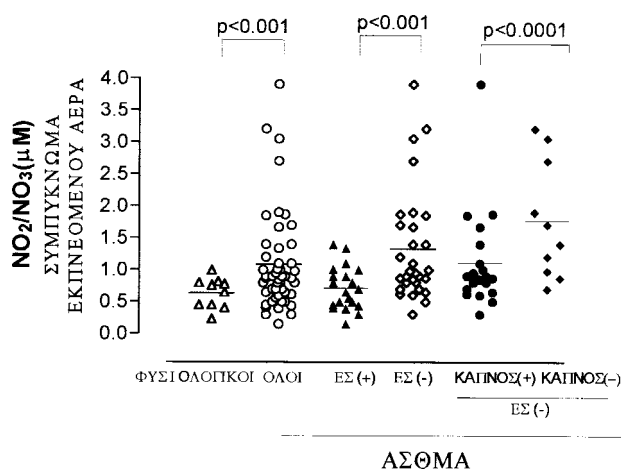
Οι τιμές των παραμέτρων της μελέτης που αφορούν τα χαρακτηριστικά των ασθενών και των φυσιολογικών ατόμων εκφράστηκαν ως μέση τιμή (SD) με το εύρος των τιμών σε παρένθεση. Οι τιμές που αφορούσαν στη σύγκριση μεταξύ των διαφόρων παραμέτρων των μελετηθεισών ομάδων, εκφράστηκαν ως μέση τιμή με 95% διαστήματα αξιοπιστίας (confidence intervals-CI). Οι παράμετροι των ασθενών και των φυσιολογικών ατόμων όπως επίσης και μεταξύ των υποομάδων συγκρίθηκαν χρησιμοποιώντας το student-t-test. Για τη μελέτη της σχέσης μεταξύ των διαφόρων παραμέτρων χρησιμοποιήθηκε ο συντελεστής συσχέτισης κατά Pearson. Η τιμή  $p < 0,05$  θεωρήθηκε ως στατιστικά σημαντική.

### ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

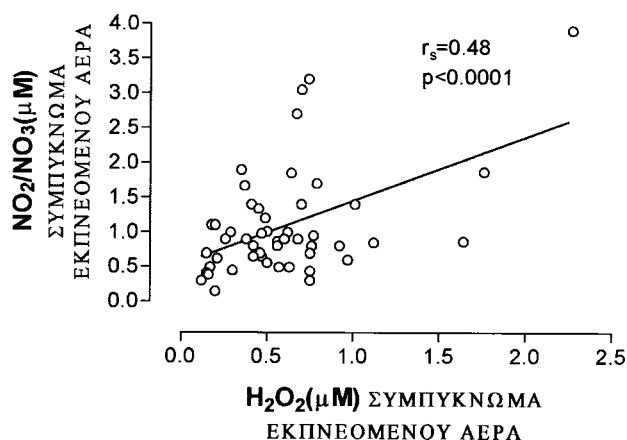
Η αξιολόγηση της επαναληψιμότητας των μετρήσεων των επιπέδων των  $NO_2/NO_3$  για δύο συνεχόμενες ημέ-

ρες, έδειξε μια μέση τιμή διαφοράς μεταξύ των μετρήσεων της τάξεως του  $0,07 \pm 0,04 \mu\text{M}$  για τους ασθενείς και  $0,03 \pm 0,02 \mu\text{M}$  για τους φυσιολογικούς. Η σταθερότητα της συνολικής συγκέντρωσης των  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$  στα κατεψυγμένα δείγματα έδειξε ότι δεν υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ των τεσσάρων μετρήσεων ( $0,62 \pm 0,41 \mu\text{M}$  σε δύο ημέρες,  $0,64 \pm 0,4 \mu\text{M}$  σε μια εβδομάδα,  $0,6 \pm 0,4 \mu\text{M}$  σε δύο εβδομάδες και  $0,64 \pm 0,42 \mu\text{M}$  μετά από τρεις εβδομάδες ( $p=0,55$ ). Η αξιολόγηση της επαναληψιμότητας των μετρήσεων των επιπέδων του  $\text{H}_2\text{O}_2$  για δύο συνεχόμενες ημέρες έδειξε μια μέση τιμή διαφοράς μεταξύ των μετρήσεων της τάξεως του  $0,04 \pm 0,02 \mu\text{M}$  για τους ασθενείς και  $0,07 \mu\text{M} \pm 0,03 \mu\text{M}$  για τους φυσιολογικούς. Η σταθερότητα του συνολικής συγκέντρωσης της  $\text{H}_2\text{O}_2$  στα κατεψυγμένα δείγματα έδειξε ότι δεν υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ των τεσσάρων μετρήσεων ( $0,55 \pm 0,21 \mu\text{M}$  σε δύο ημέρες,  $0,58 \pm 0,33 \mu\text{M}$  σε μια εβδομάδα,  $0,6 \pm 0,3 \mu\text{M}$  σε δύο εβδομάδες και  $0,63 \pm 0,46 \mu\text{M}$  μετά από τρεις εβδομάδες ( $p=0,76$ ).

Η μέση τιμή επιπέδων (95% CI) των συνολικών  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$  ήταν στατιστικά σημαντικά αυξημένη στους ασθματικούς ασθενείς συγκριτικά με τους φυσιολογικούς ( $1,08, 0,86-1,33 \mu\text{M}$  έναντι  $0,63, 0,20-0,41 \mu\text{M}$  αντίστοιχα,  $p<0,001$ , Εικόνα 1). Η μέση τιμή (95% CI) της συγκέντρωσης του  $\text{H}_2\text{O}_2$  στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα ήταν σημαντικά υψηλότερη στους ασθενείς με βρογχικό άσθμα συγκριτικά με τους φυσιολογικούς ( $0,6, 0,48-0,71 \mu\text{M}$  έναντι  $0,3, 0,2-0,4 \mu\text{M}$  αντίστοιχα,  $p<0,005$ ). Οι ασθενείς οι οποίοι βρίσκονταν υπό αγωγή με εισπνεόμενα στεροειδή, είχαν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$  στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα - παρεμφερή με των φυσιολογικών - συγκρινόμενα με αυτά των ασθενών που δεν λάμβαναν στεροειδή ( $0,71$  95% CI  $0,55-0,87 \mu\text{M}$  έναντι  $1,33$  95% CI  $1-1,65 \mu\text{M}$ ,  $p<0,001$ , εικόνα 1). Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και μεταξύ καπνιστών και μη καπνιστών ( $1,11$ , 95% CI  $0,74-1,47 \mu\text{M}$  έναντι  $1,77$  95% CI  $1,1-2,4 \mu\text{M}$ ,  $p<0,0001$ , εικόνα 1). Υπήρξε μια σημαντικά θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων των  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$  και της συγκεντρώσεως του  $\text{H}_2\text{O}_2$  στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα ( $r=0,48$ ,  $p<0,0001$ , Εικόνα 2). Αντίθετα, δεν παρατηρήθηκε κάποια συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων των  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$  και είτε της  $\text{PD}_{20}$  ως προς την ισταμίνη, είτε της  $\text{FEV}_1\%$  αναμ. ( $r=0,04$ ,  $p=0,77$ ,  $r=0,1$ ,  $p=0,3$  αντίστοιχα).



Εικόνα 1. Το επίπεδο των νιτρικών/νιτρωδών ( $\text{NO}_2/\text{NO}_3$ ) στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα ασθενών με βρογχικό άσθμα [όλοι  $n=50$  (○), υπό αγωγή με εισπνεόμενα στεροειδή ΕΣ (+)  $n=20$  (▲), χωρίς αγωγή με εισπνεόμενα στεροειδή ΕΣ (-)  $n=30$  (◇), ασθματικοί καπνιστές ΕΣ (-)  $n=20$  (●), ασθματικοί μη καπνιστές ΕΣ (-)  $n=10$  (◆)] και φυσιολογικά άτομα [ $n=15$  (Δ)]. Κάθε σύμβολο αντιπροσωπεύει ένα άτομο. Η συγκέντρωση των νιτρικών/νιτρωδών ( $\text{NO}_2/\text{NO}_3$ ) ήταν σημαντικά υψηλότερη στους ασθενείς με βρογχικό άσθμα συγκριτικά με τα φυσιολογικά άτομα,  $p<0,001$ . Οι ασθενείς οι οποίοι βρίσκονταν υπό αγωγή με εισπνεόμενα στεροειδή είχαν σημαντικά χαμηλότερες τιμές συγκριτικά με αυτούς που δεν λάμβαναν στεροειδή,  $p<0,001$ . Οι καπνιστές ασθματικοί είχαν σημαντικά χαμηλότερες τιμές συγκριτικά με αυτούς που δεν κάπνιζαν,  $p<0,0001$ . Η οριζόντια γραμμή αντιπροσωπεύει τις μέσες τιμές.



Εικόνα 2. Η συσχέτιση μεταξύ των ολικών νιτρικών/νιτρωδών ( $\text{NO}_2/\text{NO}_3$ ) και του υπεροξειδίου του υδρογόνου ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα ( $r_s=0,48$ ,  $p<0,0001$ ). Ο είναι ατομικά σημεία δεδομένων.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η έρευνά μας έδειξε ότι τα επίπεδα των νιτρικών/νιτρωδών ( $\text{NO}_3/\text{NO}_2$ ) στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα ήταν αυξημένα στους ασθματικούς ασθενείς συγκριτικά με τους φυσιολογικούς και ήταν σημαντικά επηρεασμένα τόσο από τη χρήση των εισπνεόμενων στεροειδών όσο και από την καπνιστική συνήθεια. Δεν βρέθηκε να υπάρχει κάποια συσχέτισή τους ούτε με την απόφραξη των αεραγωγών ούτε και με τη βρογχική υπεραντιδραστικότητα, όπως αυτή εκφράστηκε με την PD<sub>50</sub> ως προς την ισταμίνη. Βρήκαμε επίσης ότι τα τελικά παράγωγα του μεταβολισμού του NO είχαν σημαντική συσχέτιση με τη συγκέντρωση του  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Το συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα έχει χρησιμοποιηθεί πρόσφατα ως μέθοδος μέτρησης της φλεγμονής των αεραγωγών. Είναι μια μη επεμβατική μέθοδος, απλή στην εκτέλεσή της, με υψηλή επαναληψιμότητα και αντανακλά μεταβολές οι οποίες διαπιστώνονται σε υλικά που λαμβάνονται με τη βρογχοσκόπηση<sup>14,15</sup>, με την προκλητή απόχρεμψη<sup>7</sup> καθώς και με τη μελέτη του εκπνεόμενου αέρα<sup>16</sup>. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε, αν και βασίζεται στη φιλοσοφία των προηγούμενων περιγραφεισών μεθόδων, έχει δύο βασικά πλεονεκτήματα. Πρώτον, αποφεύγεται η ανάμειξη με σίελο, δεδομένου ότι η συλλογή γίνεται στο άλλο άκρο του σωλήνα που βρίσκεται 30 cm μακρύτερα από το στόμα του ασθενούς. Δεύτερον, επιτυγχάνεται σταθερή θερμοκρασία ψύξεως του δείγματος μέσω του μηχανήματος του ψυχρού αέρα, κάτι που δεν συμβαίνει στις άλλες μεθόδους που χρησιμοποιούν πάγο για τη συμπύκνωση του εκπνεόμενου σέρα. Τα ευρήματά μας είναι συμβατά με προηγούμενες παρατηρήσεις όσον αφορά στα επίπεδα του εκπνεόμενου NO στους ασθματικούς<sup>1</sup>. Είναι γνωστό ότι το NO είναι ασταθές μόριο και ότι η ταχύτητα αντίδρασης προς το σχηματισμό  $\text{NO}_3/\text{NO}_2$  είναι ταχεία και επηρεάζεται από τη φλεγμονή των αεραγωγών. Εφόσον τα  $\text{NO}_3/\text{NO}_2$  δεν είναι πτητικά, η παρουσία τους στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα προέρχεται από μικρά σταγονίδια του υγρού της εσωτερικής επιφάνειας του βρογχικού επιθηλίου τα οποία δημιουργούνται μέσω της ταχύτητας της ροής του αέρα μέσα από τους βρόγχους και τα βρογχιόλια. Τα αυξημένα επίπεδα των παραγώγων του NO στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα είναι πιθανόν να οφείλονται στην επαγωγή των iNOS από κυτταροκίνες και άλλους μεσολαβητές της φλεγμονής οι οποίοι

απελευθερώνονται στους αεραγωγούς των ασθματικών ασθενών. Το γεγονός αυτό, εν μέρει συμφωνεί και με τα δικά μας ευρήματα όπως επίσης και με προηγούμενες παρατηρήσεις όπου τα εισπνεόμενα κορτικοστεροειδή εμποδίζουν την επαγωγή των iNOS από τις κυτταροκίνες των επιθηλιακών κυττάρων<sup>17</sup>. Η χαμηλή συγκέντρωση των παραγώγων του NO στους καπνιστές είναι παρόμοια με αυτή που στο παρελθόν έχει αναφερθεί για το εκπνεόμενο NO και είναι πιθανόν ότι οφείλεται στην ελάττωση της δραστηριότητας των iNOS που προκαλείται από την υψηλή συγκέντρωση του NO στον καπνό του τσιγάρου<sup>18</sup>.

Η κυτταρική προέλευση των νιτρικών/νιτρωδών στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα δεν είναι γνωστή. Είναι πιθανόν να προέρχονται από τη δραστηριότητα των iNOS στους αεραγωγούς. Ανοσοϊστοχημικές μελέτες προτείνουν ως πολύ πιθανή την προέλευσή τους από τα επιθηλιακά κύτταρα ενώ υπάρχουν και κάποιες ενδείξεις για δραστηριότητα των iNOS στα μακροφάγα των αεραγωγών. Ωστόσο, λόγω της προέλευσης του συμπυκνώματος του εκπνεόμενου αέρα, τα νιτρικά/νιτρώδη είναι πιθανόν να προέρχονται και από τα φλεγμονώδη κύτταρα τα οποία διηθούν τους αεραγωγούς. Αυτό φαίνεται να επιβεβαιώνεται εν μέρει από προηγούμενη μελέτη όπου πτύελα από προκλητή απόχρεμψη χρησιμοποιήθηκαν για τη μέτρηση της συγκέντρωσης των νιτρικών/νιτρωδών<sup>7</sup>.

Στη μελέτη μας δεν βρέθηκε να υπάρχει σημαντική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης των μεταβολιτών του NO και της απόφραξης των αεραγωγών όπως αυτή εκφράζεται με την FEV<sub>1</sub>% αναμ., αλλά αξίζει να σημειωθεί ότι οι περισσότεροι ασθενείς μας είχαν ήπιο άσθμα με φυσιολογικές τιμές ως προς την FEV<sub>1</sub>% αναμ. Η έλλειψη συσχέτισης μεταξύ των τελικών προϊόντων του μεταβολισμού του NO και της βρογχικής υπεραντιδραστικότητας είναι παρόμοια με αυτή που είχε αναφερθεί και στο παρελθόν μεταξύ της συγκέντρωσης των νιτρικών/νιτρωδών στην προκλητή απόχρεμψη και της βρογχικής υπεραντιδραστικότητας ως προς τη μεταχολίνη<sup>7</sup>. Αυτό ίσως οφείλεται στο ότι τα τελικά παράγωγα του εκπνεόμενου NO αντανακλούν μόνο την ενεργό φλεγμονή και τη βραχεία αντίδραση. Από την άλλη πλευρά όμως, η βρογχική υπεραντιδραστικότητα αντανακλά τόσο την ενεργό φλεγμονή όσο και τη χρονιότητα της βλάβης καθώς και την ανακατασκευή του ιστού κατά τη διαδικασία της επούλωσης (healing remodeling)<sup>19</sup>. Επι-



πλέον, δεν υπάρχει συμφωνία στις περισσότερες έρευνες, όσον αφορά στο ρόλο του NO στην πρόβλεψη του βαθμού της βρογχικής υπεραντιδραστικότητας<sup>20,21</sup>. Ο ρόλος του NO στη φλεγμονή και το οξειδωτικό στρες είναι πολύπλοκος και εξαρτάται από την ισορροπία μεταξύ NO και O<sub>2</sub>. Τα ευρήματά μας συμφωνούν με προηγούμενες παρατηρήσεις όπου η αυξημένη παραγωγή του ενδογενούς NO έχει κυτταροτοξική επίδραση στα κύτταρα και τον πνευμονικό ιστό μεταβάλλοντας τη διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης<sup>22,23</sup> ή δίνοντας το έναυσμα στα πνευμονικά μακροφάγα<sup>24</sup> να απελευθερώσουν αντιδραστικό άζωτο και παράγωγα του οξυγόνου τα οποία είναι ικανά να προκαλέσουν βλάβη των ιστών<sup>25</sup> και καταστροφή του DNA<sup>26</sup>. Παρ' όλα αυτά, σε μια προηγούμενη μελέτη, δεν υπήρχε συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του NO στον εκπνεόμενο αέρα και της συγκέντρωσης του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα<sup>27</sup>. Αυτό ενδεχομένως θα μπορούσε να ερ-

μηνευθεί από τη θεωρία ότι είναι ακαθόριστο τι αναλογία από τη συνολική παραγωγή του NO αντανακλάται από το εκπνεόμενο σε αέρια μορφή NO<sup>28</sup> και επιπλέον είναι πιο λογικό να συγκριθούν υλικά τα οποία λαμβάνονται με την ίδια μέθοδο. Περισσότερες μελέτες είναι αναγκαίες προς αυτή την κατεύθυνση, αφού το NO αντιδρά με το H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> προς σχηματισμό υπεροξειδίου του αζώτου και στη συνέχεια νιτροτυροσίνης, με τη μέτρηση της τελευταίας να αποτελεί ενδεχομένως το συνδετικό κρίκο μεταξύ των δύο ουσιών.

Συνοψίζοντας, δείξαμε την παρουσία υψηλών επιπέδων παραγώγων του NO στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα ασθενών με βρογχικό άσθμα. Η μέτρηση των επιπέδων των NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> και του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> στο συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα ενδεχομένως να αποδειχθεί κλινικά χρήσιμη ως προς τη συνολική αξιολόγηση της φλεγμονής των αεραγωγών σε ασθενείς με βρογχικό άσθμα.

## SUMMARY

### *Total nitrite/nitrate in expired breath condensate of patients with asthma*

**K. Ganas, S. Loukides, G. Papatheodorou, K. Kostikas, K. Psathakis, P. Panagou, N. Kalogeropoulos**

*Production of Nitric Oxide (NO) is generally increased during inflammatory diseases, including asthma. The eventual fate of NO is oxidation to nitrite (NO<sub>2</sub>) and nitrate (NO<sub>3</sub>), end products of NO metabolism. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> is increased in exhaled breath condensate of asthmatic subjects and may be used as a noninvasive marker of oxidative stress. NO has in some cases been shown to attenuate oxidant-induced lung injury. Total NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> concentration and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> levels were measured in expired breath condensate in 50 clinically stable asthmatics [all males, all atopics, mean age 22 (3) SD yrs, FEV<sub>1</sub> 91 (10) % pred, PD<sub>20</sub> to histamine 0.262 (0,16) pg, 20 on inhaled steroids, 20 smokers all steroid naïve] and in 10 normal non atopic subjects [all males, age 23 (4) yrs, FEV<sub>1</sub> 101 (14)% pred, PD<sub>20</sub> to histamine 1.3 (0.55) pg]. NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> levels were significantly higher in patients with asthma compared to normal subjects (1.08, 95% CI 0.86-1.3 μM vs 0.6, 95% CI 0,46-0,8, p <0.001). Patients who were on inhaled steroids had significantly lower values compared to steroid naïve (0.71, 95% CI 0,55-0,87 μM vs 1.33, 95% CI 1-1.65 μM, p <0.001). Similar results were observed between smokers and non smokers (1,11, 95% CI 0.74-1.47 μM vs 1.77, 95% CI 1,1-2,4 μM, p <0,0001). There was a significant positive correlation between NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> levels and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration in expired breath condensate (r=0,48, p <0,0001). No correlation was observed between NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> levels, airway obstruction and bronchial hyperreactivity as assessed by PD<sub>20</sub> to histamine. Total NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> levels in expired breath condensate are increased in patients with stable asthma and are significantly related to oxidative stress as assessed by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration. Measurement of expired breath NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> levels may be clinically useful in the management of oxidation and inflammation mediated lung injury. **Pneumon 2001, 14(3):224-231.***

**Key words:** Bronchial asthma, oxidative inflammation, nitrite/nitrate, condensate, hydrogen peroxide

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Kharitonov SA, Yates D, Robbins RA, Logan-Sinclair R, Shinebourne EA, Barnes PG. Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Lancet* 1994, 343:133-135.
2. Ichiropoulos H. Biological tyrosine nitration: a pathophysiological function of nitric oxide and reactive oxygen species. *Arch Biochem Biophys* 1998, 356:1-11.
3. Kroncke KD, Fehsei K, Kolb-Bachofen V. Nitric oxide: cytotoxicity versus cytoprotection-how, why, when, and where? *Nitric Oxide Biol Chem* 1997 1:107-120.
4. Gaston B, Drazen JM, Loscalzo J, Stamler JS. The biology of nitrogen oxides in the airways. *Am J Respir Crit Care Med* 1994, 149:538-551.
5. Dohlman AW, Black HR, Royal JA. Expired breath hydrogen peroxide is a marker of acute airway inflammation in paediatric patients with asthma. *Am Rev Respir Dis* 1993, 148:955-960.
6. Barnes PJ. Reactive oxygen species and airway inflammation. *Free Rad Biol & Med* 1990, 9:235-243.
7. Kanazawa H, Shoji S, Yamada M, et al. Increased levels of nitric oxide in induced sputum in patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1997, 99:624-629.
8. American Thoracic Society Standards for the diagnosis and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and asthma. *Am Rev Respir Dis* 1987, 136:225-244.
9. Jobsis Q, Raatgeep HC, Schellekens SL, et al. Hydrogen peroxide in exhaled air of healthy children: reference values. *Eur Respir J* 1998, 12:483-485.
10. Moshage H, Kok B, Huizeng R, Jansen P. Nitrate and nitrite determination in plasma. A Critical Evaluation. *Clin Chem* 1995, 41:892-896.
11. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate/nitrite and [N] nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 1982, 126:131-138.
12. Dekhuijzen RPN, Aben KKH, Dekker I, Aarts LPHJ, Wielders PLML, Van Herwaarden CLA. Increased exhalation of hydrogen peroxide in patients with stable and unstable chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1996, 154:813-816.
13. Gallati H, Pracht I. Horseradish peroxidase: kinetic studies and optimization of peroxidase activity determination using the substrates  $N_2O_2$  and 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine. *J Clin Chem Clin Biochem* 1985, 23:453-460.
14. Arias-Diaz J, Vara E, Torres-Melero J, et al. Nitrite/nitrate and cytokine levels in bronchoalveolar lavage fluid of lung cancer patients. *Cancer* 1994, 74:1546-1551.
15. Pheng LH, Francoeur C, Denis M. The involvement of nitric oxide in a mouse model of adult respiratory distress syndrome. *Inflammation* 1995, 19:599-610.
16. Kanazawa H, Shoji S, Yoshikawa T, Hirata K, Yoshikawa J. Increased production of endogenous nitric oxide in patients with bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Exp Allergy* 1998, 28:1244-1250.
17. Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled nitric oxide: a marker of airway inflammation? *Current Opinion in Anaesthesiology* 1996, 9:542-548.
18. Kharitonov SA, Alving K, Barnes PJ. Exhaled and nasal nitric oxide measurements: recommendations. *Eur Respir J* 1997, 10:1683-1693.
19. Henriksen AH, Lingaus-Holmen T, Sue-Chue M, Brenner L. Combined use of exhaled nitric oxide and airway hyperresponsiveness in characterizing asthma in a large population survey. *Eur Respir J* 2000, 15:849-855.
20. Jatakanov A, Lin S, Kharitonov SA, Chung FK, Barnes PJ. Correlation between exhaled NO sputum EOS and bronchial responsiveness in patients with mild asthma. *Thorax* 1998, 53:91-95.
21. Gratziou CH, Lignos M, Dassiou M, Roussos CH. Influence of atopy on exhaled NO in patients with stable asthma and rhinitis. *Eur Respir J* 1999, 14:897-890.
22. Mercer RR, Costa DL, Crapo JD. Effects of prolonged exposure to low doses of nitric oxide or nitrogen dioxide on the alveolar septa of the adult rat lung. *Lab Invest* 1995, 73:20-28.
23. Freeman B. Free radical chemistry of nitric oxide. Looking at the dark side. *Review Chest* 1994, 105: Suppl. 79S-84S.
24. Hugod C. Ultrastructural changes of the rabbit lung after a 5 ppm nitric oxide exposure. *Arch Environ Health* 1979, 34:12-17.
25. Weinberger B, Fakhrzadeh L, Heck DE, Laskin JD, Gardiner CR, Laskin D. Inhaled nitric oxide primes lung macrophages to produce reactive oxygen and nitrogen intermediates. *Am J Respir Crit Care Med* 1998, 158:931-938.
26. Wiseman H, Halliwell B. Damage to DNA by reactive oxygen and reactive species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochem J* 1996, 313:17-29.
27. Horvath I, Donnelly LE, Kiss A, et al. Combined use of exhaled hydrogen peroxide and nitric oxide in monitoring asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998, 158:1042-1046.
28. Ho LP, Innes JA, Greening AP. Nitrite levels in breath condensate of patients with cystic fibrosis is elevated in contrast to exhaled nitric oxide. *Thorax* 1998, 53:680-684.

# Η δραστηριότητα της υπεροξειδικής δισμουτάσης στο αίμα ασθενών με κρίση βρογχικού άσθματος: Συσχέτιση με τη βαρύτητα της νόσου

Κ. Κατσούλης<sup>1</sup>,  
Θ. Κοντακιώτης<sup>1</sup>,  
Ε. Ενωτιάδου<sup>2</sup>,  
Μ. Κοντογιώργη<sup>3</sup>,  
Α. Μπάστας<sup>3</sup>,  
Α. Γονής<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Πνευμονολογική κλινική 424 Γενικού Στρατιωτικού Νοσοκομείου Θεσσαλονίκης, <sup>2</sup>Ειδικό βιοχημικό εργαστήριο ΝΝΘΑ, <sup>3</sup>4<sup>η</sup> Πνευμονολογική κλινική ΝΝΘΑ

Λέξεις κλειδιά: Οξειδωτικό stress, αντιοξειδωτικά, υπεροξειδική δισμουτάση, κρίση βρογχικού άσθματος, κριτήρια βαρύτητας

Αλληλογραφία:  
Κωνσταντίνος Κατσούλης, Λαχανά 30, Θεσσαλονίκη 54 638, τηλ.: 031-858910, κιν. 0944-670388  
E-mail: [kfocus@otenet.gr](mailto:kfocus@otenet.gr)

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ.** Σκοπός της εργασίας αυτής ήταν η μέτρηση της δραστηριότητας της υπεροξειδικής δισμουτάσης (superoxide dismutase=SOD), ως αντιοξειδωτικού ενζύμου, στο πλάσμα ασθενών με κρίση βρογχικού άσθματος που απαιτούσε εισαγωγή σε Νοσοκομείο. Μελετήθηκαν 14 ασθενείς (2 άνδρες-12 γυναίκες) ηλικίας  $58 \pm 3,4$  ετών, στους οποίους καταγράφονταν ο βιαίως εκπνεόμενος όγκος αέρα στο πρώτο δευτερόλεπτο ( $FEV_1$ ) και η μερική πίεση οξυγόνου στο αρτηριακό αίμα ( $PaO_2$ ) τις ημέρες εισόδου και εξόδου από το Νοσοκομείο, καθώς και η δραστηριότητα της SOD στο πλάσμα με χρωματομετρική μέθοδο, επίσης κατά την είσοδο και έξοδο των ασθενών. Επιπροσθέτως γινόταν καταγραφή κριτηρίων βαρύτητας κατά την είσοδο, με βάση την ανάγκη για καθιστή θέση, τη δυσκολία ομιλίας, τη χρήση επικουρικών μυών, το συριγμό, τον αριθμό των αναπνοών, τον αριθμό των σφύξεων και την παρουσία παράδοξου σφυγμού. Τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση της SOD κατά την είσοδο των ασθενών σε σχέση με τις τιμές εξόδου, η οποία ήταν στατιστικώς σημαντική ( $46,6 \pm 9$  u/ml και  $100 \pm 15$  u/ml αντιστοίχως,  $p=0,0002$ ) γεγονός που επιβεβαιώνει την παρουσία οξειδωτικού stress σε ασθενείς με κρίση βρογχικού άσθματος. Δεν διαπιστώθηκε συσχέτιση των μετρήσεων της SOD με τα κριτήρια βαρύτητας. Διαπιστώθηκε όμως στατιστικά σημαντική συσχέτιση της SOD με την  $FEV_1$  εισόδου (% προβλεπομένης τιμής) ( $r=0,57$ ,  $p=0,03$ ) καθώς και της SOD εισόδου με την  $PaO_2$  εξόδου ( $r=0,55$ ,  $p=0,04$ ). Φαίνεται λοιπόν ότι η δραστηριότητα της υπεροξειδικής δισμουτάσης στο πλάσμα θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης οξειδωτικού stress σε κρίση άσθματος και ενδεχομένως και ως ένας επιπλέον δείκτης βαρύτητας της νόσου. *Πνεύμων* 2001, 14(3):232-237.

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το 95% του οξυγόνου που φθάνει στα κύτταρα υφίσταται σταδιακή τετρασθενή αναγωγή με πρόσληψη τεσσάρων ηλεκτρονίων που παράγονται στον κύκλο του Krebs, με ταυτόχρονη παραγωγή ενεργείας από την οξειδωτική φωσφορύλωση. Το υπόλοιπο όμως 5% υφίσταται μονοσθενή αναγωγή που οδηγεί στο σχηματισμό ελευθέρων ριζών οξυγόνου, μορίων που ελευθερώνονται μέσα στο κύτταρο ή διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη και μεταφέρονται σε άλλα σημεία του σώματος<sup>1</sup>.

Οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου παρουσιάζουν υψηλή χημική δραστηριότητα και μπορούν να επηρεάσουν τη φυσιολογική κυτταρική λειτουργία. Δυνητικά κυτταροτοξικές θεωρούνται: Το υπεροξειδικό ανιόν ( $O_2^-$ ), η υδροϋπεροξειδική ρίζα ( $HO_2$ ), το υπεροξειδίο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ), η υδροξυλική ρίζα ( $OH^\cdot$ ) και η λιποϋπεροξειδική ρίζα ( $LOO^\cdot$ )<sup>1</sup>.

Απέναντι στο οξειδωτικό stress ο ανθρώπινος οργανισμός διαθέτει αρκετές γραμμές άμυνας με πρώτη την παρουσία ενζύμων, όπως η υπεροξειδική δισμουτάση (Superoxide Dismutase = SOD) η οποία καταλύει τη μετατροπή του υπεροξειδικού ανιόντος σε υπεροξειδίο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ) και σε οξυγόνο κατά την αντίδραση:  $2O_2 + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$ . Υπάρχουν τρεις μορφές της SOD ανάλογα με το είδος του μετάλλου που περιέχεται στο μόριο της (χαλκός/ψευδάργυρος, μαγνήσιο, σίδηρος). Η πρώτη από αυτές (Cu/Zn-SOD) θεωρείται ότι παίζει σπουδαιότερο ρόλο και ανευρίσκεται στο κυτταρόπλασμα πολλών κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων και των ερυθρών αιμοσφαιρίων του αίματος<sup>2</sup>.

Η παρουσία οξειδωτικού stress έχει αποδειχθεί σε μεγάλο αριθμό νοσημάτων που αφορούν σε διάφορα συστήματα του οργανισμού, συμπεριλαμβανομένου και του αναπνευστικού, είτε με την ανεύρεση αυξημένου φορτίου οξειδωτικών ουσιών είτε με την ανεύρεση μειωμένης αντιοξειδωτικής ικανότητας είτε τέλος, με την αντίχληση προϊόντων βλάβης από τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, όπως για παράδειγμα προϊόντων λιπιδικής υπεροξειδωσής<sup>3-5</sup>.

Σκοπός της μελέτης μας ήταν η διερεύνηση του οξειδωτικού stress σε ασθενείς με κρίση βρογχικού άσθματος, ανιχνεύοντας μέρος του αντιοξειδωτικού μηχανισμού μέσω προσδιορισμού της δραστηριότητας της Cu/Zn-SOD των ερυθρών αιμοσφαιρίων και η πιθανή συ-

σχέτιση με κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα που χρησιμοποιούνται στην εκτίμηση της βαρύτητας του άσθματος.

## ΥΛΙΚΟ-ΜΕΘΟΔΟΣ

Μελετήθηκαν 14 ασθενείς με ιστορικό βρογχικού άσθματος (2 άνδρες-12 γυναίκες) ηλικίας  $58 \pm 3,4$  ετών, οι οποίοι εισήχθησαν σε πνευμονολογικές κλινικές λόγω σοβαρής παροξύνσεως της νόσου τους.

Οκτώ από αυτούς έπασχαν από ενδογενές βρογχικό άσθμα ενώ οι υπόλοιποι έξι από εξωγενές. Η συχνότερη αιτία παροξύνσεως της νόσου τους ήταν λοίμωξη του κατώτερου ή ανώτερου αναπνευστικού. Κανένας από τους ασθενείς δεν ελάμβανε προ της εισαγωγής του φάρμακα τα οποία μειώνουν την παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου όπως τριμεταζιδίνη, μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη, ακετυλοσαλικυλικό οξύ, νιμεσουλίδη ούτε εμφάνιζαν τιμές σακχάρου  $> 150$  mg/dl που θα μπορούσαν να αυξήσουν την παραγωγή των ελευθέρων ριζών ως αποτέλεσμα αυτοξειδώσεως της γλυκόζης.

Την ημέρα εισόδου και εξόδου γινόταν λήψη αρτηριακού αίματος για προσδιορισμό της  $PaO_2$ , εισπνεόμενος ατμοσφαιρικός αέρας επί τουλάχιστον 20 λεπτά και λήψη φλεβικού αίματος για τον κοινό αιματολογικό και βιοχημικό έλεγχο. Από το τελευταίο, 5 ml του δείγματος λαμβάνονταν σε ηπαρινισμένη σύριγγα και αποστέλλονταν στο Ειδικό Βιοχημικό Εργαστήριο.

Κατά τις ημέρες εισόδου και εξόδου γινόταν σπирομέτρηση και καταγραφή του  $FEV_1$ , ενώ κατά την είσοδο γινόταν καταγραφή και βαθμολόγηση κριτηρίων βαρύτητας με βάση την εξής κλίμακα: α) Ανάγκη για καθιστή θέση: 0-1, β) δυσκολία ομιλίας: 0-1, γ) χρήση επικουρικών μυών: 0-1, δ) συριγμός: 0-1, ε) αναπνοές ανά min: 15-20=0, 20-30=1,  $>30=2$ , στ) σφύξεις:  $<110$ /min=0, 110-150/min=1,  $>150$ /min=2, 3) παράδοξος συριγμός:  $<15$  mmHg=0, 15-20=1, 20-30=2,  $>30=3$  (σύνολο κλίμακας 0-11).

Κριτήριο για την εισαγωγή τους στο νοσοκομείο ήταν η χαμηλή  $FEV_1$  ( $<60\%$  προβλεπόμενης) ή η σοβαρή υποξυγοναιμία ( $PaO_2 < 60$  mmHg) ή η παρουσία έστω και ενός από τα κριτήρια βαρύτητας ή η μη κλινική βελτίωση του ασθενούς μετά από εντατική φαρμακευτική αγωγή στο τμήμα Επειγόντων Περιστατικών.

Κατά τη νοσηλεία τους, όλοι οι ασθενείς τέθηκαν σε

αγωγή με εισπνεόμενα βρογχοδιασταλτικά ( $\beta_2$ -διεγέρτες, βρωμιούχο ιπρατρόπιο) μέσω νεφελοποιητή, κορτικοειδή από το στόμα ή παρεντερικά, αντιβιοτικά όπου απαιτούνταν και θεοφυλλίνη κατά περίπτωση. Σε όλους έγινε συμπληρωματική χορήγηση  $O_2$  χωρίς όμως η συγκέντρωση να ξεπεράσει το 40% ( $FiO_2 \leq 0,40$ ).

### Μέθοδος

Ο προσδιορισμός της δραστηριότητας της υπεροξειδικής δισμουτάσης στο πλάσμα έγινε με τη χρήση του Ransod kit της Βρετανικής εταιρείας Randox. Πρόκειται για χρωματομετρική μέθοδο η οποία χρησιμοποιεί την ξανθίνη και την οξειδάση της ξανθίνης για την παραγωγή υπεροξειδικών ριζών που αντιδρούν με άλατα του p-ιωδονιτροεταζολίου (INT), με αποτέλεσμα την παραγωγή της ερυθράς χρωστικής φορμαζάνης. Η ύπαρξη της SOD στο δείγμα ανταγωνίζεται το INT στη σύνδεση με τις υπεροξειδικές ρίζες και έτσι εμποδίζει την παραγωγή της χρωστικής. Η μέτρηση της δραστηριότητας της SOD γίνεται από το βαθμό αναστολής του σχηματισμού της χρωστικής.

Αρχικώς γίνεται φυγοκέντρηση 0,5 ml ηπαρινισμένου ολικού αίματος για 10 min στις 3000 στροφές. Στη συνέχεια απομακρύνεται το πλάσμα, γίνεται πλύση των ερυθροκυττάρων με διάλυμα 0,9% NaCl και προστίθεται κρύο νερό μέχρι το προς αιμόλυση διάλυμα να γίνει

2 ml. Το δείγμα στη συνέχεια φυλάσσεται στους 4°C για 15 min. Τέλος, γίνεται αραιώση του διαλύματος (στο οποίο έχουν “λυθεί” τα ερυθροκύτταρα) με διάλυμα phosphate buffer pH=7,0.

Η μέτρηση γίνεται σε φασματοφωτόμετρο, σε θερμοκρασία 37°C και μήκος κύματος 505 nm. Από τις απορροφήσεις υπολογίζουμε την επί τοις εκατόν παρεμπόδιση του σχηματισμού της χρωστικής. Στη συνέχεια, με βάση τα standards που περιέχονται στο kit και αφού υπολογίσουμε την επί τοις εκατόν παρεμπόδιση για καθένα από αυτά, κατασκευάζουμε μια πρότυπη καμπύλη. Χρησιμοποιώντας τώρα αυτή την καμπύλη των standards και βρίσκοντας για το κάθε δείγμα την επί τοις εκατόν παρεμπόδιση που μετρήσαμε, παίρνουμε για το δείγμα αυτό, στον άλλο άξονα της καμπύλης, την τιμή δραστηριότητας της SOD σε units/ml δείγματος.

### Στατιστική ανάλυση

Οι τιμές εκφράζονται ως μέση τιμή SEM.

Για τη στατιστική ανάλυση των τιμών της SOD εισόδου-εξόδου χρησιμοποιήθηκε το student t-test. Για τη στατιστική συσχέτιση της SOD εισόδου με  $FEV_1$ ,  $PaO_2$  και κριτήρια βαρύτητας χρησιμοποιήθηκε το Pearson Product Moment Correlation Test. Το p θεωρήθηκε στατιστικά σημαντικό σε τιμές < 0,05.

Πίνακας 1. Τιμές SOD πλάσματος κατά την εισαγωγή και την έξοδο από το νοσοκομείο

| Ασθενής | SOD στην εισαγωγή | SOD στην έξοδο | $FEV_1\%$ στην εισαγωγή | $FEV_1\%$ στην έξοδο | $PaO_2$ στην εισαγωγή | $PaO_2$ στην έξοδο |
|---------|-------------------|----------------|-------------------------|----------------------|-----------------------|--------------------|
| 1       | 42,80             | 111,32         | 38,83%                  | 62,27%               | 81                    | 92                 |
| 2       | 17,90             | 59,90          | 32,18%                  | 54,46%               | 64                    | 75                 |
| 3       | 25,20             | 107,00         | 40,91%                  | 60,91%               | 61                    | 76                 |
| 4       | 17,90             | 33,60          | 47,85%                  | 67,48%               | 60                    | 64                 |
| 5       | 16,30             | 27,70          | 25,42%                  | 62,50%               | 47                    | 70                 |
| 6       | 17,90             | 40,20          | 28,25%                  | 50,85%               | 60                    | 80                 |
| 7       | 22,90             | 60,00          | 54,31%                  | 59,93%               | 51                    | 71                 |
| 8       | 103,40            | 245,60         | 50,00%                  | 55,00%               | 57                    | 81                 |
| 9       | 52,20             | 124,00         | 57,00%                  | 62,80%               | 50                    | 67                 |
| 10      | 130,20            | 129,80         | 57,00%                  | 61,00%               | 65                    | 93                 |
| 11      | 72,00             | 119,00         | 62%                     | 78,20%               | 67                    | 82                 |
| 12      | 39,80             | 148,80         | 35,00%                  | 61,00%               | 70                    | 88                 |
| 13      | 42,00             | 82,30          | 57,00%                  | 98,00%               | 62                    | 68                 |
| 14      | 54,60             | 113,00         | 43,00%                  | 65,00%               | 60                    | 85                 |

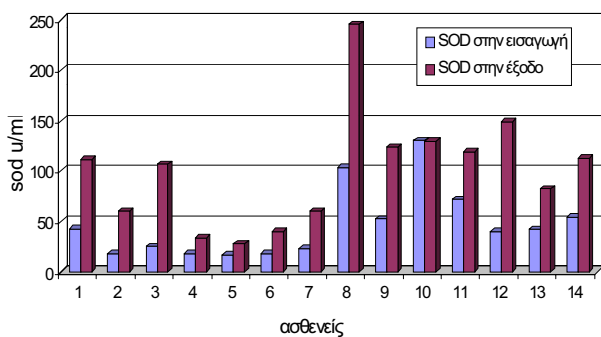
## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Οι τιμές SOD πλάσματος σε u/ml κατά την είσοδο και έξοδο των ασθενών από το νοσοκομείο φαίνονται αναλυτικά για κάθε ασθενή στον Πίνακα 1. Στον ίδιο πίνακα φαίνονται επίσης οι τιμές FEV<sub>1</sub> σε επί τοις εκατόν της προβλεπόμενης τιμής καθώς και οι τιμές της PaO<sub>2</sub> σε mmHg. Πιο συγκεκριμένα οι τιμές FEV<sub>1</sub> τις ημέρες εισόδου και εξόδου ήταν 52±4% προβλεπόμενης και 71±4% προβλεπόμενης αντιστοίχως. Οι τιμές PaO<sub>2</sub> ήταν 61±2 mmHg και 76±3 mmHg αντιστοίχως.

Τέλος η βαθμολόγηση των κριτηρίων βαρύτητας κατά την είσοδο ήταν 2,2±0,7. Σε ό,τι αφορά τις τιμές της SOD αυτές ήταν μειωμένες κατά την είσοδο και αυξημένες κατά την έξοδο των ασθενών (46,6 ± 9 u/ml και 100±15 u/ml αντιστοίχως), διαφορά η οποία βρέθηκε ότι ήταν και στατιστικά σημαντική (p=0,0002) (Σχήμα 1). Δεν διαπιστώθηκε συσχέτιση μεταξύ των μετρήσεων της SOD εισόδου και των κριτηρίων βαρύτητας (r=0,125, p=0,670). Αντιθέτως διαπιστώθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ της SOD εισόδου και της FEV<sub>1</sub> (% της προβλεπόμενης τιμής) (r=0,57, p=0,033) (Σχήμα 2) αλλά και μεταξύ της SOD εισόδου και της PaO<sub>2</sub> εξόδου (r=0,55, p=0,04) (Σχήμα 3).

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η μελέτη αυτή ανέδειξε μειωμένη δραστηριότητα της SOD των ερυθρών αιμοσφαιρίων σε ασθενείς με κρίση άσθματος. Η δραστηριότητα αυτή αυξάνεται παράλληλα με τη βελτίωση της νόσου. Συσχέτιση της δραστηριότητας της SOD βρέθηκε με την FEV<sub>1</sub> κατά την είσοδο των ασθενών στο νοσοκομείο, αλλά και με την PaO<sub>2</sub> κατά την έξοδό τους απ' αυτό.

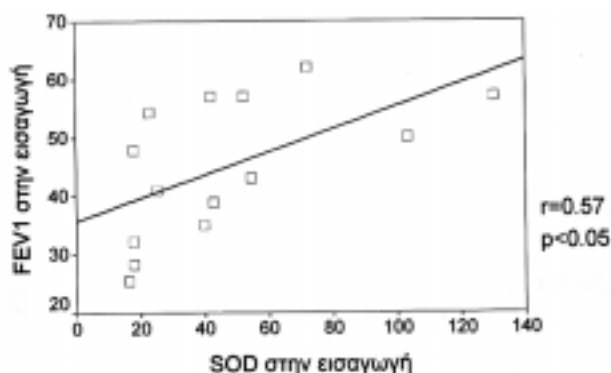


Σχήμα 1. Σύγκριση SOD στην εισαγωγή και την έξοδο

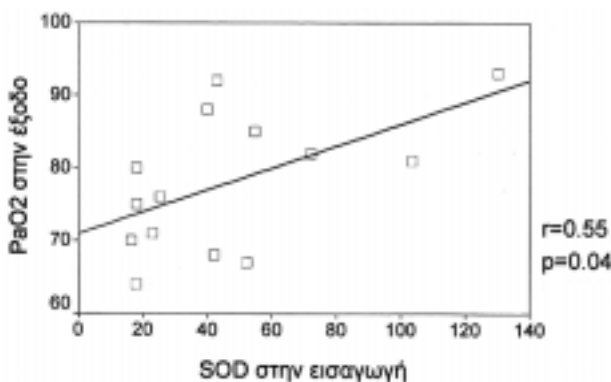
Ανάλογα αποτελέσματα αναφέρονται από τους Tekin και συν. σε μια μελέτη 12 ασθενών με ήπιο άσθμα. Το συμπέρασμά τους ήταν ότι η μειωμένη δραστηριότητα της SOD των ερυθρών αιμοσφαιρίων μπορεί να συμβάλλει στην παθογένεια του ήπιου άσθματος<sup>6</sup>. Οι Fenech και συν. βρήκαν επίσης μειωμένη δραστηριότητα της SOD ερυθροκυττάρων τόσο σε ήπιο όσο και σε σοβαρό άσθμα<sup>7</sup>.

Αντιθέτως, οι Powell και συν. δεν διαπίστωσαν σημαντικές διαφορές στη δραστηριότητα της SOD ερυθροκυττάρων σε παιδιά με άσθμα. Η μελέτη όμως αυτή αφορούσε σε ασθενείς με σταθεροποιημένο ελεγχόμενο άσθμα και όχι σε παρόξυνση<sup>8</sup>.

Οι Smith και συν. διερεύνησαν την αντιοξειδωτική ικανότητα πνευμονικών κυττάρων από ασθματικούς ασθενείς και βρήκαν μειωμένη τη δραστηριότητα της SOD σε κύτταρα που ελήφθησαν με βρογχοκυψελιδική



Σχήμα 2. Συσχέτιση μεταξύ SOD στην εισαγωγή και FEV<sub>1</sub> στην εισαγωγή



Σχήμα 3. Συσχέτιση μεταξύ SOD στην εισαγωγή και PaO<sub>2</sub> στην έξοδο

έκπλυση ή με ξέσματα βρογχικού βλεννογόνου<sup>9</sup>. Ανάλογα αποτελέσματα αναφέρονται από τους De-Raevae και συν. οι οποίοι βρήκαν μειωμένη δραστηριότητα της Cu/Zn-SOD σε επιθήλιο αεραγωγών ασθενικών ασθενών και μάλιστα σε όσους δεν ήταν σε θεραπεία με εισπνεόμενα στεροειδή. Η δραστηριότητα του ενζύμου διορθώθηκε με τη χορήγηση στεροειδών και η αρχική μείωση αποδόθηκε στη φλεγμονή που χαρακτηρίζει το άσθμα, πιθανώς λόγω απενεργοποίησής του συγκεκριμένου ενζύμου<sup>10</sup>.

Η δραστηριότητα της SOD στο άσθμα έχει επίσης διερευνηθεί, με έμμεσο τρόπο, μέσω ανιχνεύσεως αυξημένης παραγωγής υπεροξειδικών ανιόντων που αποτελούν και το μόριο-στόχο για τη δράση του συγκεκριμένου ενζύμου. Έτσι οι Majori και συν. βρήκαν ότι τα μονοκύτταρα του αίματος από ασθενείς με μη ελεγχόμενο άσθμα απελευθερώνουν μεγάλες ποσότητες υπεροξειδικών ανιόντων<sup>11</sup>. Ανάλογα αποτελέσματα αναφέρονται από τους Sedwick και συν. για τα ηωσινόφιλα σε ασθενείς με ήπιο άσθμα<sup>12</sup>. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει μελέτη των Kanazawa και συν. στην οποία διαπίστωσαν ότι η απελευθέρωση υπεροξειδικών ανιόντων από τα ουδετερόφιλα του αίματος αυξάνει κατά την παρόξυνση του άσθματος, ενώ διαπιστώθηκε και αρνητική συσχέτιση με τον FEV<sub>1</sub><sup>13</sup>.

Ο ρόλος των ελευθέρων ριζών οξυγόνου στην παθογένεια του άσθματος και ειδικότερα στη δημιουργία της φλεγμονής που χαρακτηρίζει τη νόσο θεωρείται σημαντικός<sup>14,15</sup>. Υπάρχουν επίσης στοιχεία που συνδέουν την παραγωγή ελευθέρων ριζών, όπως το υπεροξειδικό ανιόν, με το βαθμό της βρογχικής υπεραντιδραστικότητας στο άσθμα<sup>16</sup>. Τα στοιχεία αυτά συνηγορούν για τον άμεσο ή έμμεσο ρόλο που διαδραματίζει η παραγωγή των υπεροξειδικών ανιόντων και συνεπώς και της SOD, που εξουδετερώνει τη δράση τους, στη ρύθμιση της βρογχικής υπεραντιδραστικότητας και στη δημιουργία του

βρογχόσπασμου. Επίσης υπάρχουν στοιχεία για την επίπτωση αντιοξειδωτικών ουσιών των τροφών στην εμφάνιση βρογχικής υπεραντιδραστικότητας<sup>17</sup>.

Η μειωμένη λήψη αντιοξειδωτικών με τις τροφές έχει θεωρηθεί και ως προδιαθεσικός παράγοντας για την αυξημένη επίπτωση του άσθματος, καθιστώντας πιθανή την ανάγκη για χρήση αντιοξειδωτικών στη θεραπεία αυτής της νόσου<sup>17</sup>. Οι Assa'ad και συν. χορήγησαν συνθετική υπεροξειδική δισμουτάση σε πειραματόζωα με χρόνιο αλλεργικό άσθμα και κατέγραψαν βελτίωση στην υπεραντιδραστικότητα των αεραγωγών, αλλά όχι σημαντική επίδραση στη φλεγμονή<sup>18</sup>.

Δείκτες οξειδωτικού stress στο άσθμα έχουν ανιχνευθεί στο αίμα, στο βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα, σε βρογχικά κύτταρα και σε εκπνεόμενο αέρα<sup>4,9,10,19</sup>. Αν και οι δείκτες του αίματος δεν αντανακλούν άμεσα την τοπική οξειδωτική και αντιοξειδωτική κατάσταση στους πνεύμονες, άλλες μέθοδοι όπως η βρογχοσκόπηση (για λήψη βρογχοκυψελιδικού εκπλύματος ή βρογχικών επιθηλιακών κυττάρων) ή το συμπύκνωμα του εκπνεόμενου αέρα, ίσως είναι αδύνατον ή πρακτικά πολύ δύσκολο να εφαρμοστούν σε ασθενείς με κρίση βρογχικού άσθματος.

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της δικής μας μελέτης συνηγορούν υπέρ της παρουσίας οξειδωτικού stress σε ασθενείς με κρίση βρογχικού άσθματος. Η συσχέτιση της δραστηριότητας της υπεροξειδικής δισμουτάσης των ερυθρών αιμοσφαιρίων με στοιχεία όπως η FEV<sub>1</sub> και η PaO<sub>2</sub>, ενδεχομένως να καθιστά τον προσδιορισμό του αντιοξειδωτικού αυτού ενζύμου χρήσιμο στην πληρέστερη εκτίμηση της βαρύτητας και της πρόγνωσης ασθενούς με κρίση βρογχικού άσθματος.

Εν τούτοις περισσότερες μελέτες απαιτούνται για να διερευνηθεί αφ' ενός η πραγματική σχέση των ελευθέρων ριζών οξυγόνου με το άσθμα και αφ' ετέρου η πιθανή χρήση αντιοξειδωτικών ουσιών στη θεραπεία της νόσου.

## SUMMARY

### *Plasma superoxide dismutase activity in patients with exacerbation of bronchial asthma*

**K. Katsoulis, Th. Kontakiotis, E. Enotiadou, M. Kontogiorgi, A. Bastas, A. Gonis**

*The aim of our study was to measure the activity of plasma superoxide dismutase as an antioxidant enzyme in patients with exacerbation of bronchial asthma who needed hospital admission. Fourteen patients were studied (2 men - 12 women), mean age 58 ± 3.4 years. Upon admission and discharge*

forced expired volume of air in the first second ( $FEV_1$ ), partial oxygen pressure in arterial blood ( $PaO_2$ ) and activity of superoxide dismutase (SOD) using a colorimetric method, were measured. Additionally, severity criteria were recorded upon admission, such as the patient's inability to lie down, difficulty to speak, use of accessory respiratory muscles, wheezing, respiratory and heart rate and presence of pulsus paradoxus. Results showed a statistically significant reduction of SOD activity ( $46,6 \pm 9$  u/ml and  $100 \pm 15$  u/ml respectively,  $p=0,0002$ ) as a consequence of oxidative stress and a statistically significant correlation between SOD and  $FEV_1$  upon admission and between SOD upon admission and  $PaO_2$  upon discharge. However, no correlation was found between SOD activity, and severity criteria. *Pneumon* 2001, 14(3):232-237.

**Key words:** Oxidative stress, antioxidants, superoxide dismutase, exacerbation of bronchial asthma, severity criteria

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Southorn P, Powis G. Free radicals in medicine I. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin Proc* 1988, 63:381-389.
2. Bast A, Haenen G, Doelman C. Oxidants and antioxidants: state of the art. *The American Journal of Medicine* Volume 1991, 91(suppl):3C-13S.
3. Davis Conference. Oxygen radicals and human disease. *Ann of Internal Medicine* 1987, 107:526-545.
4. Rahman I, Morrison D, Donaldson K, MacNee W. Systemic oxidative stress in asthma, COPD and smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 1996, 154:1055-1060.
5. Doelman C, Bast A. Oxygen radicals in lung pathology. *Free Radic Biol Med* 1990, 9(5):381-400.
6. Tekin D, Sin BA, Mungan D, Misirligi Z, Yavuzer S. The antioxidant defense in asthma. *J Asthma* 2000, 37(1):59-63.
7. Fenech AG, Ellul-Micallef R. Selenium, glutathione peroxidase and superoxide dismutase in maltese asthmatics; effect of glucocorticoid administration. *Pulm Pharmacol Ther* 1998, 11(4):301-8.
8. Powell CV, Nash AA, Powers PH, Primhak RA. Antioxidant status in asthma. *Pediatr Pulmonol* 1994, 18(1):1301-7.
9. Smith LJ, Shamsuddin M, Sporn PH, Denenberg M, Anderson J. Reduced superoxide dismutase in lung cells of patients with asthma. *Free Radic Biol Med* 1997, 18(1):130-7.
10. De-Raeve HR, Thunnissen FB, Kaneko FT, Guo FH, Lewis M, Kavuru MS, Sesic M, Thomassen MJ, Erzurum SC. Decreased Cu, Zn-SOD activity in asthmatic airway epithelium: correction by inhaled corticosteroid in vivo. *Am J Physiol* 1997, 272:148-54.
11. Majori M, Vachier I, Godard P, Farce M, Bousquet J, Chanaz P. Superoxide anion production by monocytes of corticosteroid-treated asthmatic patients. *Eur Respir J* 1998, 11(1):13-8.
12. Sedwick JB, Geiger KM, Busse WW. Superoxide generation of hypodense eosinophils from patients with asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990, 142:120-5.
13. Kanazawa H, Kurihara N, Hirata K, Takeda T. The role of free radicals in airway obstruction in asthmatic patients. *Chest* 1991, 100:1319-22.
14. Barnes PJ. Reactive Oxygen species and airway inflammation. *Free Radic Biol Med* 1990, 9:235-243.
15. Postma D, Renkema T, Noordhoek J, Faber H, Sluiter H, Kauffman H. Association between non specific bronchial hyperreactivity and superoxide anion production by polymorphonuclear leukocytes in chronic air flow obstruction. *Am Rev Respir Dis* 1988, 137:57-61.
16. Soutar A, Seaton A, Brown K. Bronchial reactivity and dietary antioxidants. *Thorax* 1997, 52(2):166-170.
17. Hatch G.E. Asthma, inhaled oxidants and dietary antioxidants. *Am J Clin Nutr* 1995, 6(3 suppl):625S-630S.
18. Assa'ad AH, Ballard ET, Sebastian KD, Loven DP, Boivin GP, Liehl MB. Effect of superoxide dismutase on a rabbit model of chronic allergic asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998, 80(3):215-24.
19. Barnes PJ, Kharitonov S. Exhaled nitric oxide: a new lung function test. *Thorax* 1996, 51:233-237.



# Ψευδοχυλοθώρακας σε άρρωστο με ρευματοειδή αρθρίτιδα

Θ. Τσικρίκας<sup>1</sup>,  
Κ. Καρακούσης,  
Κ. Κράπης,  
Π. Μπελίτσος,  
Ε. Μακρή,  
Λ. Σακκάς<sup>1</sup>,  
Κ.Ι. Γουργουλιάνης<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Α' Παθολογική Κλινική Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

**Λέξεις κλειδιά:** ψευδοχυλοθώρακας, ρευματοειδής αρθρίτιδα, πλευριτική αγωγή

Αλληλογραφία:  
Γουργουλιάνης Κων/νος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, 412 22 Λάρισα

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ.** Περιγράφεται ψευδοχυλοθώρακας σε ασθενή που έπασχε από ρευματοειδή αρθρίτιδα από δεκαετίας. Η διάγνωση βασίσθηκε στη μακροσκοπική εικόνα και στη σύσταση των λιπιδίων του πλευριτικού υγρού. *Πνεύμων 2001, 14 (3): 238-241.*

Ο Ψευδοχυλοθώρακας (ΨΧ) είναι σπάνια μορφή πλευριτικού εξιδρώματος. Αποτελεί ως υπεζωκοτική συλλογή ποσοστό μικρότερο του 0,5% όλων των πλευρίτιδων<sup>1</sup>. Ανευρίσκεται συνήθως ως πλευριτική συλλογή μακράς διάρκειας, σε υποτροπιάζουσες συλλογές και πολλές φορές είναι ασυμπτωματική<sup>2-4</sup>.

Ως αίτια αναφέρονται η φυματίωση (55%), ιδίως μετά από θεραπευτικό πνευμονοθώρακα, η ρευματοειδής αρθρίτιδα (40%), το νεόπλασμα (1%), η σύφιλη (1%) και η παραγονιμίαση (1%). Κύρια χαρακτηριστικά του πλευριτικού υγρού είναι η γαλακτόχρους χροιά χωρίς όμως πυοσφαίρια όπως στο εμπύημα. Η συγκέντρωση της χοληστερίνης είναι 145-4.500 mg/dl και μικροσκοπικά ανευρίσκονται κρύσταλλοι της. Τα τριγλυκερίδια είναι συνήθως ως 250 mg/dl και δεν ανευρίσκονται χυλομικρά στην ηλεκτροφόρηση, εύρημα που ενισχύει τη διάγνωση του ΨΧ<sup>5,6</sup>.

Σκοπός της παρουσίασης του ασθενούς ήταν η σπανιότητα και τα ιδιαίτερα κλινικοεργαστηριακά ευρήματά του.

## ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗΣ

Άρρωστος ηλικίας 65 ετών, γεωργός, καπνιστής, 10-15 τσιγάρα ημερησίως από 45 ετών, εισάγεται στην κλινική για διερεύνηση πλευριτικής συλλογής δεξιά.

Ο ασθενής επισκέφθηκε Κέντρο Υγείας προ 4 μηνών, στην ακτινογραφία θώρακα διαπιστώθηκε υπεζωκοτική συλλογή δεξιά και του συστήθηκε η εισαγωγή του σε νοσοκομείο για περαιτέρω διερεύνηση. Ο άρρωστος αρνήθηκε την παρακέντηση του θώρακα.

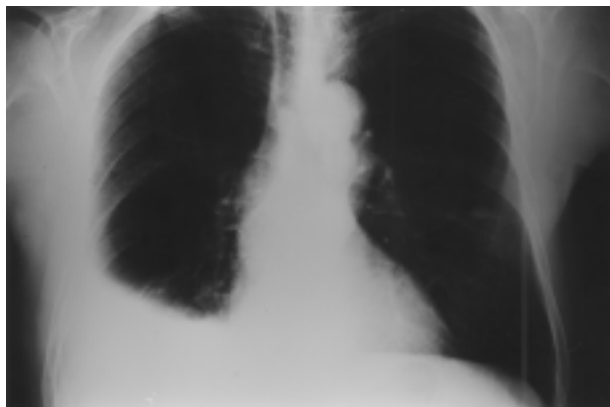
Ένα μήνα πριν την εισαγωγή του παρουσίασε επεισόδιο γριππώδους

συνδρομής (πυρετός 38,4° C με ρίγος) και βήχα παραγωγικό με βλεννοπυώδη απόχρεμψη που είχε διάρκεια 15 ημερών. Ακολούθως επισκέφθηκε πνευμονολόγο, ο οποίος με βάση τα ευρήματα της αρχικής ακτινογραφίας του θώρακα συνέστησε εισαγωγή στην κλινική.

Από το ατομικό αναμνηστικό αναφέρεται ρευματοειδής αρθρίτιδα (μεταναστευτική αρθραλγία, διάρκειας 3-7 ημερών, με περιορισμό της κινητικότητας της κάθε άρθρωσης που συνοδεύονταν με οίδημα και με σειρά προσβολής: κατ' όμον άρθρωση, αγκώνας, πηχεοκαρπική, γόνατα, σφυρά) από 10 χρόνια για την οποία είχε υποβληθεί τοπικά σε εγχύσεις κορτιζόνης καθώς και σε θεραπεία με άλατα χρυσού από του στόματος. Ο άρρωστος δεν ανέφερε πρωινή δυσκαμψία ούτε σημαντική απώλεια βάρους, αδυναμία, καταβολή δυνάμεων ή πυρετική κίνηση. Επιπρόσθετα αναφέρεται έλκος βολβού 12/δακτύλου από ετών και προ 4 ετών γαστρορραγία. Πριν από 7 χρόνια διαπιστώθηκε υπερθυρεοειδισμός και έλαβε θεραπεία με αντιθυρεοειδικά φάρμακα για 18 μήνες. Από την αντικειμενική εξέταση του ασθενούς διαπιστώνεται σημειολογία πλευριτικού υγρού δεξιού ημιθώρακιού (αμβλύτητα, μείωση φωνητικών δονήσεων και αναπνευστικού ψιθυρίσματος), ευαισθησία και περιορισμός της κινητικότητας της 2ης και 3ης μετακαρποφαγγικής άρθρωσης της αριστερής άκρας χειρός ως και μικρού βαθμού ωλένια απόκλιση των άκρων χειρών άμφω. Από τα άλλα συστήματα δεν ανευρέθησαν παθολογικά στοιχεία εκτός από διόγκωση του θυρεοειδούς αδένος διάχυτη, μαλακή, κινητή, χωρίς όζους και με σαφή όρια.

Η ακτινογραφία του θώρακα έδειξε μη σαφή διαγράφη του δεξιού ημιδιαφράγματος προφανώς λόγω παχυπλευριτιδικών στοιχείων ή ύπαρξης υγρού (Εικόνα 1). Συνδυασμός με ιστορικό και κλινική εικόνα α/φία άκρων χειρών - ποδών: χωρίς αξιολογικά ευρήματα, α/φία ΑΜΣΣ, ΘΜΣΣ, ΟΜΣΣ: χωρίς αξιολογικά ευρήματα. Γενική αίματος, γενική ούρων, βιοχημικές εξετάσεις: χωρίς παθολογικά ευρήματα.

Γενική πλευριτικού υγρού: κίτρινο, θολό υγρό, ειδικό βάρος: 1010, pH: 7,5, Hb: ίχνη, σάκχαρο: 13 mg/dl, LDH: 1830 IU/L, λεύκωμα: 9,39 g/dl, χοληστερίνη: 238 mg/dl, τριγλυκερίδια: 32 mg/dl. Rivalta: θετική (+), μεγάλη ποσότητα λιποσφαιρίων και κρυστάλλων χοληστερίνης. Το άμεσο παρασκεύασμα του πλευριτικού υγρού για B. Koch ήταν αρνητικό για οξείαντοχα βακτηρίδια.



Εικόνα 1. Ακτινογραφία θώρακος (βλέπε κείμενο)

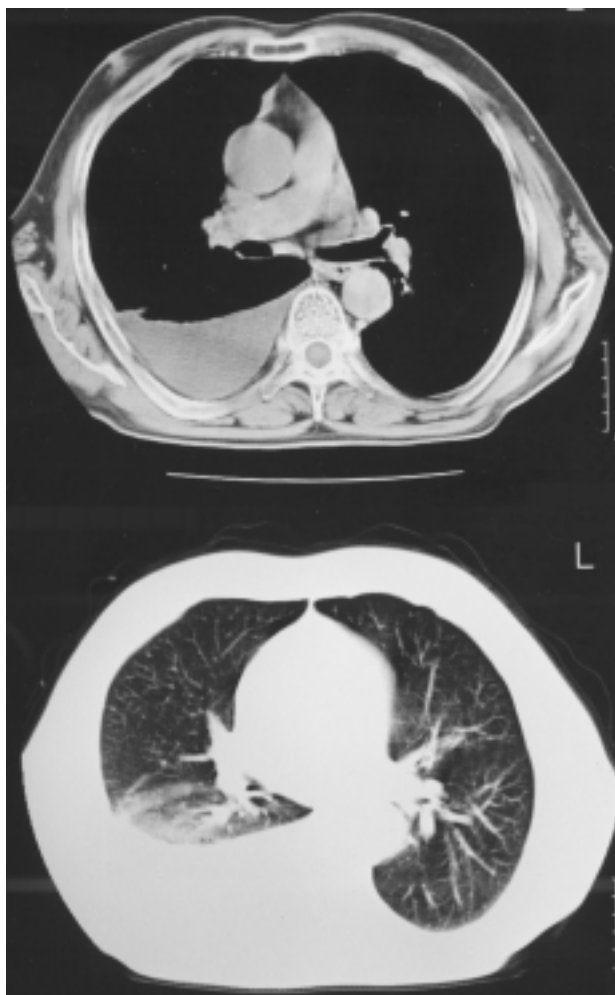
Η κυτταρολογική εξέταση του πλευριτικού υγρού έδειξε πολλά μεσοθηλιακά κύτταρα με εκφυλιστικές αλλοιώσεις, αρκετά λευκοκύτταρα και πολλούς κρυστάλλους χοληστερίνης. Δεν υπήρχαν κακοήθη κύτταρα. Η εξέταση των πτυέλων για B. Koch ήταν αρνητική.

Η CT θώρακος έδειξε απουσία, παθολογικά διογκωμένων λεμφαδένων από το μεσοθωράκιο. Μεγάλου βαθμού πλευριτική συλλογή δεξιά καθώς και εντός της σύστοιχης μεσολοβίου σχισμής. Ελάττωση όγκου του δεξιού πνεύμονα με υποαερισμό του πνευμονικού παρεγχύματος πάνω από την υπεζωκοτική συλλογή. Δεν βρέθηκε περικαρδιακό υγρό (Εικόνα 2).

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η περιγραφόμενη περίπτωση του αρρώστου πληροί όλα τα κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα ΨΧ σε έδαφος ρευματοειδούς αρθρίτιδας. Ο ΨΧ είναι σπάνια μορφή υπεζωκοτικής συλλογής και αποτελεί το 0,5% όλων των πλευριτικών εξιδρωμάτων ενώ λίγες μόνο περιπτώσεις περιγράφονται στη βιβλιογραφία. Μια πρόσφατη μεταανάλυση 172 ασθενών έδειξε ότι η ρευματοειδής αρθρίτις είναι σπανιότατη αιτία ΨΧ. Ο ΨΧ στη φυματίωση είναι συνήθως στείρος μικροβίων. Η βιοψία υπεζωκότα δεν συνεισφέρει στη διάγνωση. Η αποφλοιώση του υπεζωκότα προτείνεται ως τελευταία θεραπευτική ενέργεια στους συμπτωματικούς ασθενείς<sup>8</sup>.

Ευρήματα που συνηγορούν υπέρ του ΨΧ είναι η μακρά διάρκεια της υπεζωκοτικής συλλογής, το ιστορικό της ρευματοειδούς αρθρίτιδας, η γαλακτόχρους χροιά χωρίς πυοσφαίρια και η αυξημένη χοληστερίνη με τους



Εικόνα 2. Υπολογιστική τομογραφία θώρακος (βλέπε κείμενο)

κρυστάλλους αυτής στο μικροσκόπιο. Η διαφορική διάγνωση περιλαμβάνει το εμπύημα και το χυλοθώρακα. Τα αίτια που προκαλούν ΨΧ, τα ιδιαίτερα γνωρίσματα του πλευριτικού υγρού και οι διαφορές του από το χυλοθώρακα<sup>7</sup> φαίνονται στους πίνακες 1, 2, 3. Οι εξετάσεις που απαιτούνται για την τεκμηρίωση του χυλοθώρακα και του ψευδοχυλοθώρακα είναι: ο προσδιορισμός τριγλυκεριδίων και χοληστερίνης στο πλευριτικό υγρό, η ηλεκτροφόρηση των λιποπρωτεϊνών, η λεμφαγγειογραφία, η υπολογιστική τομογραφία θώρακα, η χορήγηση τροφής με χρωστική ενωμένη στα λιπίδια και η ανεύρεσή τους στο πλευριτικό υγρό.

Την τελευταία πενταετία στη βιβλιογραφία περιγράφονται περιπτώσεις<sup>9,10</sup> ΨΧ φυματιώδους αιτιολογίας,

Πίνακας 1. Αίτια<sup>5,6,8</sup>

| Χυλοθώρακα                                                      | %  | Ψευδοχυλοθώρακα        | %  |
|-----------------------------------------------------------------|----|------------------------|----|
| Λέμφωμα                                                         | 35 | Φυματίωση              | 55 |
| Τραύμα                                                          | 25 | Ρευματοειδής αρθρίτιδα | 40 |
| Νεόπλασμα                                                       | 20 | Καρκίνος               | 1  |
| Νεογνικός ιδιοπαθής                                             | 3  | Σύφιλη                 | 1  |
| Φιλαρίαση                                                       | 2  | Παραγονιμίαση          | 1  |
| Φυματίωση                                                       | 1  |                        |    |
| Σαρκοείδωση                                                     | 1  |                        |    |
| Αμυλοείδωση                                                     | 1  |                        |    |
| Λεμφαγγειομυομάτωση                                             | 1  |                        |    |
| Ψευδοκύστεις, κίρρωση, θρόμβωση σφαγίτιδας ή υποκλειδιάς φλέβας | 1  |                        |    |

Πίνακας 2. Χαρακτηριστικά πλευριτικού υγρού

| Χυλοθώρακας                         | Ψευδοχυλοθώρακας                                        |
|-------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| Γαλακτόχροο, θολή όψη               | Γαλακτόχροο χωρίς πυοσφαίρια                            |
| Στείρο pH=7,4, ειδ. βάρος 1012-1025 | Χοληστερίνη 145-4.500 mg/dl                             |
| Ολικά λευκώματα 2,2-5,98 g/dl       | Τριγλυκερίδια έως 250 mg/dl                             |
| Γλυκόζη 48 - 200 mg/dl              | Μικροσκοπικά: κρύσταλλοι χοληστερίνης                   |
| Λεμφοκύτταρα 70%                    | Δεν υπάρχουν χυλομικρά στην ηλεκτροφόρηση λιποπρωτεϊνών |
| Λιποσφαίρια με χρώση Sudan III      |                                                         |
| Ολικά λίπη 400 - 600 mg/dl          |                                                         |
| Τριγλυκερίδια > από τον ορό         |                                                         |
| Χοληστερίνη < από τον ορό           |                                                         |
| Τριγλυκερίδια/χοληστερίνη > 1       |                                                         |
| Na <sup>+</sup> 104-108 mEq/l       |                                                         |
| K <sup>+</sup> 3,8-5 mEq/l          |                                                         |
| Ca <sup>++</sup> 3,4-6 mg/dl        |                                                         |

## Πίνακας 3. Στοιχεία που ενισχύουν τη διάγνωση

| Χυλοθώρακας                                                                                     | Ψευδοχυλοθώρακας                                                                     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| Πρόσφατος τραυματισμός (υπερέκταση ΣΣ, διαττραίνον τραύμα),<br>διόγκωση λεμφαδένων μεσοθωρακίου | Υπεξωκοτική συλλογή μακράς διάρκειας (>1 μήνα)<br>Πάχυνση υπεζωκότα με αποτιτανώσεις |
| Πρόσφατη καρδιοχειρουργική επέμβαση ή επέμβαση στον οισοφάγο                                    | Ιστορικό ρευματοειδούς αρθρίτιδας                                                    |
| Ιστορικό λεμφαγγειομυομάτωσης                                                                   | Ασυμπτωματική υπεξωκοτική συλλογή                                                    |
| Απουσία πάχυνσης του υπεζωκότα                                                                  |                                                                                      |

και όλες οι περιπτώσεις έλαβαν συνδυασμένη αντιφυματική αγωγή, ενώ ο ένας υπεβλήθη σε θεραπευτικό πνευμονοθώρακα.

Ο κλινικός γιατρός πρέπει να περιλαμβάνει τον ψευδοχυλοθώρακα στη διαφορική διαγνωστική της χρόνιας υπεξωκοτικής συλλογής. Η συμβατική μακροσκοπική

εικόνα του πλευριτικού υγρού μαζί με το ιστορικό ρευματοειδούς αρθρίτιδας ή φυματίωσης καθιστά τη διάγνωση περισσότερο πιθανή. Τα χαρακτηριστικά των λιπιδίων του πλευριτικού υγρού θα διακρίνουν με ασφάλεια τον ψευδοχυλοθώρακα από το συχνότερο σε εμφάνιση χυλοθώρακα.

## SUMMARY

*Pseudochylothorax in a patient with rheumatoid arthritis*

*Th. Tsikrikas, C. Karakousis, C. Krapis, P. Belitsos, H. Makri, L. Sakkas, C.J. Gourgoulis*

*A case of pseudochylothorax is described in a patient suffering from rheumatoid arthritis for 10 years. The diagnosis was based on macroscopic and lipid characteristics of the pleural fluid. Pneumon 2001, 14(3):238-241.*

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Γουργουλιάνης Κ. Πλευρίτιδες - Ψευδοχυλοθώρακας. Κλινικά φροντιστήρια. Ιατρική Εταιρεία Αθηνών 1994; 6:53-54.
2. Light RW. Pulmonary Disease, Pleural effusions. Med Cl M Am 1977; 61:1339-1352.
3. Kinasewitz C, Fishman A. Chylothorax. In Pulmonary Diseases and Disorders 2nd ed. AI. Fishman McGraw Hill 1988; 3:1250-1252.
4. Light R. Diseases of the Pleura. In Harrison's Principles of Internal Medicine 14th ed McGraw hill 1988; 262:1472-1474.
5. Light R. Diseases of Pleura. Clinical Medicine 1998; 47:1-61.
6. Staats BA, Ellefson Rd, Budahn LL, Dines DE, Prakash VDS, Offord K. The lipoprotein profile of chylous and nonchylous pleural effusions. Mayo Clin Proc 1980; 55:700-704.
7. Τσικρίκας Θ, Κουτσαντάς Β, Γραντζή Χρ, Μακρή-Καλογήρου Ε, Καραμήτσος Κ. Περίπτωση αρρώστου με χυλοθώρακα. Πρακτικά Ιατρικής Εταιρείας Λάρισας 1992; 197-199.
8. Pseudochylothorax. Report of 2 cases and review of the literature. Medicine 1999; 78:200-207.
9. Ribas Sola J, Ruiz Manzano J, Gallego Dizz M, Munoz, Rino F, Morera Prat J. Tuberculous pseudochylothorax. Presentation of a case with positive Mycobacterium tuberculosis culture and review of the literature. Arch Bronchopneumol 1995; 31:80-82.
10. Campos Rodriguez R, Alfageme Michavilla I, Hernandez Borge J, Villagomez Cerrato R, Vargas Puerto A. Pseudochylothorax. Review of 5 cases. Arch Bronchopneumol 1997; 33:422-425.

## Εμπύρετο, αιμόφυρτα πτύελα και δύσπνοια προσπάθειας σε ενήλικα άνδρα

Ν. Μάρκου<sup>1</sup>,  
Χ. Πολυζωγοπούλου<sup>1</sup>,  
Α. Προβατά<sup>1</sup>,  
Α. Μπάστας<sup>1</sup>,  
Χ. Μπιτσάκου<sup>1</sup>,  
Ι. Λύχρος<sup>2</sup>,  
Ν. Πουλάκης<sup>1</sup>,  
Δ. Πολυζωγόπουλος<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Δ' Πνευμονολογική Κλινική ΝΝΘΑ, <sup>2</sup>Νοσοκομείο  
Νοσημάτων Θώρακος Δυτ. Ελλάδος

**Λέξεις κλειδιά:** Σαρκοείδωση, πυρετός, ηωσι-  
νοφιλία, δερματικές εκδηλώσεις, απεικονιστι-  
κά ευρήματα

Αλληλογραφία:  
Μάρκου Νικόλαος, Παπαδιαμαντοπούλου 94, Ζω-  
γράφου, Τηλ.: 77 87 531

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ.** Παρουσιάζουμε περίπτωση σαρκοείδωσης σταδίου ΙΙΙ με ορισμένα ενδιαφέροντα και όχι τυπικά χαρακτηριστικά: α) αρχική εμφάνιση με άτυπα απεικονιστικά ευρήματα (συνύπαρξη ινοκυστικών στοιχείων τύπου θαμβής υάλου, σκιάσεις κυψελιδικού τύπου και όζους), που απαντώνται κυρίως σε χρονίσασες μορφές της νόσου, β) εκδήλωση της νόσου ως εμπυρέτου, γ) συνοδές δερματικές βλάβες, δ) ανεύρεση περιφερικής ηωσινοφιλίας, ε) ταχεία πορεία. Βλάβες και επιπλοκές για τις οποίες απαιτείται συνήθως διάστημα ετών, εμφανίστηκαν και εξελίχθηκαν στον ασθενή μας μέσα σε λίγους μήνες. *Πνεύμων 2001, 14 (3): 242-248.*

### Ιστορικό

Άνδρας, 38 ετών, αγρότης, καπνιστής (15PY) μέχρι προ 18μήνου, οπότε διέκοψε χωρίς ιδιαίτερη αφορμή. Δεν πίνει. Ελεύθερο ατομικό και οικογενειακό αναμνηστικό.

Από πενταμήνου αναφέρονται εμπύρετα επεισόδια με βήχα και απόχρεψη που αντιμετωπίστηκαν κατ' οίκον, με αντιβίωση. Προ τετραμήνου ο ασθενής εισήχθη σε νοσοκομείο λόγω επιμονής των συμπτωμάτων. Έλαβε αντιβίωση για κοινά μικρόβια (τικαρσιλίνη με κλαβουλανικό) και στη συνέχεια δοκιμαστική αντιφυματική αγωγή επί δίμηνο (οι θεράποντες τη διέκοψαν γιατί, ενώ παρατηρήθηκε προσωρινή ύφεση του πυρετού, είχαν: α) δερμοαντίδραση φυματίνης σταθερά αρνητική, β) καλλιέργειες πολλών δειγμάτων πτυέλων, γαστρικού υγρού, βρογχικών εκκρίσεων και BAL αρνητικές για B Koch, γ) απουσία ακτινολογικών μεταβολών).

Ο ασθενής προσέρχεται αιτώμενος εμπύρετο (40°C), ξηρό βήχα, αιμόφυρτα και δύσπνοια στην προσπάθεια.

### Φυσική εξέταση

Σημειώνονται η καχεκτική εμφάνιση του ασθενούς και η παρουσία ολοεισπνευστικών μη μουσικών στο δεξιό μέσο και κάτω πνευμονικό πεδίο, που μεταβάλλονταν με το βήχα.

## Εργαστηριακές εξετάσεις

Ht: 44,3%, Λευκά: 7550 (76%PMN), TKE: 30. Βιοχημικά κφ. Αέρια αίματος:  $\text{PaO}_2 = 75 \text{ mmHg}$  -  $\text{PaCO}_2 = 38 \text{ mmHg}$ . pH: 7,35. ANA(-), Ra-test(-), ANCA(-), sACE 112. IgG και IgA ελαφρά αυξημένες. HIV(-)

## Α/α θώρακα

Διάσπαρτες ομοιογενείς σκιάσεις άμφω. Επίσης γραμμοειδείς σκιάσεις, με έλξη ανατομικών δομών, φυσιολογικών (όπως ο διαφραγματικός υπεζωκότας) και παθολογικών (ορισμένες από τις σκιάσεις) (εικόνα 1).

## Διαγνωστικοί χειρισμοί

Δερμοαντίδραση φυματίνης αρνητική.

Προκλητά πτύελα αρνητικά για B Koch και μύκητες.

HRCT θώρακα: Όζοι και κυψελιδικού τύπου σκιάσεις με αεροβρογχόγραμμα άμφω, καθ' υπεροχήν στα μέσα και άνω πνευμονικά πεδία. Γραμμοειδείς σκιάσεις, που έλκουν και παραμορφώνουν τις παρακείμενες δομές (υπεζωκότας, ορισμένες από τις κυψελιδικού τύπου σκιάσεις, δεξιός άνω λοβαίος βρόγχος). Κοιλότητες με παχειά τοιχώματα, φυσαλλίδες. Κατά τόπους (κυρίως στα κάτω πνευμονικά πεδία), πάχυνση των περιλοβιδιακών διαφραγμάτων, λίγα μικρού και μέσου μεγέθους



Εικόνα 1. Ακτινογραφία θώρακος (βλέπε κείμενο)

οξιδιακά στοιχεία και περιοχές θαμβής υάλου. Σε μερικά σημεία πάχυνση του υπεζωκότος. Μικρή (<10 mm) διόγκωση προτραχειακών και δεξιών παρατραχειακών λεμφαδένων (Εικόνα 2).

Βρογχοσκόπηση: Απουσία ενδοβρογχικών ευρημάτων (πλην διάχυτης ερυθρότητας του βρογχικού βλεννογόνου). Έγιναν εκπλύσεις και BAL στο μέσο λοβό. Ο ασθενής, λόγω των εκτεταμένων κυστικών αλλοιώσεων δεν υπεβλήθη σε διαβρογχική βιοψία. Λήψεις βρογχικού βλεννογόνου από τρόπιδες με φυσιολογική εμφάνιση, έδειξαν εικόνα μη ειδικής φλεγμονής.

BAL:  $50 \times 10^5$  κύτταρα (λεμφοκύτταρα 25%, ουδετερόφιλα 21%. Εκ των λεμφοκυττάρων, T-cells 78%, CD4+ 62%, CD8+ 19%, B-cells 3%). Κυτταρολογικές, έλεγχος για B. Koch, μύκητες, αρνητικά.

Scanning με Ga-67: εντόπιση ραδιοφαρμάκου σε: α) δακρυϊκούς και σιαλογόνους αδένες, β) μηροβουβωνική χώρα άμφω, γ) (ΔΕ) μασχάλη, δ) μεσοθωράκιο (παρατραχειακά δεξιά), ε) πνεύμονες.

Λειτουργικός έλεγχος πνευμόνων:

$\text{FEV}_1$ : 1950 (50,4% pr), FVC: 2630 (54,4% pr),  $\text{FEV}_1/\text{FVC}$ : 73,9%.

TLC: 4270 (64,1% pr), RV/TLC: 38,4% (138,6% pr). DLCO-sb: 14,3 (47,9% pr), KCO: 4,03 (65,1% pr).

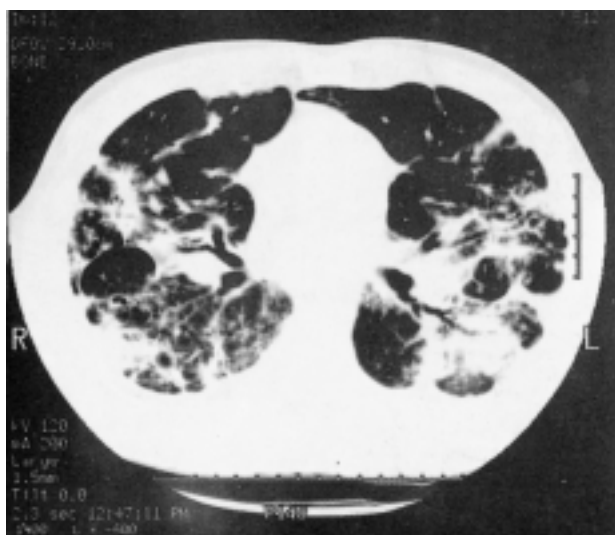
## Πιθανές διαγνώσεις

### α) Φυματίωση

Η παρουσία συστηματικών συμπτωμάτων (πυρετός, καταβολή, απώλεια βάρους), αιμοφύρτων, αλλά και η ακτινολογική εικόνα με το συνδυασμό κατάληψης αεροχώρων, ινώσεως, κοιλοτήτων, κάνουν πιθανή τη φυματίωση. Κατά της διάγνωσης αυτής είναι η αρνητική φυματινοαντίδραση, η παρουσία οξιδιακών στις βάσεις (εκτός αν αποδοθούν σε αιματογενή νόσο) και - κυρίως - η αποτυχία της δοκιμαστικά χορηγηθείσας αντιφυματικής αγωγής.

### β) Χρόνια διαπυητική πνευμονία

Τα συστηματικά συμπτώματα, η παρουσία αιμοφύρτων, η παρουσία κοιλοτήτων και ίνωσης, είναι συμβατά με την παραπάνω διάγνωση. Κατά της διάγνωσης είναι η απουσία προδιαθεσικών παραγόντων και πυώδους απόχρεμψης, καθώς και η παρουσία οξιδιακών στοιχείων στην HRCT. Τέλος, θα περίμενε κανείς μιαν υψηλότερη TKE.



Εικόνα 2. Υπολογιστική τομογραφία θώρακος υψηλής ενκρί- νιας (βλέπε κείμενο)

### γ) Νοκάρδια και Ακτινομύκωση

Συμβατές με την παρουσία νόσου που καταλαμβάνει αεροχώρους και είναι ομοιογενής και χωρίς τμηματική κατανομή. Στα υπέρ περιλαμβάνονται η χρονιότης, η παρουσία κοιλοτήτων, ινωτικών στοιχείων. Στην περίπτωση ακτινομύκωσης θα περιμέναμε επιπλέον επέκταση προς την υπεζωκοτική κοιλότητα, συρίγγια. Και στις δύο περιπτώσεις θα περιμέναμε πυώδη απόχρεμψη και υψηλότερη ΤΚΕ. Ακόμα, ενώ η ακτινομύκωση μπορεί να προσβάλλει ως τότε υγιείς ξενιστές, η νοκάρδια προσβάλλει άτομα με άμυνα διαταραγμένη (π.χ. διαβητικοί).

### δ) Νεοπλασίες

Οποσδήποτε, ούτε η ηλικία ούτε η ακτινολογική εικόνα κάνουν πιθανή μια τέτοια διάγνωση. Θα μπορούσε να συζητηθεί βέβαια κανείς λόγω και των αιμοφύρων το ενδεχόμενο κακοήθειας σε έδαφος ινωτικών βλαβών (scar cancer).

### ε) Πνευμονική αγγειΐτις

Υπάρχουν ορισμένα συμβατά στοιχεία (αιμόφυρα, κοιλοότητες, παροδική δερματική βλάβη). Θα περιμέναμε υψηλότερη ΤΚΕ καθώς - χωρίς βέβαια κάτι τέτοιο να είναι απαραίτητο - και συμμετοχή και άλλων οργάνων πλην πνευμόνων.

### στ) Χρόνια ηωσινοφιλική πνευμονία

Συμβατή η παρουσία πυρετού και περιφερικών ομοιογενών σκιάσεων με αεροβρογχόγραμμα. Κατά είναι η παρουσία κοιλοτήτων, ινωτικών βλαβών αλλά και οξυδιακών στοιχείων.

### ζ) Κυψελιδίτις εξ υπερευαισθησίας

Συζητείται λόγω του επαγγέλματος του ασθενούς (αγρότης, και μάλιστα καλλιεργητής σιτηρών). Τα απεικονιστικά ευρήματα θα μπορούσαν να αποδοθούν στις διάμεσες και ινωτικές βλάβες χρόνιας κυψελιδίτιδας εξ υπερευαισθησίας, στην οποία έχει επιπροστεθεί η κατάληψη αεροχώρων στο πλαίσιο ενός οξέος επεισοδίου. Συμβατή είναι επίσης η καθ' υπεροχήν προσβολή άνω λοβών (που όμως αφορά μόνο τα χρόνια στοιχεία). Ασυνήθιστα είναι τα αιμόφυρα και η παρουσία κυστικών αλλοιώσεων.

### η) Σιλίκωση

Οι βλάβες της προοδευτικής μαζικής ίνωσης έχουν συνήθως χαρακτήρα όζων -πολύ συχνά ακανόνιστων- που δεν εφάπτονται του υπεζωκότα. Βεβαίως είναι δυνατή η δημιουργία κοιλοτήτων σε αυτές τις βλάβες, όπως εξάλλου και η εμφάνιση εμφυσηματικών κύστεων. Απουσιάζει το ιστορικό έκθεσης. Επίσης η σιλίκωση δεν προκαλεί συστηματικά συμπτώματα.

Οι ίδιες αντιρρήσεις ισχύουν για άλλα δύο αίτια προοδευτικής μαζικής ίνωσης όπως τάλκωση και νόσο από καολίνη.

### θ) Ηωσινόφιλο κοκκίωμα

Υπέρ είναι η παρουσία δικτυοκυστικών αλλοιώσεων στην απλή ακτινογραφία και η παρουσία κυστικών βλαβών στην CT. Η νόσος, αν και όχι συχνά, μπορεί να συνοδεύεται από πυρετό και άλλα συστηματικά συμπτώματα. Ωστόσο δεν περιγράφεται εμφάνιση ηωσινόφιλου κοκκιώματος με τη μορφή κυψελιδικού τύπου σκιάσεων.

### ι) Σαρκοείδωση

Η παρουσία κυψελιδικού τύπου σκιάσης στον απεικονιστικό έλεγχο δεν αποτελεί τη συνθηθέστερη μορφή εμφάνισης της σαρκοείδωσης, απαντάται ωστόσο μέχρι και σε 20% των περιπτώσεων. Υπέρ της σαρκοείδωσης είναι τα συνοδά οξυδιακά στοιχεία καθώς και οι ινωτικές βλάβες. Κυστικές αλλοιώσεις, κοιλοότητες, bullae, δεν

είναι τυπικά σαρκοειδωσης, μπορούν όμως να συνοδεύουν νόσο στο στάδιο ίνωσης. Σε τέτοιο έδαφος μπορούν να εμφανιστούν και αιμόφυρτα, ενίοτε λόγω π.χ. ανάπτυξης μυκητώματος. Τα αιμόφυρτα θα μπορούσαν επίσης να αποδοθούν σε βρογχεκτασίες εξ έλξεως είτε σε δευτεροπαθή λοίμωξη. Ο πυρετός και τα συνοδά συστηματικά συμπτώματα συνοδεύουν πολύ συχνά ορισμένες μορφές της νόσου (π.χ. σ. Loffgren, ηπατική προσβολή κ.λπ.) γενικά όμως δεν αποτελούν ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της γνώρισμα. Ας προστεθεί ότι στο περιστατικό μας η φυσιολογική ηπατική βιολογία και η απουσία εναποθέσεων Ga- 67 κάνουν την ηπατική συμμετοχή απίθανη. Οπωσδήποτε, οφείλουμε να υπενθυμίσουμε ότι σε σειρές με πυρετό άγνωστης αιτιολογίας η σαρκοειδωση απαντάται σε ποσοστό 0-2%.

Ιδιαίτερα μας απασχόλησαν τέσσερις διαγνώσεις: φυματίωση, διαπύηση από κοινά μικρόβια, σαρκοειδωση, ηωσινόφιλο κοκκίωμα.

### Πορεία νόσου

Ο ασθενής ετέθη σε αντιβίωση για κοινά μικρόβια (αμπικιλίνη και γενταμυσίνη) χωρίς να σημειωθεί οποιαδήποτε βελτίωση στο διάστημα των 8 ημερών που ελάμβανε την παραπάνω αγωγή.

Μετά από αρκετές ημέρες νοσηλείας, ενώ είχε ολοκληρωθεί ο παραπάνω έλεγχος, και εσυζητείτο πλέον το ενδεχόμενο διεξαγωγής ανοιχτής βιοψίας πνεύμονα, ο ασθενής ανέφερε ότι προ διμήνου είχε εμφανίσει άκησμες, καστανόχρωμες ελαφρά επηρμένες δερματικές πλάκες στα κάτω άκρα και πρόσωπο, εκ των οποίων είχαν ληφθεί βιοψίες. Εν αναμονή των αποτελεσμάτων ο ασθενής είχε απέλθει και στη συνέχεια αμέλησε να ξαναεπικοινωνήσει με τους θεράποντες, δεδομένου μάλιστα ότι οι δερματικές βλάβες εμφάνισαν, χωρίς αγωγή, προοδευτική υποχώρηση μέχρι πλήρους εξαφάνισης. Αναζητήθηκε τότε το ιστολογικό υλικό και η επανεξέτασή του επιβεβαίωσε ότι οι δερματικές βλάβες αφορούσαν σαρκοειδωση (στο χόριο ανευρέθησαν άφθονα, μη τυροειδοποιημένα κοκκίωματα με γιγαντοκύτταρα Langhans, ενώ χρώσεις για οξεοάντοχα ήταν αρνητικές).

Ας προστεθεί ότι αναδιφώντας τον φάκελο της αρχικής νοσηλείας, προέκυψε ότι ο ασθενής είχε εμφανίσει παροδική περιφερική ηωσινοφιλία (12800 λευκά, 15% ηωσινόφιλα), χωρίς συνοδό ηωσινοφιλία στο BAL.

Ο τότε γενόμενος προς την κατεύθυνση της ηωσινοφιλίας έλεγχος (παρασιτολογικές κοπράνων, αντιεχينوκοκκικά αντισώματα, αντισώματα και δερμοαντίδραση για ασπέργιλο, ολική IgE, κολλαγονικός έλεγχος) ήταν αρνητικός. Αποδίδουμε γι αυτό την ηωσινοφιλία στη βασική νόσο.

Με βάση τη βιοψία δέρματος ο ασθενής ετέθη σε αγωγή με από του στόματος μεθυλπρεδνιζολόνη (48 mg/ημερησίως). Εντός 4 ημερών είχαμε ύφεση του πυρετού. Μετά διμήνο, ο ασθενής ήταν ασυμπτωματικός, με βελτιωμένη θρέψη, με σημαντική βελτίωση των λειτουργικών παραμέτρων και εντυπωσιακή μεταβολή της ακτινογραφίας θώρακα (ενώ παραμένουν ινωτικά στοιχεία, έχουμε σχεδόν πλήρη εξαφάνιση των όζων και των κυψελιδικού τύπου σκιάσεων). Μετά από 2,5 μήνες αγωγής άρχισε βαθμιαία μείωση της μεθυλπρεδνιζολόνης κατά 8 mg ανά 15ήμερο.

Μετά από τρεις μήνες αγωγής ο ασθενής εμφάνιζε FEV<sub>1</sub>: 2500, FVC: 3330 (69,3% pr), FEV<sub>1</sub>/FVC: 75,1%, DLCO: 17,7 (55,7% pr) με KCO: 3,53 (54,8% pr).

Ακολούθως η πορεία της νόσου σημαδεύεται από σειρά διαδοχικών επιπλοκών:

- τον τέταρτο μήνα από την έναρξη αγωγής, αυτόματος πνευμονοθώρακας αριστερά, που αντιμετωπίστηκε με τοποθέτηση σωλήνα κλειστής παροχέτευσης,
- ένα μήνα αργότερα εμφάνιση ευμεγέθους διαπυημένης φυσαλλίδας στον (AP) άνω λοβό,
- μετά τρίμηνο, και παρά τη συνέχιση της αγωγής με κορτικοστεροειδή (32 mg μεθυλπρεδνιζολόνη/24ωρο), σε νέα CT διαπιστώνεται επίταση των ινωτικών στοιχείων και νέα εμφάνιση κυψελιδικού τύπου σκιάσεων.

Ο ασθενής παραμένει υπό αγωγή και παρακολουθείται.

### Συζήτηση

Παρουσιάζουμε περίπτωση σαρκοειδωσης σταδίου ΙΙΙ<sup>1</sup> με ορισμένα ενδιαφέροντα και όχι τυπικά χαρακτηριστικά: α) εμφάνιση με άτυπα απεικονιστικά ευρήματα (συνύπαρξη ινοκυστικών στοιχείων του τύπου της θαμβής υάλου, όπως και σκιάσεις κυψελιδικού τύπου και όζους), που απαντώνται κυρίως σε χρονίσιας μορφής της νόσου, β) εκδήλωση της νόσου ως εμπυρέτου, γ) συνοδές δερματικές βλάβες, δ) ανεύρεση περιφερικής



ηωσινοφιλίας, ε) ταχεία πορεία. Βλάβες και επιπλοκές για τις οποίες απαιτείται συνήθως διάστημα ετών, εμφανίστηκαν και εξελίχθηκαν μέσα σε λίγους μήνες στον ασθενή μας. Ενδιαφέρον είναι επίσης το ότι ενώ η νόσος έχει ακτινομορφολογικούς χαρακτήρες χρόνιας σαρκοείδωσης συνοδευόταν από θορυβώδεις κλινικές εκδηλώσεις (υψηλός πυρετός), προσιδιάζουσες κυρίως σε οξεία μορφή της νόσου.

Όσον αφορά στα απεικονιστικά ευρήματα έχουμε να παρατηρήσουμε τα ακόλουθα:

α) Το χρόνιο βοτρυδιακό στοιχείο στη σαρκοείδωση χαρακτηρίζεται από βοτρυδία διακριτά ή συρρέοντα, που συχνά σχηματίζουν μεγάλες ομοιογενείς περιοχές πύκνωσης με αεροβρογχόγραμμα. Αναφέρεται<sup>2</sup> ότι επί παρεγχυματικής προσβολής, το 20% των σαρκοειδικών αλλοιώσεων αφορά τέτοιου τύπου βλάβες (σε κανκάσιους είναι σπανιότερες - αφορούν το 15% των παρεγχυματικών αλλοιώσεων). Οι βλάβες αντιστοιχούν σε συρροή κοκκιωμάτων που συμπίεζον τους παρακείμενους κυψελιδικούς χώρους<sup>2-4</sup>. Πρόκειται για περιοχές φλεγμονής δυνητικά αναστρέψιμες<sup>5</sup>. Στη σειρά των Kirks et al, στο 1/3 των περιπτώσεων οι βλάβες κυψελιδικού τύπου παρέμειναν στάσιμες, στο 1/3 εξελίχθηκαν προς ίνωση, ενώ στις υπόλοιπες περιπτώσεις παρατηρήθηκε - όπως στο περιστατικό μας - πλήρης λύση. Οι όζοι αποτελούν ακόμα πιο ασυνήθιστο εύρημα στη σαρκοείδωση (μόλις 3% στη σειρά των Kirks et al, όπου και στις 3 περιπτώσεις η βλάβη αφορούσε νέγρους) και αντιπροσωπεύουν επίσης συρροή κοκκιωμάτων βλαβών<sup>3</sup>.

β) Διάχυτη παρουσία στοιχείων θαμβής υάλου ως μόνο ευρήματος στην α/α θώρακα επί σαρκοείδωσης είναι εξαιρετικά σπάνιο<sup>6</sup>. Περιοχές θαμβής υάλου απαντώνται σε HRCT μέχρι και σε 60% των περιπτώσεων. Η εικόνα θαμβής υάλου επί σαρκοείδωσης δεν αντιπροσωπεύει απαραίτητα περιοχές ενεργού κυψελιδίτιδας, αλλά μπορεί να αφορά κοκκιώματα ή ίνωση<sup>3</sup>, οπότε πρόκειται για μη αναστρέψιμη βλάβη<sup>5</sup>, ιδίως επί νόσου μακράς διάρκειας. Στη σειρά των Remy-Jardin et al<sup>7</sup> σε άτομα με νόσο διάρκειας άνω των δύο ετών, βλάβες του τύπου θαμβής υάλου ήταν αναστρέψιμες μόνο στο 14% των περιπτώσεων.

γ) Ίνωση - κυστικές αλλοιώσεις<sup>2,4,7</sup>. Είκοσι τοις εκατό

περίπου των περιπτώσεων σαρκοείδωσης καταλήγουν σε ίνωση. Ακανόνιστες γραμμοειδείς σκιάσεις που εκτείνονται από τις πύλες προς την περιφέρεια, απώλεια όγκου, ινώδης ατελεκτασία, βρογχεκτασίες εξ έλξεως (συνήθως κιρσοειδείς), παραουλώδες εμφύσημα, στρεβλώσεις (συνηθέστερο πρώιμο εύρημα ίνωσης στην CT, η προς τα πίσω έλξη των στελεχιαίων και άνω λοβαίων βρόγχων - οφείλεται στην απώλεια όγκου των οπίσθιων τμημάτων των άνω λοβών). Η καθ' υπεροχήν προσβολή των άνω λοβών μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα στην απλή ακτινογραφία την προς τα άνω έλξη των πυλών, με αναπληρωματικό εμφύσημα των βάσεων. Σε αυτό το πλαίσιο των ινωτικών βλαβών μπορούμε να έχουμε εμφάνιση διαφόρων κυστικών αλλοιώσεων (μελικηρύθρα, βρογχεκτασίες εξ έλξεως, bullae - οι τελευταίες εμφανίζουν ρήξη και πνευμοθώρακα στο 5%). Έχει επίσης αναφερθεί εμφάνιση κοιλοτήτων από ισχαιμική νέκρωση σε περιοχές με συρρέοντα σαρκοειδικά κοκκιώματα, τα οποία ακτινολογικά αντιστοιχούν σε όζους ή σκιάσεις κυψελιδικού τύπου<sup>8</sup>.

Αυτόματος πνευμονοθώρακας επί σαρκοείδωσης παρατηρείται στο 1,5-2% των περιπτώσεων<sup>4</sup>.

Βεβαίως, οι ινοκυστικές αλλοιώσεις επί διάχυτης διηθητικής πνευμονοπάθειας δεν αποτελούν αποκλειστικό χαρακτηριστικό της σαρκοείδωσης. Συζητείται επίσης σοβαρά η πιθανότητα ιστιοκύτωσης Χ ή - επί γυναικών - λεμφαγγειολειομυωμάτωσης<sup>9</sup>.

Όσον αφορά στην εμφάνιση πυρετού στη σαρκοείδωση, οφειλόμενου στην ίδια τη νόσο και όχι σε επιλομώξεις, απαντάται στο 15-20% των περιπτώσεων<sup>10</sup>. Παρατηρείται συχνότερα σε σ. Loffgren ή επί παρουσίας ηπατικών κοκκιωμάτων<sup>11</sup>. Η ανεπηρέαστη ηπατική βιολογία καθώς και η απουσία ηπατικών εντοπίσεων στο ολόσωμο scanning με Ga-67 κάνει μάλλον απίθανο - χωρίς και να το αποκλείει - το τελευταίο ενδεχόμενο. Η σαρκοείδωση είναι υπεύθυνη για το 2-4% των περιπτώσεων πυρετού αγνώστου αιτιολογίας<sup>12,13</sup>.

Το δέρμα είναι από τα συνηθέστερα όργανα στόχους της σαρκοείδωσης, με μεγάλη ποικιλία αλλοιώσεων<sup>14</sup>. Γενικά, σε διάχυτη διηθητική πνευμονοπάθεια, η συνύπαρξη δερματικών βλαβών μπορεί να διευκολύνει σημαντικά τη διάγνωση<sup>15</sup>. Έτσι, οζώδες ερύθημα δυνατό να συνοδεύει σαρκοείδωση, νοσήματα συνδετικού ιστού ή ακόμα νόσο Behcet. Κηλιδοβλατιδώδες εξάνθημα

στρέφει την προσοχή προς φάρμακα, νόσο του συνδετικού ιστού, αμυλοείδωση. Ψηλαφητή πορφύρα χαρακτηρίζει νοσήματα του συνδετικού ιστού, αγγειίτιδα. Δι-σκοειδής λύκος δυνατόν να συνοδεύει ιδιοπαθή πνευμονική ίνωση, συστηματικό ερυθηματώδη λύκο. Παρουσία νευρινωμάτων υποδηλώνει νόσο von Recklinghausen, ενώ υποδόριοι όζοι απαντώνται σε νευροϊνωμάτωση ή ρευματοειδή αρθρίτιδα<sup>15</sup>.

Παροδική εμφάνιση περιφερικής ηωσινοφιλίας μπορεί να βρεθεί μέχρι και σε 1/3 των ασθενών με σαρκοείδωση. Ηωσινοφιλία στο BAL (>5% ηωσινόφιλα) παρατηρείται στο 15% των ασθενών, σπάνια όμως τα ηωσινόφιλα υπερβαίνουν το 20%<sup>16</sup>. Τα όρια μεταξύ σαρκοείδωσης και χρόνιας ηωσινοφιλικής πνευμονίας δεν είναι πάντοτε σαφή<sup>17</sup>.

## SUMMARY

### *Fever, bloody sputum and dyspnoea on exertion in an adult male*

*N. Markou, Ch. Polyzogopoulou, A. Provata, A. Bastas, Ch. Bitsakou, I. Lihros, N. Poulakis, D. Polyzogopoulos*

*We present a case of stage III sarcoidosis with some interesting and atypical findings, namely: a) initial presentation with alveolar opacities and findings more consistent with chronicity (fibrocystic lesions), b) presence of high and persistent fever, c) cutaneous lesions, d) peripheral eosinophilia, e) an accelerated clinical course, with complications shortly after diagnosis was established. **Pneumon 2001, 14(3):242-248.***

**Key words:** Sarcoidosis, fever, eosinophilia, cutaneous manifestations, imaging

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. ATS Statement. Treatment of sarcoidosis. A statement by the committee on therapy, American Thoracic Society. Am Rev Respir Dis 1971, 103:433-34.
2. Kirks DR, McCormick VD, Greenspan RH. Pulmonary sarcoidosis: Roentgenologic analysis of 150 patients. Am J Radiol 1973, 117:777-786.
3. Nishimura K, Hoh H, Kitaichi M, Nagai S, Izumi T. Pulmonary sarcoidosis: Correlation of CT and histopathologic findings. Radiology 1993, 189:105-109.
4. Rockoff SD, Rohatgi PK. Unusual manifestations of thoracic sarcoidosis. AJR 1985, 144:513-518.
5. Brauner MW, Lenoir S, Grenier P, Cluzel P, Battesti JP, Valeyre D. Pulmonary sarcoidosis: CT assessment of lesion reversibility. Radiology 1992, 182:349-354.
6. Tazi A, Desfemmes-Baleyte T, Soler P, Valeyre D, Hance AJ, Battesti JP. Pulmonary sarcoidosis with a diffuse ground glass pattern on the chest radiograph. Thorax 1994, 49:793-797.
7. Remy-Jardin M, Giraud F, Remy J, Wattine L, Wallaert B, Duhamel A. Pulmonary sarcoidosis: role of CT in the evaluation of disease activity and functional impairment and in prognosis assessment. Radiology 1994, 191:675-680.
8. Rohatgi PK, Schwab LE. Primary acute pulmonary cavitation in sarcoidosis. AJR 1980, 134:1199-1203.
9. Webb WR. High resolution lung computed tomography. Normal anatomic and pathologic findings. Radiol Clin of North Am 1991, 29:1051-1063.
10. Mayock RL, Bertrand P, Morrison CE, et al. Manifestations of sarcoidosis. Analysis of 145 patients with a review of nine series selected from the literature. Am J Med 1963, 35:67-75.
11. Fanburg BL, Lazarus DC. Sarcoidosis. In Murray JF, Nadel JA. (eds), Textbook of respiratory medicine. 2nd Edition, WB Saunders Co, 1994, 1872-1888.
12. Petersdorf RG, Beeson PG. Fever of unexplained origin: report of 100 cases. Medicine 1961, 40:1-12.
13. Knockaert DC et al. Fever of unknown origin in the 1980s: an update of the diagnostic spectrum. Arch Intern Med 1992, 152:51.
14. Olive KE, Kataria YP. Cutaneous manifestations of sarcoidosis. Relationship to other organ system involvement, abnormal laboratory measurements, and disease course. Arch Intern Med 1985, 145:1811-1814.
15. Schwarz MI, King TE Jr, Cherniack RM. General prin-

- ciples and diagnostic approach to the interstitial lung diseases. In Murray JF, Nadel JA (eds), Textbook of respiratory medicine. 2nd Edition, WB Saunders Co, 1994, 1803-1806.
16. Allen JA, Davies WB. Eosinophilic lung diseases. Am J Respir Crit Care Med 1994, 150:1423-1438.
17. Shijubo N, Fujishima T, Morita S, Nakata S, Satoh M, Uno E, Morikawa T, Abe S. Idiopathic chronic eosinophilic pneumonia associated with noncaseating epithelioid granulomas. Eur Respir J 1995, 8:327-330.

## Χυλώδης πλευριτική συλλογή επιπλέκουσα χρονία λεμφογενή λευχαιμία: Μια σπανιώτατη περίπτωση

Α. Πρέζα,  
Ι. Μαραγκός,  
Σ. Γανιάρης,  
Μ. Στόκα,  
Ι. Χαλιουρή,  
Π. Ρούσου,  
Δ. Μπόφος

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ:** Χυλώδης πλευριτική συλλογή επιπλέκουσα τη χρόνια λεμφογενή λευχαιμία αποτελεί μια σπάνια κλινική παρατήρηση. Χυλοθώρακας δευτεροπαθής σε κακοήγη αιματολογικά νοσήματα είναι μια εξαιρετικά ασυνήθης κλινική οντότητα. Περιγράφεται η περίπτωση ενός άνδρα 71 ετών με ΧΛΛ επιπλεγμένη από χυλοθώρακα. Ο ασθενής αντιμετωπίστηκε επιτυχώς με χημειοθεραπεία και παροχέτευση. *Πνεύμων 2001, 14(3): 249-253.*

5η Πνευμονολογική Κλινική ΝΝΘΑ

### ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΑΣΘΕΝΟΥΣ

**Ιστορικό:** Ασθενής άρρην, 71 ετών, καπνιστής μέχρι προ 3ετίας προσέρχεται αιτιώμενος δύσπνοια κοπώσεως από διμήνου προοδευτικά επιδεινούμενη και βύθιο άλγος δεξιού ημιθώρακιού χωρίς άλλα συνοδά συμπτώματα.

**Οικογενειακό και κληρονομικό ιστορικό:** ελεύθερο.

**Προσωπικό κοινωνικό ιστορικό:** έγγαμος, συνταξιούχος υπάλληλος εμπορικής τραπεζής, καπνιστής έως προ 3ετίας (30 py), κοινωνικός πότης. Ατομικό αναμνηστικό: αναφέρεται έλκος βολβού δωδεκαδακτύλου από 10ετίας, τώρα χωρίς αγωγή. Προ 10ετίας αναφέρεται πτώση από ημίονο με κατάγματα πλευρών αριστερά.

**Αντικειμενική εξέταση:** Επισκόπηση: Άτομο αρτιμελές με καλή όψη, ελαφρώς παχύσαρκο. Κεφαλή-τράχηλος: κ.φ. Δεν ψηλαφούνται λεμφαδένες. Θώρακας: συχνότητα αναπνοών 18/min. Αμβλύτητα, μείωση φωνητικών δονήσεων και αναπνευστικού ψιθυρίσματος μέχρι πλήρους εξάλειψης στο μέσο και κάτω πνευμονικό πεδίο δεξιά. Από την ακρόαση της καρδιάς: S1-S2 ευκρινείς χωρίς φυσήματα. Πεπτικό: Κοιλιά μαλακή, ευπίεστη, εντερικοί ήχοι ακουστοί. Ήπαρ, σπλην: Αψηλάφητα. Κυκλοφορικό: Α.Π.: 130-80 mmHg. Σφύξεις: 90/min, ρυθμικές. Ψηλαφητές σφύξεις άκρων. Ευρυαγγείες κάτω άκρων (φλεβική ανεπάρκεια). Νευρικό: ουδέν. Μυοσκελετικό: ουδέν. Θερμοκρασία: 36,8°C.

Λέξεις κλειδιά: Χυλοθώρακας, Χρόνια λεμφική λευχαιμία

Αλληλογραφία:  
Μπόφος Δ., Μιαούλη 4, 175 64 Π. Φάληρο

**Εργαστηριακά ευρήματα:** Γενική αίματος: Ht 40,2%, Hb: 11,9 g/dl, WBC: 12600  $\mu$ l, Π: 50%, Λ: 42%, MM: 5%, E: 0%, Βας: 1%, PLT: 202.000/ $\mu$ l, TKE: 23 mm.

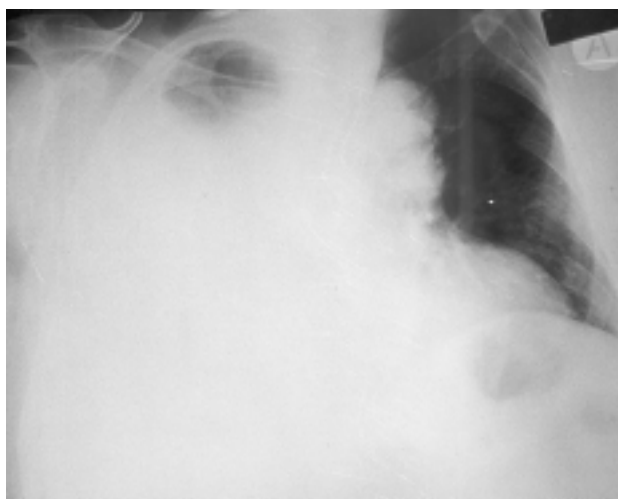
**Βιοχημικός έλεγχος:** Glu: 89 mg/dl, Ure: 34 mg/dl. Cre: 98 mg/dl, SGOT: 28 U/l, SGPT: 30 U/L, ALP: 25 U/L, χολερ.: 0,8 mg/dl, άμεση: 0,5 mg/dl, έμμεση: 0,3 mg/dl, LDH: 177 U/l. Έλεγχος πήξης: PT: 12,8 sec, INR: 0,98, HbsAg: (-).

**Γενική σύρων:** EB: 1026, pH: 5, Λεύκωμα: 1, Σάκχαρο: (-), Οξόνη: (-), Χολοχρωστικές: (-0). Πυοσφαίρια: σπάνια, ερυθρά: σπάνια. Mantoux: (-). Αέρια αίματος στον ατμοσφαιρικό αέρα: PO<sub>2</sub>: 77, PCO<sub>2</sub>: 40,5, pH: 7,45, HCO<sub>3</sub>: 28,6, ΠΒ: 5,3. ΗΚΓ: RBBB με δευτεροπαθείς διαταραχές επαναπολώσεως.

**Απεικονιστικές εξετάσεις:** Ακτινογραφία θώρακος: ευμεγέθης σκίαση δεξιού ημιθωρακίου, εξάλειψη σύστοιχης πλευροδιαφραγματικής γωνίας, μετατόπιση μεσοθωρακίου αριστερά (Εικόνες 1 και 2).

### Διαφορική διάγνωση

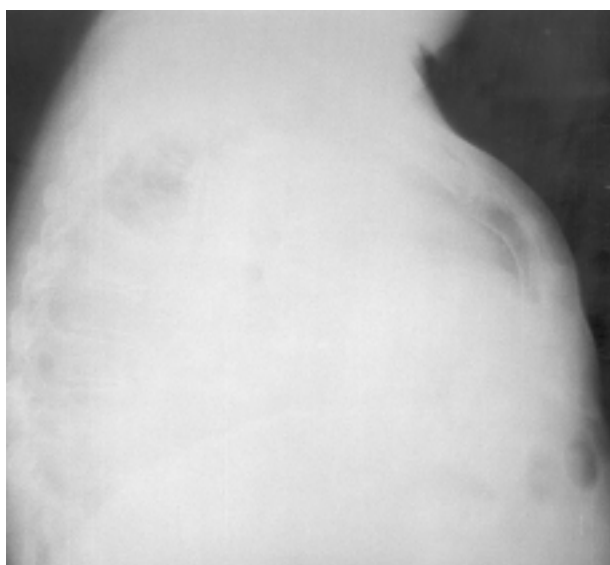
1. Τραυματικός χυλοθώρακας
2. Λέμφωμα
3. Καρκίνος πνεύμονος
4. Συστηματικός ερυθρεματώδης λύκος
5. Σαρκοείδωση
6. Ιδιοπαθής χυλοθώρακας
7. Ψευδοχυλοθώρακας.



Εικόνα 1. Οπισθοπρόσθια ακτινογραφία θώρακος (βλέπε κείμενο)

### Διαγνωστική προσπέλαση

1. Διαγνωστική παρακέντηση: Γενική πλευριτικού υγρού: Όψη: θολή, χροιά: χυλώδης, λεύκωμα: 16 g%, πολυμορφοπύρρηνα: 10%, λεμφοκύτταρα: 90%, άτυπα κυτταρικά στοιχεία: λίγα. Β/Χ πλευριτικού υγρού: Chol: 163 U/l, Glu: 178 U/l, LDH: 176 U/l. Κυτταρολογική πλευριτικού υγρού: αρνητική, σπάνια μεσοθηλιακά κύτταρα, λίγα φλεγμονώδη.
2. Πτύελα: Καλλιέργεια για β Koch: αρνητική (άμεσο). Κυτταρολογική εξέταση: αρνητική.
3. Ανοσολογικός έλεγχος: CKP (-), Ra test ποιοτικό (-), τίτλος αντιστρεπτολυσίνης -0 < 100: αρνητική, ANA: ασθενώς θετικά.
4. CT θώρακος: Χωροκατακτητική εξεργασία 7,4 εκ. δεξιά παραπυλαία από το ύψος δεξιά παρατραχειακά μέχρι και την έκφυση του δεξιού μέσου λοβαίου βρόγχου προκαλούσα στένωση του στελεχιαίου και του δεξιού μέσου, ενώ αποφράσσει το δεξιό άνω λοβό. Πλευριτικό υγρό καταλαμβάνει ολόκληρο το δεξιό ημιθωράκιο. Διογκωμένοι λεμφαδένες δεξιά παρατραχειακά που προκαλούν στένωση της άνω κοιλής. Διογκωμένοι λεμφαδένες στις μασχαλιαίες χώρες αμφοτερόπλευρα. Διάχυτο εμφύσημα στον αριστερό πνεύμονα. Οζώδης σκίαση στην κορυφή διαμέτρου 2,4 εκ., σαφών ορίων, πιθανόν δευτεροπαθής εντόπιση.



Εικόνα 2. Πλάγια ακτινογραφία θώρακος (βλέπε κείμενο)

5. Θ/Χ εκτίμηση: Χυλοθώρακας δεξιά κακοήθους αιτιολογίας, ετέθη Argy No32 στη μέση μασχαλιαία γραμμή, 6° μεσοπλεύριο και αφαιρέθηκαν 2,5 lt χυλώδους, άοσμου, μη αιμορραγικού υγρού.
6. Βρογχοσκόπηση: Λάρυγξ-τραχεία-τρόπιδα: παρεκτόπιση της τραχείας προς τα δεξιά. ΑΒΔ: Εικόνα χρόνιας βρογχίτιδας. ΔΒΔ: Οίδημα βλεννογόνου κορυφαίου και οπισθίου ΔΑ λοβαίου βρόγχου χωρίς άλλα παθολογικά ενδοσκοπικά ευρήματα. Έγιναν έκπλυση-βούρτσισμα και εστάλησαν για β Koch και κυτταρολογική. Αποτελέσματα: Αρνητικά για κακοήθεια. Αρνητικά για β Koch.
7. FNA: Στοιχεία ύποπτα για λεμφο-υπερπλαστική εξεργασία.
8. Ανοσολογικό τμήμα και Κέντρο Ιστοσυμβατότητας. Εργαστήριο κυτταρομετρίας: Β-λεμφοϋπερπλαστική διεργασία με Κ κλωνικότητα ( $0,3 > K/1 > 6$ ) και ισότυπο IgUDA.
9. Εξέταση περιφερικού αίματος: Η εξέταση του αίματος έδειξε αυξημένο αριθμό λεμφοκυττάρων (μικρά ώριμα λεμφοκύτταρα) και άφθονες πυρηνικές σκιές. Εικόνα πιθανής χρόνιας λεμφικής λευχαιμίας. Ο φαινότυπος αυτών των κυττάρων με μονοκλωνικά αντισώματα απέδειξε ότι πρόκειται για μονοκλωνικό πληθυσμό Β κυττάρων. Εικόνα συμβατή με χρόνια λεμφική λευχαιμία.

### Τελική διάγνωση

Χυλοθώρακας δεξιά λόγω χρόνιας λεμφικής λευχαιμίας.

### Πορεία νόσου και θεραπευτική αγωγή

Μετά εξάμηνη αγωγή με Leukeran και πρεδνιζολόνη ο ασθενής μας εμφάνισε σημαντική κλινικο-ακτινολογική βελτίωση.

### Συζήτηση

Χυλοθώρακας είναι η συλλογή πλευριτικού υγρού με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπίδια το οποίο έχει μακροσκοπικά όψη γαλακτόχροη ή θολερή.

Όμοια στην περίπτωσή μας ανευρέθησαν υψηλές τιμές Chol και LDH στο πλευριτικό υγρό. Οφείλεται συνήθως σε ρήξη του θωρακικού πόρου και στην είσοδο λέμφου πλούσιας σε τριγλυκερίδια εντός της υπεζωκοτικής κοιλότητας.

Παρ' όλες τις ανατομικές παραλλαγές, στο 50% του πληθυσμού ο θωρακικός πόρος ξεκινά έμπροσθεν του πρώτου ή δεύτερου οσφυϊκού σπονδύλου και διά του αορτικού τμήματος του διαφράγματος διέρχεται στο οπίσθιο μεσοθωράκιο. Στο σημείο αυτό πορεύεται ανάμεσα στην αορτή και την άζυγο φλέβα και στο ύψος του πέμπτου θωρακικού σπονδύλου διασταυρώνεται με τη σπονδυλική στήλη οπισθίως του οισοφάγου και καταλήγει στο οπίσθιο μεσοθωράκιο πίσω από την αριστερή υποκλείδιο φλέβα.

Σε μερικούς ασθενείς είναι δυνατόν να εμφανίζονται δύο θωρακικοί πόροι. Η ανατομική του θωρακικού πόρου προσδιορίζει τη θέση της πλευριτικής συλλογής λόγω αποφράξεως ή ρήξεως αυτού. Ρήξη ή απόφραξη του θωρακικού πόρου κάτω από τον πέμπτο θωρακικό σπόνδυλο προκαλεί δεξιά πλευριτική συλλογή (όπως και στο περιστατικό που παρουσιάσαμε), ενώ κάκωση αυτού πάνω από τον πέμπτο θωρακικό σπόνδυλο προκαλεί αριστερή πλευριτική συλλογή.

Ο θωρακικός πόρος μεταφέρει λέμφο εντερικής προέλευσης στη συστηματική κυκλοφορία. Η λέμφος αποτελείται από τριγλυκερίδια υπό τη μορφή χυλομικρών. Έχει γαλακτόχροη χροιά η οποία εξαφανίζεται κατά τη νηστεία και επανεμφανίζεται αμέσως μετά τη διαιτητική πρόσληψη λίπους. Περιέχει επίσης λεμφοκύτταρα (κυρίως Τ) με συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 400 έως 6.800 κύτταρα/μλ. Η περιεκτικότητα της λέμφου σε ηλεκτρολύτες είναι ίδια με αυτή του πλάσματος, η δε συγγέντρωση των πρωτεϊνών είναι μεγαλύτερη των 3 g/dl. Ο θωρακικός πόρος δέχεται επίσης λέμφο από τα λεμφαγγεία του πνευμονικού παρεγχύματος και του τοιχωματικού υπεζωκότα. Το σύνολο της λεμφικής παροχής από το θωρακικό πόρο και τις άλλες πηγές είναι 1500 έως 2400 ml/μέρα.

Οι αιτίες δημιουργίας χυλοθώρακα διακρίνονται σε τραυματικές και μη τραυματικές. Κατά τη μελέτη 191 ασθενών με χυλοθώρακα, οι 72 περιπτώσεις οφείλονταν σε μη τραυματικά αίτια. Κατά τη μελέτη 63 ασθενών με μη τραυματικό χυλοθώρακα οι 45 περιπτώσεις οφείλονταν σε κακοήθη νοσήματα. Από αυτά το λέμφωμα χαρακτήριζε τις 50 περιπτώσεις και αποτελεί τη συχνότερη αιτία μη τραυματικού χυλοθώρακα. Ακόμη και ο ιδιοπαθής χυλοθώρακας που αποτελεί μια ιδιαίτερος ευρεία κατηγορία μη κακοήθων νοσημάτων, βρέθηκε ύστερα από λεπτομερή έρευνα ότι συνδέεται ενίοτε με κά-

ποιο κρυφό νεόπλασμα.

Στην περίπτωση του τραυματικού χυλοθώρακα οι χειρουργικές επεμβάσεις αποτελούν τη συχνότερη αιτία. Ακολουθούν η εξάσκηση εξωτερικής πίεσης, η απόφραξη λόγω φλεβικής θρόμβωσης και η ρήξη του θωρακικού πόρου σε οποιοδήποτε σημείο της διαδρομής του.

Βλάβη στον ενδοκοιλιακό χώρο του κοιλιακού τμήματος του θωρακικού πόρου μπορεί να προκαλέσει χυλώδη ασκίτη και διαμέσου του διαφράγματος πλευριτική συλλογή, όπως και η προσβολή του θωρακικού πόρου από ενδοθωρακικές επεμβάσεις. Τέλος, χειρουργικές επεμβάσεις θώρακος απομεμακρυσμένες από το θωρακικό πόρο μπορεί να προκαλέσουν χυλοθώρακα μετά την τρώση λεμφαγγείων του θώρακα.

Ασθενείς με χυλοθώρακα συνήθως εμφανίζουν τυπικά σημεία και συμπτώματα που οφείλονται στα παθοφυσιολογικά επακόλουθα μιας πλευριτικής συλλογής.

Ασθενείς με μη τραυματικό χυλοθώρακα συχνά εμφανίζουν μια ελαττωμένη ανοχή στη σωματική άσκηση με σταδιακή έναρξη, δύσπνοια, αίσθημα βάρους στο θώρακα, κόπωση. Να σημειωθεί ότι πυρετός ή θωρακικό άλγος δεν παρατηρούνται συχνά επειδή η λέμφος δεν προκαλεί φλεγμονή στο εσωτερικό της υπεζωκοτικής κοιλότητας. Αποβολή λέμφου διά των πτυέλων (λεμφόπτυσις) παρατηρείται εξαιρετικά σπάνια.

Επί μετατραυματικού χυλοθώρακα η εμφάνιση των συμπτωμάτων μπορεί να καθυστερήσει μέχρι και δέκα (10) ημέρες από τη στιγμή του τραυματισμού. Έτσι η ύπαρξη χυλοθώρακα αρχικά ανιχνεύεται από την ακτινογραφία θώρακος σαν πλευριτική συλλογή ή από την εμφάνισή του από μόνιμη θωρακική παροχέτευση.

Χυλοθώρακας που εμφανίζεται μετά από πνευμονεκτομή είναι ιδιαίτερος δύσκολο να διαγνωσθεί. Στην περίπτωση αυτή την υποψία θέτουν η ταχεία αναπαραγωγή πλευριτικού υγρού μετεγχειρητικώς και η μετατόπιση του μεσοθωρακίου προς την αντίθετη πλευρά (χυλοθώρακας υπό τάση) στην ακτινογραφία θώρακος.

Σε περίπτωση χυλοθώρακα αγνώστου αιτιολογίας η λεμφαγγειογραφία καταδεικνύει ασυνήθεις ανωμαλίες των λεμφαγγείων, όπως η λεμφαγγιεκτασία.

Το προς εξέταση υγρό μπορεί να ληφθεί είτε δια θωρακικής παρακεντήσεως είτε διά της μόνιμου θωρακικής παροχέτευσης. Η διαπίστωση ενός γαλακτώδους συστάσεως πλευριτικού υγρού συνηγορεί υπέρ του χυ-

λοθώρακα ή υπέρ μιας λεμφοειδούς πλευριτικής συλλογής. Ωστόσο η απουσία της χαρακτηριστικής γαλακτώδους χροιάς δεν αποκλείει το χυλοθώρακα, ειδικά σε ασθενείς μετά από περιόδους νηστείας ή δίαιτα χαμηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά.

Η πιθανή παρουσία χυλοθώρακα πρέπει να λαμβάνεται σοβαρά υπόψη σε κάθε άρρωστο με υποτροπιάζουσες πλευριτικές συλλογές των οποίων η μακροσκοπική όψη του λαμβανόμενου υγρού είναι αιματηρή, οροαιματηρή ή θολερή.

Η περιεκτικότητα του πλευριτικού υγρού σε τριγλυκερίδια μπορεί να ενισχύσει τη διάγνωση επί υποψίας χυλοθώρακα. Μια συγκέντρωση τριγλυκεριδίων άνω των 110 mg/dl ενισχύει τη διάγνωση, ενώ μια συγκέντρωση κάτω των 50 mg/dl μάλλον την αποκλείει.

Επί ανευρέσεως ενδιάμεσων τιμών ο έλεγχος πρέπει να συμπληρώνεται με περαιτέρω ανάλυση των περιεχομένων λιποπρωτεϊνών. Ανίχνευση χυλομικρών επιβεβαιώνει τη διάγνωση.

Δεδομένου ότι το λέμφωμα είναι η πιο συχνή αιτία μη τραυματικού χυλοθώρακα, ασθενείς με χυλοθώρακα αγνώστου αιτιολογίας πρέπει πάντοτε να υποβάλλονται σε αξονική τομογραφία θώρακος και κοιλίας, αναζητώντας συμμετοχή μεσοθωρακικών ή οπισθοπεριτοναϊκών λεμφαδένων. Οι εξετάσεις αυτές μπορούν να καταδείξουν άλλες ανωμαλίες του μεσοθωρακίου ή των πνευμόνων οι οποίες είναι δυνατόν να προκαλούν χυλοθώρακα όπως η καταδυσόμενη βρογχοκήλη, η θρόμβωση και η λεμφαγγειομυομάτωση.

Στην περίπτωση του τραυματικού χυλοθώρακα, αξονική θώρακος και λεμφαγγειογραφία απαιτούνται όχι βεβαίως για να τεθεί η διάγνωση, αλλά για να εντοπισθεί το σημείο της κάκωσης. Σε περίπτωση μετεγχειρητικού τραυματικού χυλοθώρακα το σημείο της κάκωσης συχνά αλλά όχι πάντα βρίσκεται εντός του χειρουργικού πεδίου της επεμβάσεως.

Όσον αφορά στη θεραπεία, συχνά η ακτινοβολία του μεσοθωρακίου οδηγεί σε λύση του χυλοθώρακα (περίπου 70% είναι το ποσοστό ανταπόκρισης επί λεμφώματος και >0% επί μεταστατικού καρκίνου).

Επί αποτυχίας της ακτινοβολίας, η πλευροδεσία είναι απαραίτητη. Σε σπανιότερες περιπτώσεις είναι δυνατόν να απαιτηθεί πλευροπεριτοναϊκή παροχέτευση.

Ενίοτε απαιτείται από του στόματος διατροφή εμπλουτισμένη με τριγλυκερίδια μεσαίας αλύσου. Οι

λοιμώξεις που οφείλονται στην παρατεταμένη θωρακική παροχέτευση θεωρούνται αμελητέες δεδομένων των βακτηριοστατικών ιδιοτήτων της λέμφου.

Στη διεθνή βιβλιογραφία την τελευταία δεκαετία αναφέρονται δύο περιπτώσεις χυλοθώρακα που οφείλονται στη χρόνια λεμφική λευχαιμία. Εξ αυτών η πρώτη ανακοινώθηκε το 1993 και αφορούσε γυναίκα 81 ετών στην οποία η χρόνια λεμφική λευχαιμία είχε ως επιπλο-

κή το χυλοθώρακα. Η ακτινοβολήση του μεσοθωρακίου και η χημειοθεραπεία δεν υπήρξε αποτελεσματική. Η υπεζωκοτική συλλογή αντιμετωπίστηκε διά πλευροδεσίας με τάλκη.

Η δεύτερη περίπτωση που ανακοινώθηκε το 1994 αφορούσε επίσης ασθενή με χυλοθώρακα από χρόνια λεμφική λευχαιμία, που αντιμετωπίστηκε αποτελεσματικά με ακτινοβολήση μεσοθωρακίου<sup>4,5</sup>.

## SUMMARY

### *Chylous pleural effusion complicating chronic lymphocytic leukemia: a very rare clinical case*

**A. Preza, J. Maragos, S. Ganiaris, M. Stoka, I. Haliouri, P. Roussou, D. Bofos**

*Chylothorax secondary to malignant hemopathies is an extremely unusual clinical entity. The case of a 71 years old man with chronic lymphocytic leukemia complicated by chylothorax is described. The patient was successfully treated with chelotherapy and drainage. **Pneumon 2001, 14(3): 249-253.***

**Key words:** Chylothorax, chronic lymphocytic leukemia

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Hermer JE. Diagnosis and management of chylothorax and chiliform effusions. Upto Date 5.3 -1997.
2. Crofton and Douglas. Αναπνευστικά νοσήματα. Επιμέλεια Ι. Ιορδάνογλου. Εκδόσεις Παρισιάνος 1992.
3. Lillington GA. A diagnostic approach to chest diseases. 3rd edition-Williams and Wilkins 1987.
4. Ampil FL, Burton GV, Hardjasudarma M, Stogner SW. Chylous effusion complicating chronic lymphocytic leukemia. Leuk. Lymphoma 1993, 10(6): 507-510.
5. Zimphony O, Davidovitch Y, Shtalrid M. Chronic lymphocytic leukemia complicated by chylothorax. J Intern Med 1994, 235(4): 375-377.