ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΠΝΕΥΜΟΝΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΔΗΜΗΤΡΗΣ Α. ΒΑΣΙΛΑΚΗΣ
Πνευμονολόγος

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΣΤΑΘΕΙΑΣ ΜΙΚΡΟΔΟΡΥΦΟΡΙΚΟΥ DNA ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΔΙΑΜΕΣΗ ΔΙΗΘΗΤΙΚΗ ΠΝΕΥΜΟΝΟΠΑΘΕΙΑ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 1999

Στους γονείς μου

Στους δασκάλους μου

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ολοκληρώνοντας τη Διδακτορική Διατριβή μου θα ήθελα να ευχαριστήσω τους Καθηγητές μου και δασκάλους μου στην Ιατρική Τέχνη και την Πνευμονολογία ειδικότερα, Αν. Καθηγητή κ. Δ. Μπούρο και Καθηγητή κ. Ν. Σιαφάκα για τις επιστημονικές γνώσεις, τις συμβουλές τους και την υποστήριξη τους, σ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας μελέτης.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κ. Δ.Α Σπαντίδο για την συμπαράστασή και τη βοήθεια του στο εργαστηριακό τμήμα της διατριβής μου. Ευχαριστώ επίσης τα υπόλοιπα μέλη της επταμελούς επιτροπής, για την συμμετοχή τους στην διαδικασία αξιολόγησης της διατριβής μου. Ακόμη ευχαριστώ τον Επιμελητή Α' της Πνευμονολογικής Κλινικής Πε.Πα.Γ.Ν.Η. κ. Ν. Τζανάκη, για την πρόθυμη βοήθεια του στην οργάνωση της βιβλιογραφίας του παρόντος.

Για την άψογη συνεργασία που είχαμε, θα πρέπει να ευχαριστήσω τους φίλους και διδάκτορες Γ. Σουρβίνο (που ξενυχτώντας μαζί πάνω από τα Eppendorf, με έμαθε οτιδήποτε γνωρίζω για το εργαστήριο, έτσι ώστε τουλάχιστο να μην κάνω ζημιές!) και Μ. Τσοπανομίχαλου, καθώς και τους υποψήφιους διδάκτορες Δ. Δοκιανάκη, Δ. Αρβανίτη, Μ. Ρεθυμνιωτάκη, Ε. Δετοράκη, Σ. Μυγιάκη, Ι. Γλαράκη, Κ. Μπιλίρη, Ζ. Σαριδάκη, Β. Γάκη, Μ. Παπαδάκη, Μ. Αγγελάκη, Α. Καραχρήστο, Γ. Φλουρή και Ρ. Μαρκάκη.

Τέλος νιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και την υποψήφια διδάκτορα Ι. Γιωτάκη για την υποστήριξη που μου παρείχαν καθόλη τη διάρκεια, αυτού του πονήματος.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....…. III
ΠΕΡΙΟΧΟΜΕΝΑ.....…….. IV
ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ…… VII
ΠΕΡΙΛΗΨΗ……. XXI
ABSTRACT…….. XXIII

Α. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΔΙΑΧΥΤΕΣ ΔΙΑΜΕΣΕΣ ΠΝΕΥΜΟΝΟΠΑΘΕΙΕΣ

1.1 ΓΕΝΙΚΑ……. 1
1.2. ΟΡΟΛΟΓΙΑ……. 2
1.3.ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ…… 2
1.4.ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ…… 3
1.4.1. Αιτιολογική ταξινόμηση…… 4
1.4.1.1.Γνωστής αιτιολογίας…… 5
1.4.1.2.Άγνωστης αιτιολογίας…….. 6
1.4.2.Παθολογοανατομική ταξινόμηση…… 6
1.5. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ
1.5.1.Διάμεσος ιστός πνεύμονα…… 8
1.5.2.Λειτουργίες του διάμεσου ιστού…… 12
1.5.3. Ανακύκλωση διάμεσου ιστού…… 12
1.5.4. Μηχανισμός βλάβης…… 13
1.6. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ…… 14
1.7. ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΕΡΕΥΝΑΣ……. 16

2. ΣΑΡΚΟΕΙΔΩΣΗ

2.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ – ΟΡΙΣΜΟΣ…… 19
2.2.ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ……. 19
2.3. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ…… 20

2.4.ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ…….. 21
2.4.1.Παθογένεια τοπικού κοκκιώματος…… 21
2.4.2. Η εξέλιξη του σχηματισμού του κοκκιώματος…… 23
2.5. ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΤΟΜΙΑ…… 23
2.6. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ…… 25
2.7. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΝΕΥΜΟΝΑ ΚΑΙ ΣΑΡΚΟΕΊΔΩΣΗ…… 27
2.8ΜΕΛΕΤΕΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΣΤΗ ΣΑΡΚΟΕΙΔΩΣΗ…… 27

3. ΙΔΙΟΠΑΘΗΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΙΝΩΣΗ

3.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ – ΟΡΙΣΜΟΣ…… 29
3.2. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ…… 29
3.3. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ…… 30
3.4. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ…… 30
3.5. ΑΝΟΜΟΙΟΓΕΝΕΙΑ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΙΝΩΤΙΚΩΝ ΒΛΑΒΩΝ…… 31
3.6. ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΤΟΜΙΑ…… 33
3.7. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ…… 38
3.8. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΝΕΥΜΟΝΑ ΚΑΙ ΙΠΙ…… 38
3.9 ΜΕΛΕΤΕΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΣΤΗΝ ΙΠΙ……. 39

4. ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ ΚΑΙ ΝΕΟΠΛΑΣΙΕΣ

4.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ…… 41
4.2. ΟΓΚΟΓΟΝΙΔΙΑ…… 41
4.3. ΟΓΚΟ-ΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΑ ΓΟΝΙΔΙΑ…… 42
4.4. ΑΠΩΛΕΙΑ ΕΤΕΡΟΖΥΓΩΤΙΑΣ…… 42
4.5. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΣΤΑΘΕΙΑ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ…… 43
4.6. ΑΣΤΑΘΕΙΑ ΜΙΚΡΟΔΟΡΥΦΟΡΙΚΟΥ DNA……. 46
4.7. ΜΗ ΚΑΚΟΗΘΗ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΔΟΡΥΦΟΡΙΚΗ ΑΣΤΑΘΕΙΑ…….. 47
4.8. ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΔΟΡΥΦΟΡΙΚΕΣ ΑΛΟΙΩΣΕΙΣ…….. 48

Β. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Ι. ΥΠΟΘΕΣΗ…… 49

ΙΙ. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Α. ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Σαρκοείδωση…… 51

Ιδιοπαθής πνευμονική Ίνωση…… 51

Β. ΜΕΘΟΔΟΙ

1. Επεξεργασία DNA

1.1 Εξαγωγή χρωμοσωμικού DNA από πτύελα…… 54

1.2 Απομόνωση χρωμοσωμικού DNA από περιφερικό αίμα 54

2. Ηλεκτροφόρηση DNA……. 55
3. Χρώση του DNA με νιτρικό άργυρο…….. 55
4. Αλυσιδωτή αντίδραση με πολυμεράση (PCR)

4.1. Αρχή της μεθόδου…… 56

4.2. Ρυθμιστικά διαλύματα για την PCR…… 57

5. Ανάλυση απλοτύπου με δείκτες μικροδορυφορικού DNA…… 59
6. Εκκινητές (primers)…….. 59
7. Αξιολόγηση αποτελεσμάτων…… 61
8. Υλικά και εταιρείες προέλευσης…… 62
9. Στατιστική ανάλυση……. 67

ΙΙΙ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Αλλοιώσεις μικροδορυφορικού DNA στη Σαρκοείδωση…… 68

1.α. Ειδικός έλεγχος για το δείγμα με χρωμοσωμική απάλειψη..... 73

2. Αλλοιώσεις μικροδορυφορικού DNA στην Ιδιοπαθή Πνευμονική Ίνωση…… 76

IV. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

1. Σαρκοείδωση..... 80
2. Ιδιοπαθής Πνευμονική Ίνωση..... 83

V. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ..... 86

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ..... 87

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΟΝΟΜΑ: **Δημήτρης**

ΠΑΤΡΩΝΥΜΟ: **Αδάμ**

ΕΠΩΝΥΜΟ: **Βασιλάκης**

ΧΡΟΝΟΛΟΓΙΑ ΓΕΝΝΗΣΕΩΣ: 02/06/1968

ΤΟΠΟΣ ΓΕΝΝΗΣΕΩΣ: Χανιά, Κρήτη

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ: Άγαμος

ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ: Δυρραχίου 12, 713 07, Ηράκλειο, Κρήτη

ΤΗΛΕΦΩΝΟ: 081 / 237113

Email: dimvas@med.uoc.gr

Ι. ΑΚΑΔΗΜΑΪΚΗ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ:

1986-1992 **Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Κρήτης**

30/07/92 Πτυχίο Ιατρικής

23/11/1998 Τίτλος Ειδικότητας Πνευμονολογίας

ΙΙ. ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ:

- Αγγλικά
- Γερμανικά

ΙΙΙ. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ:

- Κλινική Άσκηση κατά την διάρκεια της προπτυχιακής εκπαίδευσης στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Ηρακλείου

- Κλινική Άσκηση στη Χειρουργική στην Πανεπιστημιακή Κλινική Γενικής Χειρουργικής και Χειρουργική Μονάδα Εντατικής Θεραπείας του Kantospital Basel, Basel , Ελβετία, 01/07/1991-31/07/1991

- Κλινική Άσκηση στην Παθολογία στην Πανεπιστημιακή Κλινική Γενικής Παθολογίας του Karl-Franzens-Universtitaet, Medizinische Klinik, Graz, Αυστρία, 05/08/1992-28/08/1992

- Εσωτερικός βοηθός Παθολογικής κλινικής του 412 Γενικού Στρατιωτικού Νοσοκομείου Ξάνθης, Ξάνθη, 14/02/1993-22/02/1994

- Υπηρεσία Υπαίθρου (14 μήνες) ως Αγροτικός Γιατρός Πρίνας Λασιθίου

- Εσωτερικός βοηθός Πνευμονολογικής κλινικής του Πανεπιστημιακό Νοσοκομείου Ηρακλείου, Ηράκλειο, 18/07/1995-24/02/1998

- Εσωτερικός βοηθός Μονάδας Εντατικής Θεραπείας του Πανεπιστημιακό Νοσοκομείου Ηρακλείου, Ηράκλειο, 24/02/1998-24/07/1998

- Εσωτερικός βοηθός της 1^{ης} Πνευμονολογικής Κλινικής Lungenklinik Heckeshorn, για εκπαίδευση στην Πλευροσκόπηση, Βρογχοσκόπηση (εύκαμπτο-άκαμπτο βρογχοσκόπιο), με υποτροφία της European Respiratory Society, Berlin, Γερμανία, 11/01/1999-11/04/1999

IV. ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ, ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ:

- Πολυεθνική, πολυκεντρική κλινική μελέτη:

  "**Safety and efficacy of Clarithromycin modified release tablet and Clarithromycin, in the treatment of acute exacerbation of Chronic Bronchitis**" (W96-213)

  [Έλεγχος από Abbot Laboratories, USA: "satisfactory", ανώτερος βαθμός].

- Εκπόνηση Διδακτορικής Διατριβής στην Ιατρική Σχολή Ηρακλείου με θέμα: «**Μελέτη της αστάθειας μικροδορυφορικού DNA (microsatellite instability) σε κυτταρολογικά δείγματα ασθενών με διάμεση διηθητική**

πνευμονοπάθεια» Συνεργασία της Πανεπιστημιακής Πνευμονολογικής Κλινικής και του Εργαστηρίου Ιολογίας, Ηράκλειο Κρήτης.

- **Επισκέπτης ερευνητής** (Research fellow) στο Εργαστήριο Interstitial Lung Disease Unit at Imperial College, National Heart and Lung Institute, London, UK, με θέμα: «Γενετικές αλλαγές σε κυτταρολογικά δείγματα από BAL ασθενών με σκληρόδερμα και πνευμονική ίνωση»

V. ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ:

1. **D. A. VASSILAKIS,** G.SOURVINOS, M.MARKATOS, K.PSATHAKIS, D.SPANDIDOS, N. M. SIAFAKAS, AND D.BOUROS.
   Microsatellite Instability and Loss of Heterozygosity in Pulmonary Sarcoidosis
   Am J Respir Crit Care Med 1999 (In press)

2. **D. A. VASSILAKIS,** G.SOURVINOS, D.SPANDIDOS, N. M. SIAFAKAS, AND D.BOUROS.
   Microsatellite DNA Alterations in Idiopathic Pulmonary Fibrosis (submitted)

3. **D. A. VASSILAKIS,** G.SOURVINOS, D.SPANDIDOS, N. M. SIAFAKAS,
   AND D.BOUROS.
   Chromosomal Deletion At 17q And Loss Of Heterozygosity In A Patient With Pulmonary Sarcoidosis (submitted)

VI. ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ:

1. **Δ. ΒΑΣΙΛΑΚΗΣ,** Χ. ΘΕΟΔΩΡΟΥ, Δ. ΛΑΜΠΑΔΑΡΙΟΣ ΚΑΙ Α. ΚΑΦΑΤΟΣ.

Υγεία και διατροφή των φοιτητών της Ιατρικής του Πανεπιστημίου Κρήτης.
Ιατρική 1991, 59: 495-501

2. **Δ. Α. ΒΑΣΙΛΑΚΗΣ,** Γ. ΣΟΥΡΒΙΝΟΣ, Ι. Κ. ΓΙΩΤΑΚΗ, Δ. ΣΠΑΝΤΙΔΟΣ, Ν. Μ. ΣΙΑΦΑΚΑΣ ΚΑΙ Δ. ΜΠΟΥΡΟΣ.
Γενετικές αλλοιώσεις στη σαρκοείδωση (έχει υποβληθεί στο περιοδικό *Πνεύμων*)

3. Π. ΚΟΡΑΚΑΣ, Α. ΒΟΛΟΥΔΑΚΗ, Μ. ΔΑΣΚΑΛΟΓΙΑΝΝΑΚΗ, Ε. ΜΑΓΚΑΝΑΣ, Π. ΠΡΑΣΟΠΟΥΛΟΣ, **Δ. ΒΑΣΙΛΑΚΗΣ** ΚΑΙ Ν. ΓΚΟΥΡΤΣΟΓΙΑΝΝΗΣ.
Εντόπιση της Σαρκοείδωσης στην κοιλιά: Μελέτη με υπολογιστική Τομογραφία.
(έχει υποβληθεί στο περιοδικό *Ελληνική Ακτινολογία*)

VII. ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ:

1. **D. A. VASSILAKIS,** A. KAFATOS, D. KOUNALI AND D. LABADARIOS.
Physical Activity, Health and Nutritional Status of the Medical students at the University of Crete.
2nd International Conference on Nutrition and Fitness, Athens, May 23-25, 1992

2. **D. A. VASSILAKIS**, K. PSATHAKIS, C. MELISSINOS, A. VOLOUDAKI, N. M. SIAFAKAS AND D. BOUROS.
Two types of eosinofilic granuloma of the lung?
International Congress on Sarcoidosis, Granulomatous and Vasculitic Disorders, 5th WASSOG Meeting, Essen, Germany, September 17-19, 1997

3. **D. A. VASSILAKIS,** E. G. TZORTZAKI, G. SOURVINOS, M. MARKATOS, K. PSATHAKIS, D. SPANDIDOS, N. M. SIAFAKAS AND D. BOUROS.

Microsatellite instability in patients with sarcoidosis

International Congress on Sarcoidosis, Granulomatous and Vasculitic Disorders, 5th WASSOG Meeting, Essen, Germany, September 17-19, 1997

4. **D. A. VASSILAKIS,** G. SOURVINOS, M. MARKATOS, K. PSATHAKIS, D. BOUROS, D. SPANDIDOS, AND N.M. SIAFAKAS.
Microsatellite instability in patients with sarcoidosis and idiopathic pulmonary fibrosis
ERS Annual Congress, Berlin, Germany, September 20-24, 1997

5. **D. A. VASSILAKIS**, G. SOURVINOS, M. MARKATOS, K. PSATHAKIS, D. BOUROS, D. SPANDIDOS, AND N. M. SIAFAKAS.
Increased genetic alterations in patients with sarcoidosis and idiopathic pulmonary fibrosis
ATS International Conference, Chicago, USA, April 24-29, 1998

6. A. VOLOUDAKI, M. DASKALOGIANNAKI, P. KORAKAS, D. BOUROS, P. PRASSOPOULOS, **D. A. VASSILAKIS**, N. GOURTSOGIANNIS.
Sarcoidosis: CT evaluation of abdominal findings.
ESGAR 9th Annual Meeting, Marbella, Spain, May 24-28, 1998

7. **D. A. VASSILAKIS,** N. XIROUHAKI, K. PSATHAKIS, A.VOLOUDAKI, I. GIOTAKI, N. M. SIAFAKAS AND D. BOUROS.
BAL fluid (BALF) findings in Pulmonary Langerhans Cell Granulomatosis: our experience
6th International Conference on Bronchoalveolar Lavage, Corfu, Greece, June 24-27, 1998

8. **D. A. VASSILAKIS,** A. PAPAIOANNOU, A. ALEGAKIS, N. M. SIAFAKAS, A. M. TSATSAKIS AND D. BOUROS.
Pharmacokinetics of lidocaine after nasal, oropharygeal and endotrachial administration during BAL

6th International Conference on Bronchoalveolar Lavage, Corfu, Greece, June 24-27, 1998

9. **D. A. VASSILAKIS,** A. PAPAIOANOU, A. ALEGAKIS, N. M. SIAFAKAS, A. M. TSATSAKIS AND D. BOUROS.
Pharmacokinetics of lidocaine after nasal, orofarygeal and endotrachial administration in fiberoptic bronchoscopy
ERS Annual Congress, Geneva, Switzerland, September 19-23, 1998

10. **D. A. VASSILAKIS,** A. KRASSAS, M. CHRISTODOULOU, N. BACHLITZANAKIS, I. GIOTAKI, N. M. SIAFAKAS AND D. BOUROS.
Characteristics of adult near-drowning victims, in Heraklio, Crete, during period 1992 - 1997
ERS Annual Congress, Geneva, Switzerland, September 19-23, 1998

11. **D. A. VASSILAKIS,** I. GIOTAKI, G. CHALKIADAKIS, I. DROSITIS, N. M. SIAFAKAS AND D. BOUROS.
Thoracoscopic lung biopsy in the diagnosis of interstitial lung disease: our experience
ERS Annual Congress, Geneva, Switzerland, September 19-23, 1998

12. **D. A. VASSILAKIS,** M. CHRISTODOULOU, A. KRASSAS, I. GIOTAKI, N. BACHLITZANAKIS, N. M. SIAFAKAS AND D. BOUROS.
Near-drowning, in Heraklio, Crete, during the period 1992 - 1998
ATS International Conference, San Diego, USA, April 23-28, 1999

13. A. VOLOUDAKI, E. MAGKANAS, M. DASKALOGIANNAKI, P. KORAKAS, **D. A. VASSILAKIS**, N. M. SIAFAKAS, N. GOURTSOGIANNIS AND D. BOUROS.
Hepatosplenic Sarcoidosis: CT evaluation
ATS International Conference, San Diego, USA, April 23-28, 1999

14. P. ARGYROPOULOU, S. TRIFON. D. BOUROS, I. GIOTAKI, **D. VASSILAKIS**, A. RASSIDAKIS, F. VLASTOS, CH. ALAMARA AND D. PATAKAS.
Efficacy and safety of Modified Clarithromycin in treatment of acute exacerbation of chronic bronchitis.
ATS International Conference, San Diego, USA, April 23-28, 1999

15. **D. A. VASSILAKIS,** G. SOURVINOS, D. BOUROS, D. SPANDIDOS AND N.M. SIAFAKAS.
Idiopathic pulmonary fibrosis: is there a genetic alteration?
3rd State of the Art, Athens, Greece, May 21-23, 1999

16. **D. A. VASSILAKIS,** N. SCHOENFELD, W. FRANK, M. SERKE, R. LODDENKEMPER
The changing pattern of interventions in bronchology
ERS Annual Congress, Madrid, Spain, October 09-13, 1999

17. **D. A. VASSILAKIS,** G. SOURVINOS, D. BOUROS, D. SPANDIDOS AND N.M. SIAFAKAS.
Genetic alterations in patients with idiopathic pulmonary fibrosis
ERS Annual Congress, Madrid, Spain, October 09-13, 1999

VII. ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ:

1. **Δ. Α. ΒΑΣΙΛΑΚΗΣ,** Κ. Δ. ΧΑΤΖΑΚΗΣ, Κ. ΨΑΘΑΚΗΣ, Ν. ΞΗΡΟΥΧΑΚΗ, Ι. ΔΡΟΣΙΤΗΣ, Δ. ΜΠΟΥΡΟΣ ΚΑΙ Ν. Μ. ΣΙΑΦΑΚΑΣ.
Ιστιοκύττωση-Χ
8ο Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Άγιος Νικόλαος, 24-27 Οκτωβρίου 1996

2. Κ. Δ. ΧΑΤΖΑΚΗΣ, **Δ. Α. ΒΑΣΙΛΑΚΗΣ,** Δ. ΚΟΥΝΑΛΑΚΗΣ, Δ. ΜΠΟΥΡΟΣ ΚΑΙ Ν. Μ. ΣΙΑΦΑΚΑΣ.

Συγκριτική νοσηρότητα παθήσεων αναπνευστικού σε υπερήλικες και μέσης ηλικίας ασθενείς νοσηλευθέντων στο Π. Ν. Η.

8ο Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Άγιος Νικόλαος, 24-27 Οκτωβρίου 1996

3. **Δ. Α. ΒΑΣΙΛΑΚΗΣ,** Κ. ΨΑΘΑΚΗΣ, Χ. ΜΕΛΙΣΣΙΝΟΣ, Α. ΒΟΛΟΥΔΑΚΗ, Ν. Μ. ΣΙΑΦΑΚΑΣ ΚΑΙ Δ. ΜΠΟΥΡΟΣ.
   Δυο τύποι ηωσινοφίλου κοκκιώματος του πνεύμονος;
   9ο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Θεσσαλονίκη, 4-7 Δεκεμβρίου 1997

4. Ι. ΓΙΩΤΑΚΗ, Ν. ΤΖΑΝΑΚΗΣ, Φ. ΒΛΑΣΕΡΟΥ, Ν. ΞΗΡΟΥΧΑΚΗ, Γ. ΠΑΤΣΟΥΡΑΚΗΣ, **Δ. Α. ΒΑΣΙΛΑΚΗΣ,** Δ. ΜΠΟΥΡΟΣ ΚΑΙ Ν. Μ. ΣΙΑΦΑΚΑΣ.
   Η εμπειρία του κέντρου μας στην εκπαίδευση ασθενών με άσθμα
   9ο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Θεσσαλονίκη, 4-7 Δεκεμβρίου 1997

5. **Δ. Α. ΒΑΣΙΛΑΚΗΣ**, Γ. ΣΟΥΡΒΙΝΟΣ, Μ. ΜΑΡΚΑΤΟΣ, Κ. ΨΑΘΑΚΗΣ, Δ. ΣΠΑΝΤΙΔΟΣ, Ν. Μ. ΣΙΑΦΑΚΑΣ ΚΑΙ Δ. ΜΠΟΥΡΟΣ.
   Αστάθεια μικροδορυφορικού DNA σε ασθενείς με σαρκοείδωση και ιδιοπαθή πνευμονική ίνωση
   9ο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Θεσσαλονίκη, 4-7 Δεκεμβρίου 1997

6. Β. ΧΑΝΙΩΤΗΣ, Κ. ΣΤΕΦΑΝΑΚΗ, Μ. ΓΡΗΓΟΡΙΟΥ, Γ. ΔΑΤΣΕΡΗΣ, **Δ. Α. ΒΑΣΙΛΑΚΗΣ,** Π. ΚΑΝΑΒΑΡΟΣ ΚΑΙ Γ. ΔΕΛΙΔΗΣ.
   Πνευμονική Λεμφαγγειολειομυωμάτωση: Παρουσίαση μιας περίπτωσης
   6ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, Αλεξανδρούπολη, 21-24 Μαΐου, 1998

7. Π. ΚΟΡΑΚΑΣ, Α. ΒΟΛΟΥΔΑΚΗ, Μ. ΔΑΣΚΑΛΟΓΙΑΝΝΑΚΗ, Ε. ΜΑΓΚΑΝΑΣ, Π. ΠΡΑΣΟΠΟΥΛΟΣ, **Δ. ΒΑΣΙΛΑΚΗΣ** ΚΑΙ Ν. ΓΚΟΥΡΤΣΟΓΙΑΝΝΗΣ.

Εντόπιση της Σαρκοείδωσης στην κοιλιά: Μελέτη με υπολογιστική Τομογραφία.

Πανελλήνιο Ακτινολογικό Συνέδριο, Θεσσαλονίκη, 23-27 Σεπτεμβρίου 1998

8. Π. ΜΑΡΓΑΡΙΤΣΑΝΑΚΗ, **Δ. Α. ΒΑΣΙΛΑΚΗΣ**, Α. ΒΟΛΟΥΔΑΚΗ, Γ. ΧΑΛΚΙΑΔΑΚΗΣ, Ι. ΔΡΟΣΙΤΗΣ, Δ. ΤΑΜΙΩΛΑΚΗΣ, Α. ΚΑΛΟΓΕΡΑΚΗ, Δ. ΜΩΡΑΪΤΑΚΗ, Ν. Μ. ΣΙΑΦΑΚΑΣ ΚΑΙ Δ. ΜΠΟΥΡΟΣ.
   Ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση: η εμπειρία της κλινικής μας
   9^{ο} Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Ηράκλειο, 5-8 Νοεμβρίου 1998

9. **Δ. Α. ΒΑΣΙΛΑΚΗΣ**, Γ. ΣΟΥΡΒΙΝΟΣ, Μ. ΜΑΡΚΑΤΟΣ, Κ. ΨΑΘΑΚΗΣ, Δ. ΣΠΑΝΤΙΔΟΣ, Ν. Μ. ΣΙΑΦΑΚΑΣ ΚΑΙ Δ. ΜΠΟΥΡΟΣ.
   Γενετικές αλλαγές σε ασθενείς με διάμεση διηθητική πνευμονοπάθεια
   9^{ο} Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Ηράκλειο, 5-8 Νοεμβρίου 1998

10. **Δ. Α. ΒΑΣΙΛΑΚΗΣ**, Κ. ΨΑΘΑΚΗΣ, Χ. ΜΕΛΙΣΣΙΝΟΣ, Α. ΒΟΛΟΥΔΑΚΗ, Κ. ΧΑΤΖΑΚΗΣ, Γ. ΜΕΤΑΞΑΡΗΣ, Ν. Μ. ΣΙΑΦΑΚΑΣ ΚΑΙ Δ. ΜΠΟΥΡΟΣ.
    Ηωσινόφιλο κοκκίωμα πνεύμονος: η εμπειρία μας από τη φυσική πορεία της νόσου
    9^{ο} Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Ηράκλειο, 5-8 Νοεμβρίου 1998

11. **Δ. Α. ΒΑΣΙΛΑΚΗΣ,** Α. ΚΡΑΣΣΑΣ, Μ. ΧΡΙΣΤΟΔΟΥΛΟΥ, Ν. ΜΠΑΧΛΙΤΖΑΝΑΚΗΣ, Ι. ΓΙΩΤΑΚΗ, Ν. Μ. ΣΙΑΦΑΚΑΣ ΚΑΙ Δ. ΜΠΟΥΡΟΣ.
    Παρολίγον πνιγμοί στο Ηράκλειο κατά την περίοδο 1992 - 1997
    9^{ο} Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Ηράκλειο, 5-8 Νοεμβρίου 1998

12. **Δ. Α. ΒΑΣΙΛΑΚΗΣ**, Γ. ΧΑΛΚΙΑΔΑΚΗΣ, Ι. ΔΡΟΣΙΤΗΣ, Ι. ΓΙΩΤΑΚΗ, Γ. ΜΕΤΑΞΑΡΗΣ, Α. ΒΑΣΙΛΑΚΗ, Ν. Μ. ΣΙΑΦΑΚΑΣ ΚΑΙ Δ. ΜΠΟΥΡΟΣ.

Η εμπειρία μας στη διάγνωση των διηθητικών διαμέσων πνευμονοπαθειών με βιντεοθωρακοσκοπική βιοψία πνεύμονος
9ο Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Ηράκλειο, 5-8 Νοεμβρίου 1998

13. **Δ.Α. ΒΑΣΙΛΑΚΗΣ,** Ν. ΤΖΑΝΑΚΗΣ, Α. ΠΑΠΑΪΩΑΝΝΟΥ, Α. ΑΛΕΓΚΑΚΗΣ, Ν. Μ. ΣΙΑΦΑΚΑΣ, Α. Μ. ΤΣΑΤΣΑΚΗΣ, ΚΑΙ Δ. ΜΠΟΥΡΟΣ.
Φαρμακοκινητική της λιδοκαϊνης κατά την βρογχοσκόπηση
9ο Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Ηράκλειο, 5-8 Νοεμβρίου 1998

14. **Δ.Α. ΒΑΣΙΛΑΚΗΣ,** Γ. ΧΑΛΚΙΑΔΑΚΗΣ, Ι. ΔΡΟΣΙΤΗΣ, Ι. ΓΙΩΤΑΚΗ, Α. ΒΟΛΟΥΔΑΚΗ, Ε. ΛΑΜΠΡΟΓΙΑΝΝΑΚΗΣ, Ν. Μ. ΣΙΑΦΑΚΑΣ ΚΑΙ Δ. ΜΠΟΥΡΟΣ.
Αντιμετώπιση φυματιώδους σπονδυλίτιδας με θωρακοσκοπική παροχέτευση
9ο Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Ηράκλειο, 5-8 Νοεμβρίου 1998

15. **Δ. Α. ΒΑΣΙΛΑΚΗΣ,** Κ. ΧΑΤΖΑΚΗΣ, Κ. ΣΤΕΦΑΝΑΚΗ, Α. ΒΟΛΟΥΔΑΚΗ, Ν. ΤΖΑΝΑΚΗΣ, Ι. ΜΗΤΡΟΥΣΚΑ, Γ. ΧΑΛΚΙΑΔΑΚΗΣ, Ι. ΔΡΟΣΙΤΗΣ, Δ. ΜΠΟΥΡΟΣ, ΚΑΙ Ν. Μ. ΣΙΑΦΑΚΑΣ.
Αιμόπτυση σαν πρώτο σύμπτωμα ηωσινοφίλου κοκκιώματος του πνεύμονος
9ο Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Ηράκλειο, 5-8 Νοεμβρίου 1998

16. **Δ. Α. ΒΑΣΙΛΑΚΗΣ,** Χ. ΛΑΜΠΡΑΚΗΣ, Ν. ΤΖΑΝΑΚΗΣ, Μ. ΔΑΣΚΑΛΟΓΙΑΝΝΑΚΗ, Κ. ΣΤΕΦΑΝΑΚΗ, Γ. ΧΑΛΚΙΑΔΑΚΗΣ, Ι. ΔΡΟΣΙΤΗΣ, Ν. Μ. ΣΙΑΦΑΚΑΣ ΚΑΙ Δ. ΜΠΟΥΡΟΣ.
Λεμφαγγειολειομυομάτωση: παρουσίαση μιας περίπτωσης
9ο Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Ηράκλειο, 5-8 Νοεμβρίου 1998

17. **Δ. Α. ΒΑΣΙΛΑΚΗΣ,** Ν. ΞΗΡΟΥΧΑΚΗ, Ν. ΤΖΑΝΑΚΗΣ, Γ. ΜΑΛΤΕΖΑΚΗΣ, Κ. ΨΑΘΑΚΗΣ, Α. ΒΟΛΟΥΔΑΚΗ, Ι. ΓΙΩΤΑΚΗ, Ν. Μ. ΣΙΑΦΑΚΑΣ ΚΑΙ Δ. ΜΠΟΥΡΟΣ.
Ευρήματα από το βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα στο ηωσινόφιλο κοκκίωμα του πνεύμονος
9ο Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Ηράκλειο, 5-8 Νοεμβρίου 1998

18. Κ. ΧΑΤΖΑΚΗΣ, **Δ. Α. ΒΑΣΙΛΑΚΗΣ,** Χ. ΛΑΜΠΡΑΚΗΣ**,** Δ. ΜΠΟΥΡΟΣ ΚΑΙ Ν. Μ. ΣΙΑΦΑΚΑΣ.
    Ενδοκυψελιδική αιμορραγία οφειλόμενη σε αγγειίτιδα μικρών αγγείων
    9^{ο} Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Ηράκλειο, 5-8 Νοεμβρίου 1998

19. Γ. ΜΕΤΑΞΑΡΗΣ, Π. ΣΚΟΡΔΙΛΗΣ, Σ. ΣΠΑΝΟΥΔΑΚΗΣ, Ι. ΜΟΥΖΑΣ, Χ. ΓΚΟΓΚΑΣ, Α. ΝΤΕΛΑΚΗ, **Δ. Α. ΒΑΣΙΛΑΚΗΣ**, Π. ΧΕΡΑΣ ΚΑΙ Η. ΚΟΥΡΟΥΜΑΛΗΣ.
    Χρόνια παγκρεατίτις στην Κρήτη. Κλινικά, απεικονιστικά ευρήματα. Εμπειρία πενταετίας
    9^{ο} Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Ηράκλειο, 5-8 Νοεμβρίου 1998

VIII. ΜΕΤΑΦΡΑΣΕΙΣ ΒΙΒΛΙΩΝ

1. **West J**. ***Παθοφυσιολογία των Νοσημάτων του Πνεύμονα.***
   [Pulmonary Pathophysiology - the essentials, 5th ed., Williams and Wilkins, 1998] Ελληνική έκδοση 1999, Επιστημονικές εκδόσεις «Γρηγόριος Παρισιάνος».

2. **ΕΓΧΕΙΡΙΔΙΟ MERK** (συμβολή στο τμήμα: «4. Πνευμονικές Νόσοι»)
   [The Merk Manual, 16th ed., Merk Research Laboratories, 1992]
   Ελληνική έκδοση 1998, Επιστημονικές εκδόσεις «Γρηγόριος Παρισιάνος».

IX. ΔΙΔΑΚΤΙΚΟ ΕΡΓΟ

- Διδασκαλία στους πεμπτοετείς φοιτητές Ιατρικής του Παν/μιου Κρήτης, στο μάθημα «Ιατρική της Εργασίας».

- Διδασκαλία στους τριτοετείς φοιτητές Ιατρικής του Παν/μιου Κρήτης, στο μάθημα «Προπαιδευτική Κλινική»

- Συμμετοχή ως εκπαιδευτής στα Μεταικπαιδευτικά μαθήματα της Πνευμονολογικής Κλινικής του Παν/μιου Κρήτης, που απευθύνονταν στο επιστημονικό προσωπικό του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Κρήτης και του Βενιζελίου Πανάνειου Νοσοκομείου Ηρακλείου, κατά τη διάρκεια της ειδικότητας στην Πνευμονολογική Κλινική.

- Προετοιμασία και παρουσίαση ικανού αριθμού ενδιαφερόντων περιστατικών, στα πλαίσια των Μετεκπαιδευτικών μαθημάτων Παθολογίας, που οργανώνει ο Τομέας Παθολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης.

Χ. ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ

- **European Respiratory Society: Respiratory Training Fellowship**, από τον Ιανουάριο 1999, ως τον Απρίλιο 1999, για την Lungenklinik Heckeshorn (καθ. R. Loddenkemper), με γνωστικό αντικείμενο ενδοσκόπηση (εύκαμπτη- άκαμπτη βρογχοσκόπηση, βραχυθεραπεία, τοποθέτηση stents, υψηλής συχνότητας ηλεκτροκαυτηρίαση, πλευροσκόπηση)

- Υποτροφία από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών, για την επιτυχή ολοκλήρωση του 4^{ου} έτους σπουδών, στην Ιατρική Σχολή Παν/μίου Κρήτης

- Υποτροφία από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών, για την επιτυχή ολοκλήρωση του 5^{ου} έτους σπουδών, στην Ιατρική Σχολή Παν/μίου Κρήτης

- Υποτροφία από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών, για την επιτυχή ολοκλήρωση του 6^{ου} έτους σπουδών, στην Ιατρική Σχολή Παν/μίου Κρήτης

XI. ΒΡΑΒΕΙΑ

Έπαθλο "ΟΔΥΣΣΕΑ ΚΑΛΛΙΓΙΑΝΝΗ":

ΒΑΣΙΛΑΚΗΣ ΔΑ, ΣΟΥΡΒΙΝΟΣ Γ, ΓΙΩΤΑΚΗ Ι, ΜΑΡΚΑΤΟΣ Μ, ΨΑΘΑΚΗΣ Κ, ΣΠΑΝΤΙΔΟΣ ΔΑ, ΣΙΑΦΑΚΑΣ ΝΜ, ΜΠΟΥΡΟΣ Δ.

Αστάθεια μικροδορυφορικού DNA και απώλεια ετεροζυγωτίας σε ασθενείς με σαρκοείδωση.

9ο Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Ηράκλειο, 5-8 Νοεμβρίου 1998.

XII. ΜΕΛΟΣ ΣΕ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΤΑΙΡΙΕΣ

1. American College of Chest Physicians
2. European Respiratory Society
3. American Thoracic Society
4. Ελληνική Πνευμονολογική Εταιρία

XIII. ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ ΜΕ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ

1. 2nd International Conference on Nutrition and Fitness, Athens, May 23-25, 1992
2. 8ο Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Άγιος Νικόλαος, 24-27 Οκτωβρίου 1996
3. International Congress on Sarcoidosis, Granulomatous and Vasculitic Disorders,
   5th WASSOG Meeting, Essen, Germany, September 17-19, 1997
4. ERS Annual Congress, Berlin, Germany, September 20-24, 1997
5. 9ο Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο Νοσημάτων Θώρακος, Θεσσαλονίκη, 4-7
   Δεκεμβρίου 1997
6. ATS International Conference, Chicago, USA, April 24-29, 1998
7. 6ο Πανελλήνιο Συνέδριο Παθολογικής Ανατομικής, Αλεξανδρούπολη, 21-24Μαΐου, 1998
8. ESGAR 9th Annual Meeting, Marbella, Spain, May 24-28, 1998
9. 6th International Conference on Bronchoalveolar Lavage, Corfu, Greece, June 24-

27, 1998

10. ERS Annual Congress, Geneva, Switzerland, September 19-23, 1998

11. Πανελλήνιο Ακτινολογικό Συνέδριο, Θεσσαλονίκη, 23-27 Σεπτεμβρίου 1998

12. 9^{ο} Παγκρήτιο Ιατρικό Συνέδριο, Ηράκλειο, 5-8 Νοεμβρίου 1998

13. ATS International Conference, San Diego, USA, April 23-28, 1999

14. 3rd State of the Art, Athens, Greece, May 21-23, 1999

15. ERS Annual Congress, Madrid, Spain, October 09-13, 1999

XIV. ΚΟΙΝΩΝΙΚΗ ΠΡΟΣΦΟΡΑ

- Στρατιωτική θητεία (15 μήνες) ως οπλίτης γιατρός στο 412 Γενικό Στρατιωτικό Νοσοκομείο Ξάνθης

- Εθελοντική Συμμετοχή στην Υγειονομική αποστολή του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου στο Καστελόριζο (21-23/06/1996)

- Εθελοντική Συμμετοχή στην Υγειονομική αποστολή του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου στην Τήλο (13-16/06/1997)

- Εθελοντική Συμμετοχή στην Υγειονομική αποστολή του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου στην Κάρπαθο (15-21/10/1997)

- Εθελοντική Συμμετοχή στην Υγειονομική αποστολή του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου στην Κάσο (21-24/05/1998)

XV. ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΩΝ ΣΕΜΙΝΑΡΙΩΝ

- **18^{ο} Σχολείο Υποβρύχιας και Καταδυτικής Ιατρικής,** διοργάνωση: Πολεμικό Ναυτικό, Ναυτικό Νοσοκομείο Αθηνών, Μάιος - Ιούνιος 1995

- **Σεμινάρια Πληροφορικής** του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου

  (MS-Windows 95, MS-Word, MS-Excel και Εφαρμοσμένη Ιατρική Στατιστική, MS-PowerPoint), Μάρτιος 1998

- **Clinical Rounds in Infectious Diseases**, στα πλαίσια του 9^{ου} European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Berlin, Germany, 21-24/03/1999

- **Pneumonologisch-infektiologisches Seminar mit Einfuerung in die Bronchoskopie.** Οργάνωση: Prof. Lode, Berlin, Germany, 29-30/01/1999

XVI. ΑΛΛΕΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΕΣ:

Στον ελεύθερο μου χρόνο ασχολούμαι, μεταξύ άλλων, με ελεύθερες - αυτόνομες καταδύσεις καθώς και υποβρύχιο κυνήγι με ελεύθερη κατάδυση και είμαι συντάκτης σε δυο περιοδικά του χώρου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι διάμεσες διηθητικές πνευμονοπάθειες (ΔΔΠ) είναι μία ανομοιογενής ομάδα παθήσεων του πνεύμονος, οι οποίες χαρακτηρίζονται από αποδιοργάνωση των κυψελιδικών τοιχωμάτων και απώλεια των λειτουργικών τριχοειδοκυψελιδικών μονάδων. Με βάση τα νεώτερα δεδομένα της βιολογίας, είναι φανερό, ότι υπάρχουν κοινά στοιχεία στην παθογένεια διαφόρων ανοσολογικών πνευμονικών νόσων. Παράδειγμα η μη ειδική κυψελιδίτιδα είναι κοινό εύρημα σε πολλές διάμεσες πνευμονικές νόσους, πολύ λίγα όμως γνωρίζουμε για τη μοριακή βάση των ασθενειών αυτών. Παράλληλα για την ιδιοπαθή πνευμονική ίνωση τουλάχιστον έχει βρεθεί να υπάρχει αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου πνεύμονα ήδη από το 1965. Ωστόσο η αιτία είναι άγνωστη όπως επίσης και η μοριακή βάση των νοσημάτων αυτών.

Πρόσφατα είχε αποδειχθεί ότι η ύπαρξη Μικροδορυφορικής αστάθειας (ΜΑ) είναι κοινή ανωμαλία των καρκινικών κυττάρων, η οποία συνοδεύεται με ανωμαλίες στο μηχανισμό αποκατάστασης του DNA. Η ύπαρξη ΜΑ έχει διαπιστωθεί, σε κακοήθειες διαφόρων συστημάτων και σε καρκινώματα του πνεύμονα. Η ανίχνευση νέων ογκοκατασταλτικών γονιδίων (ΟΚΓ) παρέχει πληροφορίες για τη μοριακή βάση της ανάπτυξης του καρκίνου. Η απενεργοποίηση των ΟΚΓ παίζει σημαντικό ρόλο στην καρκινογένεση. Σήμερα η ανίχνευση της απώλειας ετεροζυγωτίας (ΑΕ), με τη χρήση υψηλά πολυμορφικών δεικτών μικροδορυφορικού DNA, είναι η πιο συχνή μέθοδος που χρησιμοποιείται για τον εντοπισμό στο γονιδίωμα θέσεων με αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης υποψηφίων ΟΚΓ.

Δεν έχει όμως μελετηθεί μέχρι σήμερα η ύπαρξη των παραπάνω γενετικών αλλαγών (και άρα η αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης νεοπλασίας), σε πρόδρομες μελέτες σε ασθενείς με ΔΔΠ. Η παρούσα εργασία σχεδιάσθηκε με σκοπό να μελετήσει τις γενετικές αποκλίσεις σε επίπεδο μικροδορυφορικού DNA, σε ασθενείς με ΔΔΠ, κάτι που θα μπορούσε να αποτελεί μέρος της πολύπλοκης γενετικής βάσης των παραπάνω νόσων. Απ' όσο γνωρίζουμε αυτή η εργασία αποτελεί την πρώτη τέτοιου είδους γενετική μελέτη σε ασθενείς με ΔΔΠ.

Μελετήσαμε κύτταρα πτυέλων από ασθενείς με σαρκοείδωση και ιδιοπαθή πνευμονική ίνωση (ΙΠΙ), όπου έγινε ανίχνευση ΜΑ και ΑΕ. Οι παραπάνω

ασθένειες επιλέχθηκαν σαν αντιπροσωπευτικά δείγματα ΔΔΠ, όπου η μεν πρώτη είναι μια συστηματική νόσος με ήπια πορεία και μικρή πιθανότητα ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονος, ενώ η δεύτερη είναι μια νόσος με προοδευτική επιδείνωση και υψηλή πιθανότητα ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονος. Στη συνέχεια μελετήθηκε η δυνατότητα εφαρμογής του σαν δείκτης βαρύτητας της των δυο νόσων.

Εξετάσαμε κυτταρολογικά δείγματα πτυέλων από 30 ασθενείς με σαρκοείδωση και 26 ασθενείς με ΙΠΙ, χρησιμοποιώντας 10 πολυμορφικούς δείκτες μικροδορυφορικού DNA που εντοπίζονται σε διάφορους χρωμοσωμικούς βραχίονες. Η ηλεκτροφορητική εικόνα κάθε δείγματος συγκρινόμενη με την αντίστοιχη εικόνα περιφερικού αίματος αναγνωρίστηκε ως ΜΑ στην περίπτωση που υπήρχε διαφορά στην κινητικότητα των μικροδορυφορικών αλληλόμορφων, ενώ ως ΑΕ θεωρήθηκε κάθε μείωση (τουλάχιστο 50%) στην ένταση ενός αλληλόμορφου συσχετιζόμενο με το άλλο, όπως αυτή καθορίστηκε από τη σύγκριση του φυσιολογικού με το DNA προερχόμενο από τα πτύελα.

Τα **αποτελέσματα** μας έδειξαν ότι: 14 (47%) ασθενείς με σαρκοείδωση και 13 (50%) ασθενείς με ΙΠΙ, παρουσίασαν γενετικές αποκλίσεις (ΜΑ ή ΑΕ). Έξι (20%) ασθενείς με σαρκοείδωση και 5 (19%) ασθενείς με ΙΠΙ παρουσίασαν ΜΑ σε ένα τουλάχιστον δείκτη μικροδορυφορικού DNA. Ένας από τους σαρκοειδικούς ασθενείς παρουσίασε ΜΑ σε δύο δείκτες μικροδορυφορικού DNA. Εννέα (30%) από τους σαρκοειδικούς ασθενείς και 10 (38%) από τους ασθενείς με ΙΠΙ, παρουσίασαν ΑΕ σε έναν τουλάχιστον δείκτη. Τέσσερις (13%) από τους σαρκοειδικούς ασθενείς και 3 (18%) από τους ασθενείς με ΙΠΙ είχαν ΑΕ σε περισσότερους του ενός δείκτες. Ένας από τους σαρκοειδικούς ασθενείς παρουσίασε πλήρη απάλειψη στο χρωμοσωμικό βραχίονα 17q11.2 - q21. Δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ των παρατηρούμενων γενετικών αποκλίσεων και της ηλικίας, της διάρκειας της νόσου, των αερίων αίματος ή των λειτουργικών δοκιμασιών του πνεύμονα.

Συμπεράσματα: Η ΜΑ είναι ένα ανιχνεύσιμο φαινόμενο στη σαρκοείδωση και στην Ιδιοπαθή Πνευμονική Ίνωση και δεν σχετίζεται με τη βαρύτητα της νόσου. Η επίπτωση της ΑΕ δεικνύει την παρουσία δυνητικών ογκοκατασταλτικών γονιδίων στις θέσεις που εξετάσθηκαν, που ίσως παίζουν έναν σημαντικό ρόλο στην αιτιοπαθογένεια των δύο νόσων.

ABSTRACT

The Diffuse Interstitial Lung Diseases (DILD), are a heterogeneous group of diseases of the lung, which are characterized by disorganization of the alveolar walls and decline in the number of the functional units of the lung parenchyma. Based on new biological data, it is obvious that common factors exist in the aitiopathogenesis of these disorders. A common finding in all DILD is, for example, the non-specific alveolitis; very little is though known on the molecular basis of these diseases. On the other hand, for the Idiopathic Pulmonary Fibrosis (IPF) it was observed since 1965, that a higher incidence of lung cancer exists for these patients. Why this is happening remains obscure, as well as the molecular basis of these diseases.

Instability of tandem repeat DNA sequences or Microsatellite Instability (MSI), which is a genetic alteration of neoplasmatic cells, has been correlated with high mutational rate, and DNA repair processes. MSI has been found in various cancers, including lung. Additional information on the molecular pathway of cancer development is provided by the identification of novel tumor suppressor genes (TSGs). The inactivation of TSGs plays a critical role in multistage carcinogenesis. At present, loss of heterozygosity (LOH) using highly polymorphic microsatellite markers is the most common methodology employed for the localization of sites in the genome with high probability for the presence of candidate TSGs.

Until today the above mentioned genetic alterations were not studied in patients with DILD. The present protocol was designed to study the genetic alterations at the microsatellite level, in blood and sputum cytological specimens from patients with DILD, which could be part of the complex genetic basis of these diseases. To the best of our knowledge this is the first genetic study in micrsatellite level in patients with DILD.

We studied sputum cells from patients with sarcoidosis and IPF, were we detected MSI or LOH. The two studied diseases were selected as representative DILD disorders, since sarcoidosis is a systematic disease of mild progress and intermediate probability for developing lung cancer and IPF being a progressive

disease with a high probability of developing lung cancer. We also examined the possible use of MSI and LOH as a marker of severity for the two diseases.

We **studied** sputum cytological specimens from 30 patients with sarcoidosis and 26 patients with IPF, using 10 highly polymorphic microsatellite markers located in several chromosomal arms. The electrophoretic pattern of each specimen was compared with the corresponding pattern of peripheral blood and any difference in the mobility of the microsatellite alleles was interpreted as MSI positive. LOH was scored as decreases in intensity (at least 50%), of one allele relative to the other as determined from comparison of sputum and normal DNAs.

Our **results** showed that 14 (47%) sarcoidosis patients and 13 (50%) of the IPF patients, showed genetic alterations, either MSI or LOH. Six (20%) sarcoidosis patients and 5 (19%) IPF patients, exhibited MSI in at least one microsatellite marker. Nine (30%) of the sarcoidosis patients and 10 (38%) of the IPF patients, exhibited LOH in at least one marker. One of the sarcoidosis patients showed complete deletion of chromosomal arm 17q11.2-q21. No correlation was found between the genetic alterations studied and age, duration of illness, blood gases or spirometry parameters of the patients.

Conclusion: MSI is frequently observed in sarcoidosis and IPF and seems not related with the severity of the disease. LOH incidence indicates the presence of putative tumor-suppressor genes at loci examined, which may play an important role in the aetiopathogenesis of these entities.

Α. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΔΙΑΧΥΤΕΣ ΔΙΑΜΕΣΕΣ ΠΝΕΥΜΟΝΟΠΑΘΕΙΕΣ

1.1. ΓΕΝΙΚΑ

Οι διάχυτες διάμεσες πνευμονοπάθειες (ΔΔΠ) (diffuse interstitial lung diseases, DILD) είναι μια ανομοιογενής ομάδα παθήσεων του πνεύμονα, οι οποίες χαρακτηρίζονται από αποδιοργάνωση των κυψελιδικών τοιχωμάτων και απώλεια των λειτουργικών τριχοειδοκυψελιδικών μονάδων. Οι ΔΔΠ ταξινομούνται μαζί λόγω κοινών κλινικών, ακτινολογικών, παθοφυσιολογικών και παθολογοανατομικών χαρακτηριστικών καθώς και της κοινής παθογενετικής διαδικασίας ανεξαρτήτως αιτιολογίας.

Κλινικά η πλειοψηφία των αρρώστων έχει ιστορικό δύσπνοιας στην προσπάθεια προοδευτικά επιδεινούμενης και ξηρού βήχα. Ακτινολογικά χαρακτηρίζονται από την παρουσία διάχυτων ακτινοσκιερών βλαβών και στα δύο πνευμονικά πεδία και από ελάττωση, συνήθως, του όγκου των πνευμόνων. Κλασικό λειτουργικό εύρημα είναι η περιοριστικού τύπου διαταραχή του αερισμού, η ελαττωμένη διατασιμότητα (compliance) των πνευμόνων, ενώ η ροή είναι συνήθως φυσιολογική ή αυξημένη, αν ληφθεί υπ' όψη ο όγκος του πνεύμονα (Πίνακας 1).

Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά ΔΔΠ

Κλινικά :	δύσπνοια, ξηρός βήχας
Ακτινολογικά:	διάχυτες ακτινοσκιερές βλάβες, ειδικά πρότυπα (ακτινογραφία θώρακος, υπολογιστική τομογραφία θώρακος)
Λειτουργικά:	περιοριστικό σύνδρομο, ελαττωμένη διατασιμότητα
Παθολογοανατομικά:	κυψελιδίτιδα - ίνωση

Παθολογοανατομικά υπάρχει κυτταρική διήθηση (κυψελιδίτιδα) και συνήθως εμφανής αύξηση του συνδετικού ιστού των μεσοκυψελιδικών διαφραγμάτων (ίνωση).

Ιστολογικά βεβαιωμένες ΔΔΠ δυνατόν να απαντούν χωρίς κλινικά συμπτώματα (π.χ. σαρκοείδωση, πνευμονοκονίωση), με φυσιολογική ακτινογραφία θώρακα (πχ λεμφαγγειακή καρκινωμάτωση, σαρκοείδωση) με μόνη ένδειξη παρουσίας ΔΔΠ την υποξυγοναιμία και την μειωμένη τιμή της διαχυτικής ικανότητας του μονοξειδίου του άνθρακα. Άλλες ΔΔΠ δυνατόν να εμφανίζουν αποφρακτικό λειτουργικό σύνδρομο (π.χ σαρκοείδωση, λεμφαγγειολειομυωμάτωση, αποφρακτική βρογχιολίτιδα με οργανωμένη πνευμονία, (BOOP), ή αυξημένο πνευμονικό όγκο (π.χ ηωσινόφιλο κοκκίωμα, λεμφαγγειολειομυωμάτωση, χρονία πνευμονία από υπερευαισθησία, σαρκοείδωση 3ου σταδίου, οζώδης σκλήρυνση) (Πίνακας 2).

Πίνακας 2. ΔΔΠ με αυξημένη ολική πνευμονική χωρητικότητα

1. Λεμφαγγειολειομυωμάτωση
2. Οζώδης σκλήρυνση
3. ηωσινόφιλο κοκκίωμα
4. Χρονία πνευμονία από υπερευαισθησία
5. Σαρκοείδωση (3ου σταδίου)
6. Νευρινωμάτωση

1.2. ΟΡΟΛΟΓΙΑ

Ο ανεπιτυχής όρος "διάμεσες" πνευμονοπάθειες (interstitial lung diseases) δόθηκε αρχικά, διότι η ομάδα αυτή των παθήσεων σχετίζεται με προσβολή των μεσοκυψελιδικών διαφραγμάτων. Στην πραγματικότητα όμως προηγείται προσβολή των επιθηλιακών κυττάρων των κυψελίδων (κυψελιδίτιδα) ή / και των ενδοθηλιακών κυττάρων των τριχοειδών, ενώ σε πολλές από τις παθήσεις αυτές συνυπάρχει και προσβολή των αεροφόρων οδών, των πνευμονικών αγγείων και άλλοτε και του υπεζωκότα.

1.3. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Η επιδημιολογία των ΔΔΠ δεν είναι επαρκώς μελετημένη. Εκτός αυτού διαφέρει στα διάφορα διάμεσα πνευμονικά νοσήματα. Γεωγραφικές διαφορές της

συχνότητας και της βαρύτητας σε αρκετές από τις ΔΔΠ υποδεικνύουν ότι η αιτιολογία τους σχετίζεται με την έκθεση σε κάποιον περιβαλλοντικό παράγοντα. Στοιχεία από σχετική μελέτη του Εθνικού Ινστιτούτου Υγείας των ΗΠΑ υπολογίζουν ότι το 15% περίπου της καθημερινής κλινικής πρακτικής των πνευμονολόγων έχει σχέση με τα διάμεσα νοσήματα. Τα δεδομένα αυτά δείχνουν ότι τα διάμεσα νοσήματα του πνεύμονα δεν είναι τόσο σπάνια τελικώς. Όμως λίγα στοιχεία είναι γνωστά σχετικά με την συχνότητα τους στον γενικό πληθυσμό. Πρόσφατα, σε μελέτη των Coultas και συν. [1] βρέθηκε ότι η συνολική συχνότητα των διαμέσων νοσημάτων του πνεύμονα ήταν 80,9 ανά 100000 στους άνδρες και 67,2 ανά 100000 στις γυναίκες. Ομοίως η επίπτωση των ΔΔΠ ήταν λίγο μεγαλύτερη στους άνδρες από ότι στις γυναίκες (31,5 έναντι 26,1 ανά 100000 κατοίκους ανά έτος). Η πιο συχνή διάγνωση και για τα δύο φύλα ήταν η δευτεροπαθής πνευμονική ίνωση και η ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση (ΙΠΙ) ή οποίες αποτελούσαν το 45% όλων των ΔΔΠ.

1.4.ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Περισσότερες από 180 διαφορετικές παθήσεις κατατάσσονται σαν ΔΔΠ, από τις οποίες μόνο στο 1/3 των περιπτώσεων είναι γνωστή η αιτία. Υπάρχει ακόμα αρκετή σύγχυση ως προς την ονοματολογία μερικών από τις διάχυτες πνευμονοπάθειες, π.χ για την ΙΠΙ αναφέρονται 21 συνώνυμα. Στη βρετανική βιβλιογραφία χρησιμοποιείται ο όρος "κρυπτογενής ινωτική κυψελιδίτιδα " (cryptogenic fibrosing alveolitis) τόσο για την ΙΠΙ όσο και για τις ΔΔΠ από κολλαγονώσεις, ενώ στην αμερικανική βιβλιογραφία διαχωρίζονται για λόγους αφ ενός μεν παθολογοανατομικούς (οι ΔΔΠ οι οποίες οφείλονται σε κολλαγονώσεις έχουν ευρύτερο παθολογοανατομικό φάσμα και μερικές μόνο δυνατόν να ομοιάζουν με την ΙΠΙ) και αφ' ετέρου προγνωστικούς, οι κολλαγονώσεις με πνευμονική ίνωση έχουν καλύτερη πρόγνωση από την ΙΠΙ, αν και ορισμένες από τις κολλαγονώσεις, όπως η μεικτή κολλαγόνωση και η δερματομυοσίτιδα-πολυμυοσίτιδα δυνατόν να έχουν ταχέως εξελισσόμενη κακή πρόγνωση). Από πολλούς χρησιμοποιούνται τελευταία οι όροι " αρχικό " και " τελικό " στάδιο κρυπτογενούς ινωτικής κυψελιδίτιδας (early/ late stage of cryptogenic fibrosing alveolitis) αντίστοιχα για τους όρους αποφολιδωτική (DIP) και συνήθης (UIP) διάμεση πνευμονία. οι συνηθέστερες και κλινικά πλέον χρήσιμες ταξινομήσεις είναι η αιτιολογική και η

παθολογοανατομική ταξινόμηση, που παρουσιάζονται παρακάτω, ενώ η διάκριση σε οξείες και χρόνιες ΔΔΠ είναι επίσης χρήσιμη διαφοροδιαγνωστικά.

Πίνακας 3. ΔΔΠ γνωστής αιτιολογίας[b]

1. Επαγγελματική ή περιβαλλοντική έκθεση σε:
   - α. ανόργανη κόνη
   - β. οργανική κόνη
   - γ. τοξικά αέρια (O_2, SO_2, χλωρίνη)
   - δ. τοξικές οσμές (οξείδια Zn, Cu, Mn, Cd, Fe, Mg, Ni, Ab, Se, Sn).
   - ε. τοξικούς ατμούς (υδραργύρου, διισοκυανικού τολουενίου, ρητίνης)
   - στ. ψεκασμούς - aerosol (λιπαρών ουσιών, πυρέθρου)
2. Φάρμακα
3. Δηλητήρια (Paraquat)
4. Λοιμώδεις παράγοντες (αποτέλεσμα οξείας λοιμώξεως οιουδήποτε τύπου)
5. Ακτινοβολία (εξωτερική, εισπνοή)
6. Παθήσεις άλλων οργάνων (χρόνιο πνευμονικό οίδημα, ουραιμία)
7. Μεταβολικές παθήσεις

1.4.1. Αιτιολογική ταξινόμηση

Η περισσότερο κοινή ταξινόμηση βασίζεται στην αιτιολογία, η οποία σε άλλες από τις παθήσεις είναι γνωστή (Πίνακας 3) και σε άλλες άγνωστη (Πίνακας 4).

Στις παθήσεις που είναι άγνωστη η αιτία η ταξινόμηση γίνεται βάσει κλινικών συνδρόμων π.χ σύνδρομο Goodpasture ή κλινικοπαθολογικών χαρακτήρων.

***Πίνακας 4**: ΔΔΠ άγνωστης αιτιολογίας[b]*

1. Σαρκοείδωση
2. Κολλαγονώσεις
3. Ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση
4. Αγγειίτιδες πνεύμονος

5. Ιστιοκύττωση -Χ
6. Οξέα αιμορραγικά σύνδρομα πνεύμονος (P.H.S.)
7. Λεμφοκυτταροδιηθητικές παθήσεις
8. Χρόνιες ηωσινοφιλικές πνευμονίες
9. Αγκυλοποιητική σπονδυλαρθρίτιδα
10. Κληρονομικές παθήσεις (οζώδης σκλήρυνση, νευροϊνωμάτωση, οικ. πν. ίνωση)
11. Λεμφαγγειολειομυομάτωση
12. Φλεβοαποφρακτική νόσος του πνεύμονος
13. Αμυλοείδωση
14. Μικρολιθίαση
15. Νόσος Wipple
16. Νόσος Weber - Christian
17. Σύνδρομο Hermansky Pudlak

1.4.1.1. Γνωστής αιτιολογίας

Οι πιο συχνές ΔΔΠ γνωστής αιτιολογίας είναι εκείνες που οφείλονται σε επαγγελματική έκθεση και από αυτές συχνότερες είναι εκείνες που οφείλονται σε εισπνοή ανόργανης κόνης (Πίνακας 3). Οι οργανικές κόνεις είναι πρωτεϊνικής φύσεως ή συμπλέγματα πολυσακχαριδών, στις οποίες το άτομο έχει προηγουμένως ευαισθητοποιηθεί δια εισπνοής (πνευμονίτιδες από υπερευαισθησία ή εξωγενείς αλλεργικές κυψελιδίτιδες). Περίπου 30 οργανικές κόνεις είναι γνωστές ότι προκαλούν ΔΔΠ. Κυρίως είναι σπόροι μυκήτων (όπως στην ασπεργίλλωση, τον πνεύμονα των γεωργών κ.λ.π.) και σπανιότερα βακτηριδιακές και ζωτικές πρωτεΐνες. Τελευταία έχουν ενοχοποιηθεί και συνθετικές οργανικές ενώσεις.

Οι υπόλοιπες γνωστής αιτιολογίας ΔΔΠ περιλαμβάνουν φάρμακα, δηλητήρια, λοιμώδεις παράγοντες, ακτινοβολία, καρδιακά και μεταβολικά αίτια.

Τέλος πολλά φάρμακα ενέχονται στην πρόκληση μη καρδιογενούς πνευμονικού οιδήματος.

1.4.1.2. Άγνωστης αιτιολογίας

Από της άγνωστης αιτιολογίας ΔΔΠ η πιο συχνά διαγνωσκόμενη ιστολογικά είναι η σαρκοείδωση (Πίνακας 4). Για την ΙΠΙ, αν και είναι συχνή, δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία για την ακριβή συχνότητά της. Από τις ΔΔΠ από κολλαγονώσεις (collagen-vascular disorders) περισσότερο συχνές είναι η μικτή κολλαγόνωση, η ρευματοειδής αρθρίτιδα και η σκληροδερμία. Άλλες παθήσεις που προκαλούν ΔΔΠ είναι οι αγγειίτιδες του πνεύμονα και οι λεμφοκυτταρικές διηθητικές παθήσεις. Οι υπόλοιπες ΔΔΠ είναι σπάνιες.

1.4.2. Παθολογοανατομική ταξινόμηση

Η συνήθης και πλέον αποδεκτή παθολογοανατομική ταξινόμηση είναι εκείνη του Liebow[2], η οποία ταξινομεί τις μη κοκκιωματώδεις ΔΔΠ σε κατηγορίες (Πίνακας 5α), από τις οποίες οι τρεις κυριότερες είναι:

α) η "συνήθης" ή "αδιαφοροποίητη" διάμεση πνευμονία (usual or undifferentiated pneumonia UIP)

β) η "αποφολιδωτική" διάμεση πνευμονία (desquamative interstitial pneumonia, DIP)

γ) η "λεμφοκυτταρική" διάμεση πνευμονία (lymphoid interstitial pneumonia, LIP).

Η ταξινόμηση αυτή δεν αρκεί για μια αιτιολογική διάγνωση σε πολλές περιπτώσεις. Έτσι πολλές από τις ΔΔΠ γνωστής αιτιολογίας (π.χ. φάρμακα, ακτινοβολία, δηλητήρια) ή άγνωστης (π.χ. ΙΠΙ, ΔΔΠ, από κολλαγονώσεις, πνευμονικές αγγειίτιδες) έχουν παθολογοανατομική εικόνα της συνήθους (UIP) ή / και της αποφολιδωτικής (DIP) διάμεσης πνευμονίας.

Πίνακας 5α. Παθολοανατομική ταξινόμηση ΔΔΠ [2]

1.	Αποφολιδωτική διάμεση πνευμονία	(desquamative interstitial pneumonia, DIP)
2.	Συνήθης διάμεση πνευμονία	(usual interstitial pneumonia, UIP)

3. Λεμφοκυτταρική διάμεση πνευμονία (lymphoid interstitial pneumonia, LIP)
4. Γιγαντοκυτταρική διάμεση πνευμονία (Giant cell interstitial pneymonia, GIP)
5. Βρογχιολίτις με διάμεση πνευμονία (bronchiolitis with interstitial pneumonia, BIP)

Ωστόσο ο όρος λεμφοκυτταρική διάμεση πνευμονία (LIP) θεωρείται χρήσιμος, λόγω της παρουσίας δυσπρωτεϊναιμίας και της συχνής μετάπτωσης της ομάδας αυτής των παθήσεων σε κακοήθειες του λεμφικού συστήματος, ενώ ορισμένες σχετίζονται με συγκεκριμένα κλινικά σύνδρομα, όπως το σύνδρομο Sjoegren και η μακροσφαιριναιμία Waldenstroem.

Νεώτερα δεδομένα από τους Katzenstein και Myers[295], διατηρούν τα DIP και UIP του Liebow προσθέτωντας δύο ακόμα οντότητες, την AIP και την NSIP (Πίνακας 5β).

Γενικά η μεγαλύτερη δυσκολία στην ονοματολογία των ΔΔΠ προκύπτει όταν ο κλινικός γιατρός θεωρεί την παθολογοανατομική διάγνωση σαν ειδική διάγνωση, διότι, όπως ο παθολογοανατόμος δεν μπορεί να θέσει τη διάγνωση της ΙΠΙ χωρίς κλινικά, ακτινολογικά

Πίνακας 5β. Νεώτερη παθολοανατομική ταξινόμηση ΔΔΠ [295]

---

1. Αποφολιδωτική διάμεση πνευμονία (desquamative interstitial pneumonia, DIP) /
   αναπνευστική βρογχιολίτιδα διάμεση πνευμονοπάθεια (RBILD)
2. Συνήθης διάμεση πνευμονία (usual interstitial pneumonia, UIP)
3. Λεμφοκυτταρική διάμεση πνευμονία (lymphoid interstitial pneumonia, LIP)
4. Γιγαντοκυτταρική διάμεση πνευμονία (Giant cell interstitial pneymonia, GIP)
5. Οξεία διάμεση πνευμνία (Acute interstitial pneumonia, AIP)
6. Μη ειδική διάμεση πνευμονία (Nonspecific interstitial pneumonia, NSIP)

και παθοφυσιολογικά δεδομένα, έτσι και ο κλινικός δεν πρέπει να χρησιμοποιεί τους όρους συνήθης διάμεση πνευμονία (UIP) και "διάχυτη οινοποιητική κυψελιδίτιδα" σαν ειδικές διαγνώσεις. Στον Πίνακα 6 παρατίθενται η παθολογοανατομική εικόνα 200 ασθενών από την σειρά της διατριβής του Δ. Μπούρου (Πανεπιστήμιο Αθηνών) καθώς και η ειδική διάγνωση αυτών. Είναι γεγονός ότι ένα ποσοστό 9% τελικώς παρέμεινε ιστολογικώς αδιευκρίνιστο.

1.5. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

1.5.1. Διάμεσος ιστός πνεύμονα

Ως διάμεσος χώρος ορίζεται το συνδετικογενές υπόστρωμα του πνεύμονα. Είναι άφθονος στο κέντρο των λοβιδίων, γύρω από τις αεροφόρες οδούς και τις αρτηρίες και στη περιφέρεια γύρω από τις φλέβες. Αυτές οι δύο κύριες εντοπίσεις συνδετικού ιστού συνδέονται μεταξύ τους, σε κυψελιδικό επίπεδο, με λεπτές διακλαδώσεις που συγκροτούν τον «διάμεσο χώρο των κυψελιδικών διαφραγμάτων» οποίος αποτελείται από ίνες κολλαγόνου και ελαστικές ίνες με λιγοστά περιφερικά νεύρα, ινοβλάστες, μυοινοβλάστες, ιστιοκύτταρα και σιτευτικά κύτταρα (κυψελιδικός διάμεσος ιστός, ΚΔΙ, για τον οποίο θα γίνει αναφορά στη συνέχεια) (Εικόνα 1). Το όριο του διαμέσου χώρου των κυψελιδικών διαφραγμάτων προσδιορίζεται από τις βασικές μεμβράνες των επιθηλιακών και ενδοθηλιακών κυττάρων. Οι δομές αυτές όσο και οι μεσοκυττάριες συνάψεις των ενδοθηλιακών κυττάρων των τριχοειδών εμφανίζουν χαλαρή σύνδεση μεταξύ τους ενώ τα κυψελιδικά κύτταρα συνδέονται με στενές συνάψεις η «αποφρακτικές ζώνες». Ο επιθηλιακός αυτός φραγμός εξασφαλίζει τη σχετική στεγανότητα των αεροφόρων χώρων [3,4]. Το υγρό του διαμέσου χώρου -το οποίο δεν επανεισέρχεται στα πνευμονικά αιμοφόρα αγγεία- οδηγείται προς τα πνευμονικά λεμφαγγεία χάρη στις ελαστικές δυνάμεις του πνευμονικού παρεγχύματος. Τα λεμφαγγεία ξεκινούν από τις κορυφές των κυψελιδικών πόρων που βρίσκονται κοντά στις αρτηρίες, από τα μεσολοβίδια διαφράγματα και από την περιοχή των φλεβών που γειτνιάζουν με τον υπεζωκότα. Τα λεμφαγγεία ανάλογα με την τάση του πνευμονικού παρεγχύματος μπορούν να αυξήσουν την φυσιολογική τους ροή έως και 10 φορές [5]. Επιπλέον, τα άφθονα έλυτρα συνδετικού ιστού που περιβάλλουν τα βρογχοαγγειακά δεμάτια λειτουργούν ως λεκάνες αποστράγγισης για τα υγρά που δεν μπορούν να παροχετευτούν από τα λεμφαγγεία [6].

Τα κυψελιδικά μακροφάγα προέρχονται από τον πληθυσμό των ιστιοκυττάρων του διαμέσου

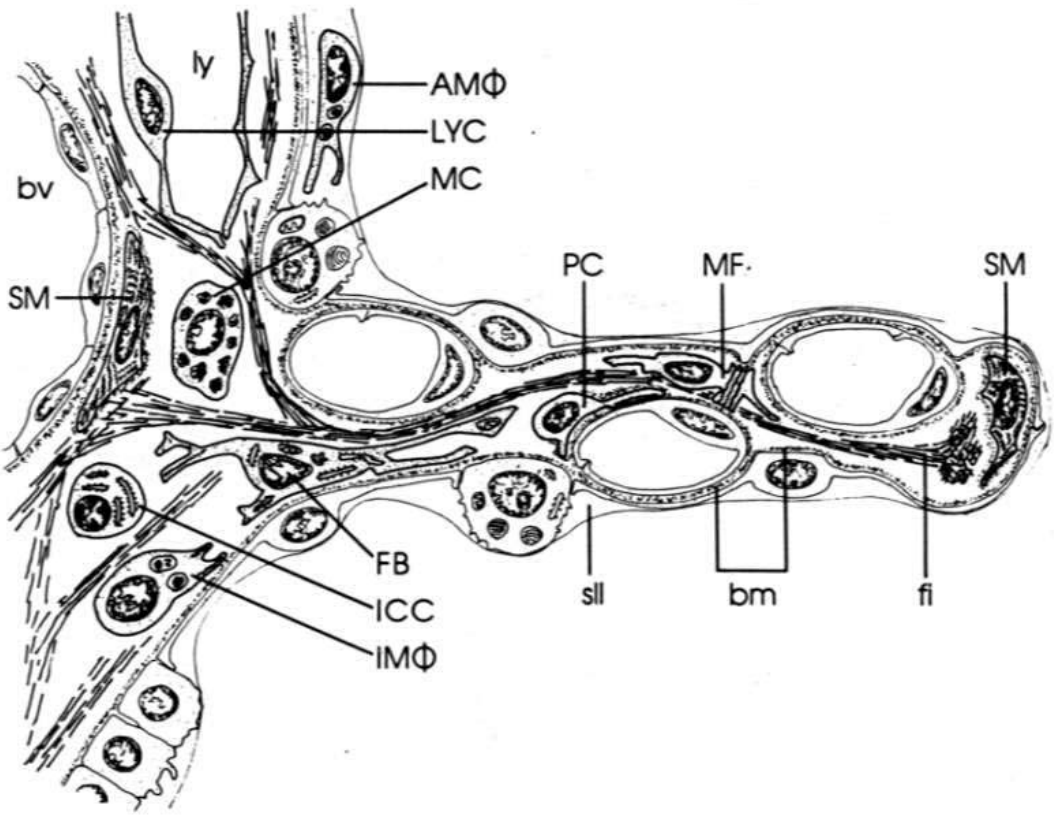
Πίνακας 6

Συνοπτικός πίνακας τελικών διαγνώσεων 200 ασθενών με διάχυτη πνευμονοπάθεια που υποβλήθηκαν σε διαβρογχική βιοψία πνεύμονα, κατά πάθηση[d]

Πάθηση	**Αριθμός ασθενών**	
	No	**(%)**
Α. Ασθενείς με μη ειδική ιστολογική εικόνα		
1. Συνήθης διάμεση πνευμονία (UIP)	72	36
α. άγνωστης αιτιολογίας	57	28,5
β. από κολλαγόνωση	8	4
γ. από πνευμονοκονίωση	7	3,55
2. Αποφολιδωτική διάμεση πνευμονία (DIP)	20	10
3. Λεμφοκυτταρική διάμεση πνευμονία (LIP)	1	0,5
Σύνολο	*93*	*46,5*
Β. Ασθενείς με "ειδική" ιστολογική εικόνα		
Σαρκοείδωση		
Νεοπλασία	50	25
Πνευμονική διήθηση με ηωσινοφιλία	14	5
(PIE)	10	5
Κεγχροειδής φυματίωση	2	1
Ηωσινόφιλο κοκκίωμα πνεύμονος	8	4
Ιδιοπαθής πνευμονική αιμοσιδήρωση	4	2
Διάχυτη πνευμονοπάθεια από φάρμακα	1	0,5
Κυψελιδική πρωτεϊνωση	1	0,5
Σύνολο	*89*	*44,5*
Γ) Χωρίς τελική διάγνωση	18	9

πνευμονικού χώρου, παρ' όλα που η βασική πηγή παραγωγής τους είναι ο μυελός των οστών [7]. Σε παθολογικές καταστάσεις οι οποίες χαρακτηρίζονται από αύξηση του αριθμού των κυψελιδικών μακροφάγων, παρατηρείται και παράλληλη αύξηση των αρχεγόνων κυττάρων του διαμέσου χώρου, αυτών δηλαδή που αναφέρονται ως stem cells. Μερικές φορές μάλιστα, σε μελέτες με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, τα κύτταρα αυτά φαίνεται να διαπερνούν το κυψελιδικό επιθήλιο η να παρεμβάλλονται ανάμεσα σ' αυτό και την βασική μεμβράνη [8]. Κινητικές εξ άλλου μελέτες δείχνουν ότι τα περισσότερα αρχέγονα κύτταρα που προορίζονται να εξελιχθούν σε μακροφάγα, διέρχονται γρήγορα στις κυψελίδες ενώ μικρός αριθμός από αυτά διαιρείται πρώτα στο διάμεσο χώρο [7,9]. Η ωρίμανση των αρχεγόνων κυττάρων σε μακροφάγα περιλαμβάνει διάφορα εξελικτικά στάδια στα οποία περιλαμβάνονται διάταση του κυτταροπλάσματος με την μορφή μεταβολή της σχέσεώς του προς τον πυρήνα, απώλεια της δραστηριότητας της μυελοϋπεροξειδάσης καθώς και παράλληλη ανάπτυξη λυσοσωματίων. Όταν η ζήτηση είναι έντονη, στον κυψελιδικό αυλό συνωθούνται πολλά ανώριμα μακροφάγα τα οποία όμως περιέχουν λιγοστά λυσοσωμάτια. Περιστασιακά καταγράφεται αυξημένη μιτωτική δραστηριότητα στα μακροφάγα που βρίσκονται στον αυλό κυψελίδων και υπάρχουν αποδείξεις ότι ο πολλαπλασιασμός τους στην παραπάνω θέση είναι ο κύριος μηχανισμός διατήρησης του πληθυσμού των κυψελιδικών μακροφάγων σε steady state ισορροπία. Ο αριθμός λοιπόν των μακροφάγων μπορεί να αυξάνεται είτε λόγω μεγάλης μετανάστευσης από τον διάμεσο ιστό είτε λόγω διαίρεσης των κυττάρων που έχουν φθάσει ήδη στον κυψελιδικό αυλό. Ο φυσιολογικός χρόνος παραμονής των μακροφάγων στον κυψελιδικό αυλό είναι περίπου 7 ημέρες [9]. Η συντριπτική πλειοψηφία τους φέρεται στα τελικά βρογχιόλια και στη συνέχεια μέσω του βλεννογόνου φθάνουν στον φάρυγγα όπου και αποχρέπτονται. Οι αναπνευστικές κινήσεις φαίνεται ότι προάγουν την μετακίνηση των κυψελιδικών μακροφάγων, καθώς τα τελευταία τείνουν να συναθροιστούν σε κυψελίδες που γειτνιάζουν με σχετικά ακίνητες βρογχοαγγειακές δομές οι οποίες εντοπίζονται στις αρχές των κυψελιδικών πόρων. Υπολογίζεται ότι καθημερινά περίπου 8700 κυψελιδικά μακροφάγα φθάνουν στους πυλαίους λεμφαδένες [10]. Η μετακίνηση αυτή κρίνεται σκόπιμη στη διαδικασία παρουσίασης του αντιγόνου και στην επαγωγή ανοσολογικών αντιδράσεων στον πνεύμονα [11]. Είναι επίσης σημαντική για την αιτιοπαθογένεια των πνευμονοκονιώσεων.

Εικόνα 1



Σχηματική απεικόνιση του διάμεσου χώρου του πνεύμονα[a], σε ένα κυψελιδικό διάφραγμα, από την ελεύθερη άκρη του (δεξιά), ως τον περιαγγειακό συνδετικό ιστό που περικλείει μια φλέβα (bv). Οι βασικές μεμβράνες (bm), αμέσως κάτω από το επιθήλιο και το ενδοθήλιο, περικλείουν τον διάμεσο χώρο. Ινώδεις ταινίες (fi) βρίσκονται σε σειρά. Στα κύτταρα του διάμεσου ιστού περιλαμβάνονται: Ινοβλάστες (FB), μυοινοβλάστες (MF), κύτταρα λείων μυϊκών ινών (SM), περικύτταρα (PC), διαφόρων ειδών ανοσοκύτταρα (ICC), μαστοκύτταρα (MC), ενδοθηλιακά κύτταρα λεμφαγγείων (LYC) και ιστιοκύτταρα (ΙΜΦ). Τα κυψελιδικά μακροφάγα (ΑΜΦ) είναι βυθισμένα μέσα στο στρώμα του επιφανειοδραστικού παράγοντα (sll).

1.5.2. Λειτουργίες του διάμεσου ιστού

Οι βιολογικές και μηχανικές ιδιότητες του πνεύμονα εξαρτώνται από τη σωστή κατανομή και ποσότητα των συστατικών του διάμεσου ιστού [12]. Συγκεκριμένα:

α. Καθορίζει την αρχιτεκτονική των κυψελιδικών χώρων, υποστηρίζοντας τα δομικά κύτταρα των κυψελιδικών τοιχωμάτων.

β. Μέσω των δομικών αυτών συστατικών συμβάλει στη μηχανική συμπεριφορά του κατώτερου αναπνευστικού συστήματος, κατά την αναπνευστική λειτουργία.

γ. Ρυθμίζει την ανταλλαγή ουσιών μέσω της τριχοειδοκυψελιδικής μεμβράνης.

δ. Συμβάλλει στην άμυνα του κατώτερου αναπνευστικού μέσω φραγμού φλεγμονωδών / ανοσοκυττάρων.

1.5.3. Ανακύκλωση διάμεσου ιστού

Όλα τα στοιχεία του διάμεσου ιστού, ανανεώνονται και καταστρέφονται με διαφορετικό ρυθμό. Η ισορροπία στο ρυθμό καταστροφής / ανανέωσης συμβάλει στη διατήρηση της φυσιολογικής δομής των κυψελίδων. Η παθογένεια των ΔΔΠ σχετίζεται με διαταραχές του ρυθμού αυτού, με αποτέλεσμα την ανάπτυξη ίνωσης και καταστροφής του πνεύμονα..
Η επίδραση διαφόρων βλαπτικών αιτιών προκαλεί αντίδραση των κυττάρων των κυψελίδων με αποτέλεσμα φλεγμονή. Τα κύτταρα που συμμετέχουν στη φλεγμονή αυτή είναι τα κυψελιδικά μακροφάγα, τα ουδετερόφιλα, τα ηωσινόφιλα και τα λεμφοκύτταρα. Ανάλογα με το βαθμό συμμετοχής των διαφόρων κυττάρων δημιουργείται οξεία ή χρόνια βλάβη στον πνεύμονα. Ο τύπος της βλάβης αυτή μπορεί να είναι:

α. παρεκτόπιση των κυττάρων της φυσιολογικής δομής του κυψελιδικού ιστού (ήπια και αναστρέψιμη βλάβη)
β. καταστροφή της δομής του κυψελιδικού ιστού (απώλεια ιστού)
γ. ίνωση, κατά την οποία προκαλείται καταστροφή και αντικατάσταση του κυψελιδικού ιστού (μόνιμη βλάβη).

1.5.4. Μηχανισμός βλάβης

Βλαπτικοί παράγοντες φτάνουν στο κυψελιδικό τοίχωμα είτε ειπνεόμενοι, είτε μέσω της κυκλοφορίας.
Αποτέλεσμα της επίδρασης του βλαπτικού παράγοντα είναι η εισπνοή φλεγμονωδών και ανοσοδραστικών κυττάρων στα κυψελιδικά διαφράγματα, με αποτέλεσμα κυψελιδίτιδα.
Η ένταση της βλάβης στο επίπεδο του κυψελιδικού επιθηλίου ή του τριχοειδικού ενδοθηλίου είναι καθοριστικός παράγοντας για την έναρξη της διεργασίας της ίνωσης.

Αρχικά εισρέουν στο σημείο της φλεγμονής ουδετερόφιλα, τα οποία ακολουθούνται αργότερα από μακροφάγα και λεμφοκύτταρα. Τα φλεγμονώδη κύτταρα μπορούν να παράγουν ένζυμα, κυτταροκίνες, διάφορες μεσολαβητικές ουσίες και ελεύθερες ρίζες οξυγόνου. Οι ουσίες αυτές δρουν εκ νέου βλαπτικά στο κυψελιδικό τοίχωμα. Αμέσως ενεργοποιείται η διαδικασία αποκατάστασης. Αυτή προκαλεί πολλαπλασιασμό των μεσεγχυματικών κυττάρων, και συχνά εναπόθεση συνδετικού ιστού που καταλήγει σε ενδοκυψελιδική ίνωση. Τα κατεστραμμένα κυψελιδικά κύτταρα τύπου Ι αντικαθίστανται από πολλαπλασιασμό κυττάρων τύπου ΙΙ, άλλοτε πάλι και από επιθηλιακά κύτταρων βρογχιολίων που μεταναστεύουν εκεί.
Σήμερα πιστεύεται ότι η εκδήλωση της διάχυτης διάμεσης ίνωσης οφείλεται σε μία αλυσίδα «συμβαμάτων» έναντι γνωστών ή άγνωστων βλαπτικών παραγόντων που προκαλούν διαφόρου έντασης και αναστρεψιμότητας φλεγμονή (Εικόνα 2). Παράλληλα υπεισέρχεται διέγερση ανοσολογικών κυττάρων τα οποία δημιουργούν επουλωτικές, ενίοτε μόνιμες βλάβες στην κυψελιδική δομή, με επακόλουθο την ίνωση και τις συνέπειες της [12,13].

Εικόνα 2

<u>ΒΛΑΒΗ</u> (αν/κή οδός, κυκλοφορία)

↓

<u>ΚΥΨΕΛΙΔΙΤΙΔΑ</u>

↓

<u>ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ ΣΥΝΔΕΤΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ</u>

↓

<u>ΙΝΩΣΗ ΚΔΙ</u>
(απώλεια λειτουργικών τριχοειδοκυψελιδικών μονάδων)

↓

<u>ΠΝΕΥΜΟΝΑΣ ΤΕΛΙΚΟΥ ΣΤΑΔΙΟΥ</u>

Γενικές αρχές αλληλουχίας παθογενετικών μηχανισμών στις ινωτικές ΔΔΠ.

1.6. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΡΟΔΙΑΘΕΣΗ

Την τελευταία δεκαετία, οι γνώσεις μας σχετικά με τις αλληλεπιδράσεις κυττάρων και κυτταροκινών που σχετίζονται με την παρεγχυματική φλεγμονή και ίνωση στις ΔΔΠ, έχουν αυξηθεί σημαντικά. Παρόλ' αυτά η παθογένεση των ΔΔΠ παραμένει άγνωστη [14]. Σε κάποιους από τους ασθενείς το εναρκτήριο ερέθισμα είναι εμφανές, για τους περισσότερους όμως ο αιτιολογικός παράγοντας παραμένει άγνωστος. Παρά το ότι αρκετοί παράγοντες είναι γνωστό ότι προκαλούν πνευμονική ίνωση (ΠΙ), μόνο ένα υποσύνολο (5-20%) όσων έχουν εκτεθεί στους ινωποιούς αυτούς παράγοντες εμφανίζουν κλινική συμπτωματολογία ΔΔΠ. Έτσι ιδιοσυγκρασιακοί και / ή γενετικοί παράγοντες και περιβαλλοντικοί παράγοντες εμπλέκονται στον καθορισμό της κλινικής έκφρασης της ΠΙ. Αν και οι γενετικοί παράγοντες πρέπει ακόμα να διαλευκανθούν, φαίνεται να παίζουν ένα σημαντικό ρόλο στην παθογένεια των ΔΔΠ/ΠΙ. Επειδή ή νόσος κυρίως παρουσιάζεται σε ενήλικες, φαίνεται ότι η γενετική προδιάθεση σε συνδυασμό με την ηλικία και ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες πιθανότατα, συμβάλουν στην φαινοτυπική έκφραση της παρεγχυματικής φλεγμονής και ίνωσης στις ΔΔΠ ή ΙΠΙ. Οι εξωγενείς αυτοί παράγοντες μπορεί απλά να είναι ένας μόνο παράγοντας ή ένας συνδυασμός από άγνωστους περιβαλλοντικούς παράγοντες, ιούς και ανοσολογικούς μηχανισμούς. Η γενετική συνιστώσα της ΠΙ φαίνεται να είναι σύνθετη, συμπεριλαμβάνοντας αρκετά γονίδια, όπως αυτά που κωδικοποιούν μόρια ιστοσυμβατότητας [15], κυτταροκίνες και υποδοχείς [16,17], αυξητικούς παράγοντες [17], ινωγενείς πρωτεΐνες [18,19], οξειδωτικά συστήματα [20] και ένζυμα επιδιώθρωσης DNA [21]. Η φαινοτυπική έκφραση της ΠΙ μπορεί να διαμορφωθεί λόγω δυσμενών συνδυασμών γενετικών πολυμορφισμών, πολλαπλών γονιδίων και περιβαλλοντικών και εξωγενών παρόντων. Αναγνώριση αλληλομόρφων «κλειδιών» που προδιαθέτουν σε ΠΙ θα βοηθούσαν στην πρόβλεψη, πρόγνωση και πρώιμη αντιμετώπιση των ΔΔΠ/ΠΙ.
Παρά την από ετών αναγνώριση της σημασίας των γενετικών παραγόντων, η γενετική βάση των ΔΔΠ/ΠΙ παραμένει ελάχιστα κατανοητή, κυρίως λόγω της σπανιότητας των

γενετικών μελετών. Είναι πραγματικά απαραίτητο η έρευνα για το (-α) γονίδιο (-α) ίνωσης που ευθύνεται για την ΠΙ να ξεκινήσει επιθετικά [14].

Η ισχύουσα υπόθεση για την γενετική προδιάθεση της ΠΙ βασίζεται στις παρακάτω παρατηρήσεις [14]:

- **α.** Ένα υποσύνολο μόνο των ατόμων που εκτίθενται σε γνωστού ιατρογενείς ή περιβαλλοντικούς ινωτικούς παράγοντες (πχ μπλεομυκίνη, ακτινοβολία στο θώρακα, βηρύλλιο ή πυρίτιο) αναπτύσσουν ΔΔΠ και τελικά ΠΙ.

- **β.** Υπάρχουν αρκετές οικογένειες με οικογενή ΙΠΙ, όπου έχει βρεθεί ΙΠΙ σε μονοζυγώτες και συγγενείς 1^{ου} βαθμού. Για την σαρκοείδωση και την πνευμονία από υπερευαισθησία έχει επίσης παρατηρηθεί κάτι ανάλογο.

- **γ.** Οι ΔΔΠ/ΠΙ εμφανίζονται σε διάφορα κληρονομικά σύνδρομα. Σε αυτά συμπεριλαμβάνονται η νευρινωμάτωση, η οζώδης σκλήρυνση, το σύνδρομο Hermansky-Pudlak, η νόσος Gaucher, η νόσος Niemann-Pick, και η οικογενής υπερασβεστιουρική υπερασβεστιαιμία. Αν και η συχνότητα των ΔΔΠ σε αυτές τις νόσους ποικίλει, οι εκπληκτικές ομοιότητες της κλινικής εικόνας με αυτές των σποραδικών περιπτώσεων ΔΔΠ/ΠΙ, στηρίζουν τη θεωρία των κληρονομικών αιτιολογικών παραγόντων.

- **δ.** Πειραματική πρόκληση ΠΙ έχει αποδειχθεί σε γενετικά ευαίσθητα και ανθεκτικά γένη ποντικών.

1.7. ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΕΡΕΥΝΑΣ

Η έρευνα που στοχεύει στη διαλεύκανση της γενετικής προδιάθεσης των ΔΔΠ, θα πρέπει αν συνεχίσει με τον έλεγχο των μηχανισμών της ΠΙ σε οικογενείς πνευμονικές νόσους, όπως την οικογενή ΙΠΙ και την οικογενή σαρκοείδωση.
Με τους ήδη υπάρχοντες γενετικούς δείκτες, μπορούν να γίνουν πολύ σημαντικές μελέτες αν συλλεχθεί υλικό από μεγάλο αριθμό οικογενειών με οικογενή ΙΠΙ. Τα αποτελέσματα των μελετών αυτών έχουν την δυνατότητα να εξακριβώσουν τους γενετικούς παράγοντες που καθορίζουν την φαινοτυπική έκφραση της ΠΙ. Μοριακές γενετικές μελέτες στην οικογενή σαρκοείδωση και την χρόνια βηρύλλιωση, μπορούν να δώσουν επιπλέον στοιχεία για την γενετική των κοκκιωματωδών ινωτικών πνευμονικών διαταραχών. Επίσης οι μελέτες σε γνωστές γενετικές διαταραχές, όπως η οζώδης σκλήρυνση, η νευρινωμάτωση, το σύνδρομο Hermansky-Pudlak, η νόσος Gaucher, η νόσος Niemann-Pick, και η οικογενής υπερασβεστιουρική υπερασβεστιαιμία μπορεί να φωτίσουν την παθογένεια της ΠΙ, αφού για κάποιες από τις παραπάνω νόσους η γενετική βλάβη είναι ήδη γνωστή.
Η γνώση των γενετικών μηχανισμών θα οδηγήσει σε πρώιμη αναγνώριση των ατόμων με αυξημένη πιθανότητα ανάπτυξης ΠΙ. Πρώιμη κλινική παρέμβαση στους

ασθενείς αυτούς θα μειώσει την νοσηρότητα και θνητότητα από τις παραπάνω νόσους.

Θεωρώντας σκόπιμο ότι μια πλήρη κάλυψη του θέματος (απεικονιστικές και διαγνωστικές μέθοδοι ΔΔΠ, περισσότερες κλινικές πληροφορίες και θεραπευτική προσέγγιση ΔΔΠ) δεν ταιριάζει στον τίτλο της παρούσας διδακτορική διατριβής, θα γίνει στη συνέχεια μία όμοια αλλά λεπτομερέστερη προσέγγιση για τις δύο αντιπροσωπευτικές νόσους που επιλέχθηκαν για να γίνει η μελέτη: τη Σαρκοείδωση και την Ιδιοπαθή Πνευμονική Ίνωση.
Πρόκειται για τις δύο συχνότερες νόσους από τον ιδιαίτερα μακρύ κατάλογο των ασθενειών (180 και πλέον) που κατατάσσονται σαν ΔΔΠ.
Οι δύο παραπάνω νόσοι επιλέχθηκαν σαν αντιπροσωπευτικά παραδείγματα ΔΔΠ, γιατί η μεν σαρκοείδωση είναι μία καλοήθης διαταραχή με καλή συνήθως πρόγνωση, ενώ η ΙΠΙ είναι μια ταχέως εξελισσόμενη νόσος που οδηγεί στο θάνατο σε 4-5 έτη από τη διάγνωση της.
Και οι δύο ασθένειες έχουν θετική σχέση με τον βρογχικό καρκίνο, όμως στην περίπτωση της σαρκοείδωσης η θετική αυτή συσχέτιση αυτή δεν έχει οριστικοποιηθεί.

2. ΣΑΡΚΟΕΙΔΩΣΗ

2.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ – ΟΡΙΣΜΟΣ

Η σαρκοείδωση (sarcoidosis) είναι «μια πολυσυστηματική νόσος άγνωστης αιτιολογίας που προσβάλλει κυρίως τους νέους ενήλικες και εκδηλώνεται κλινικά κατά βάση με πυλαία λεμφαδενοπάθεια, πνευμονικές διηθήσεις και βλάβες στο δέρμα και τους οφθαλμούς, και η οποία ιστοπαθολογικά χαρακτηρίζεται από την ανάπτυξη διάσπαρτων μη τυροειδοποιημένων (non caseating) επιθηλιοειδών κοκκιωμάτων στους προσβεβλημένους ιστούς, τη διάχυτη υπεργαμμασφαιριναιμία, την έκπτωση της επιβραδυνόμενου τύπου υπεραισθησίας και την υπερασβεστιαιμία». Η νόσος εξελίσσεται συνήθως σε ίαση, άλλοτε πάλι έχει χρόνια πορεία (περίπου ένα τρίτο των ασθενών) με εξάρσεις και υφέσεις, ενώ μέρος των ασθενών αυτών καταλήγουν σε πνευμονική ίνωση.

Από τον ορισμό αυτό διαφαίνεται ότι η διάγνωση της σαρκοείδωσης προϋποθέτει τον αποκλεισμό όλων εκείνων των άλλων νόσων που συνοδεύονται ή χαρακτηρίζονται από την ανάπτυξη στον οργανισμό όμοιων με τη σαρκοείδωση μη νεκρωτικών κοκκιωμάτων.

Η πρώτη περιγραφή της νόσου έγινε το 1869 ως «δερματοπάθεια των Hutchinson και Boek». Το πολυσυτηματικό της νόσου σημειώθηκε πρώτη φορά από τον Schaumann στα 1917. Στη δεκαετία του 1940 περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Loefgren, χάρη στην εισαγωγή της μικροακτινογράφησης του θώρακα, το ομώνυμο σύνδρομο. Στη δεκαετία του ’80 έγινε η ουσιαστική μελέτη των ανοσολογικών διαταραχών που συνοδεύουν τη νόσο.

2.2. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Η σαρκοείδωση έχει παγκόσμια κατανομή. Η συχνότητά της στην Βόρεια Αμερική και την Ευρώπη υπολογίζεται σε 10 – 40 περιπτώσεις ανά 100.000 κατοίκους ετησίως. Για τον υπόλοιπο κόσμο δεν υπάρχουν ακριβή στοιχεία, προφανώς λόγω των μεγάλων διακυμάνσεων στη συχνότητα της νόσου από χώρα σε χώρα, αλλά και των διαφορετικών κριτηρίων που λαμβάνονται υπόψη στα διάφορα κέντρα για τη διάγνωσή της, και ακόμη, ίσως λόγω της κακής οργάνωσης της Στατιστικής Υπηρεσίας στην καταγραφή των νέων περιπτώσεων. Ωστόσο, έχει σποραδικά αναφερθεί ότι υπεισέρχονται στον καθορισμό της συχνότητάς της φυλετικοί

παράγοντες. Οι Αμερικάνοι μαύροι έχουν συχνότερη [22] και πλέον εκτεταμένη νόσο απ' ότι οι λευκοί. Ομοίως η οξεία μορφή της νόσου (Loefgren's syndrome) είναι συχνότερη στη Σουηδία σε σχέση με άλλα ευρωπαϊκά και μη κράτη.

Η σαρκοείδωση εμφανίζεται σε οποιαδήποτε ηλικία, συνήθως όμως σε άτομα της 3ης – 4ης δεκαετίας της ζωής (νέους ενήλικες). Φαίνεται ότι φιλεί περισσότερο τις μαύρες γυναίκες, ενώ για τον υπόλοιπο κόσμο δεν έχουν αναφερθεί αξιόλογες διαφορές στη συχνότητα μεταξύ ανδρών και γυναικών.
Η οικογενής σαρκοείδωση, όπως και η νόσηση διδύμων αδελφών, αναγνωρίζεται όλο και περισσότερο σήμερα. Όμως η επίπτωση της νόσου στο συγγενικό περιβάλλον δεν φαίνεται να διαφέρει από την τυχαία αναμενόμενη. Σημειώνεται ωστόσο ότι έχουν περιγραφεί μέχρι σήμερα περίπου 400 περιπτώσεις οικογενούς σαρκοείδωσης.

2.3. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ

Η σαρκοείδωση είναι εξ ορισμού νόσος άγνωστης αιτιολογίας. Μέχρι στιγμής υπάρχουν

Πίνακας 7

Παράγοντες που έχουν ενοχοποιηθεί ως αίτια σαρκοείδωσης

Μη μυκοβακτηριδιακοί λοιμώδεις παράγοντες	**Μυκοβακτηριδιακοί λοιμώδεις παράγοντες**	**Μη λοιμώδεις παράγοντες**
Βακτήρια [23,24]	M. Tuberculosis [25]	Γύρη πεύκου [26]
Ιοί [27-30]	Άλλα μυκοβακτηρίδια [31]	Αργιλώδες χώμα[32]
Μυκόπλασμα [33]	Μυκοβακτήριδια χωρίς κυτταρικό τοίχωμα [35]	Ταλκ [36]
Νοκάρδια[34]	Ταυτόχρονη λοίμωξη ιών/μυκοβακτηριδίων[38]	Ζιρκόνιο [37]
		Άλλα μέταλλα [39]

αρκετά στοιχεία ότι τα σαρκοειδικά κοκκιώματα δημιουργούνται σαν αντίδραση σε ένα επίμονο, ελάχιστα αποδομούμενο αντιγονικό ερέθισμα.
Κοκκιώματα είναι γνωστό ότι σχηματίζονται σαν αντίδραση σε μικροοργανισμούς όπως τα μυκοβακτηρίδια, ανόργανους παράγοντες και οργανικές κόνες. Κοινό χαρακτηριστικό είναι το επίμονο του ερεθίσματος και η ελάχιστη βιοαποδόμηση τους

ακόμα και μέσα στα μακροφάγα. Οι παράγοντες που κατά καιρούς έχουν ενοχοποιηθεί φαίνονται στον Πίνακα 7. Από τους παραπάνω παράγοντες, οι υπόθεση που αφορούσε στους μη λοιμώδεις και οι μη βακτηριδιακούς, φαίνεται ότι δεν ευσταθεί, ενώ η βιβλιογραφία, ακόμα και η πιο πρόσφατη (όταν έγινε δυνατή η ανίχνευση μυκοβακτηριδιακού DNA με PCR), αφορά κυρίως τη σχέση της σαρκοείδωσης με τα μυκοβακτήρίδια [25,31,40-64]. Μέχρι σήμερα πάντως δεν απομονώθηκε φυματιώδης μικροοργανισμός από δείγμα προσβεβλημένου ιστού, ούτε πέτυχε η αναπαραγωγή κλινικής εικόνας όμοιας με τη φυματίωση μετά από ένεση σαρκοειδικού ιστού σε πειραματόζωα. Παρόλ' αυτά το θέμα απαιτεί περαιτέρω έρευνα. Τέλος περαιτέρω ερεύνα απαιτείται σχετικά με την θεωρία που υποστηρίζει τη γενετική συνιστώσα της νόσου [65].

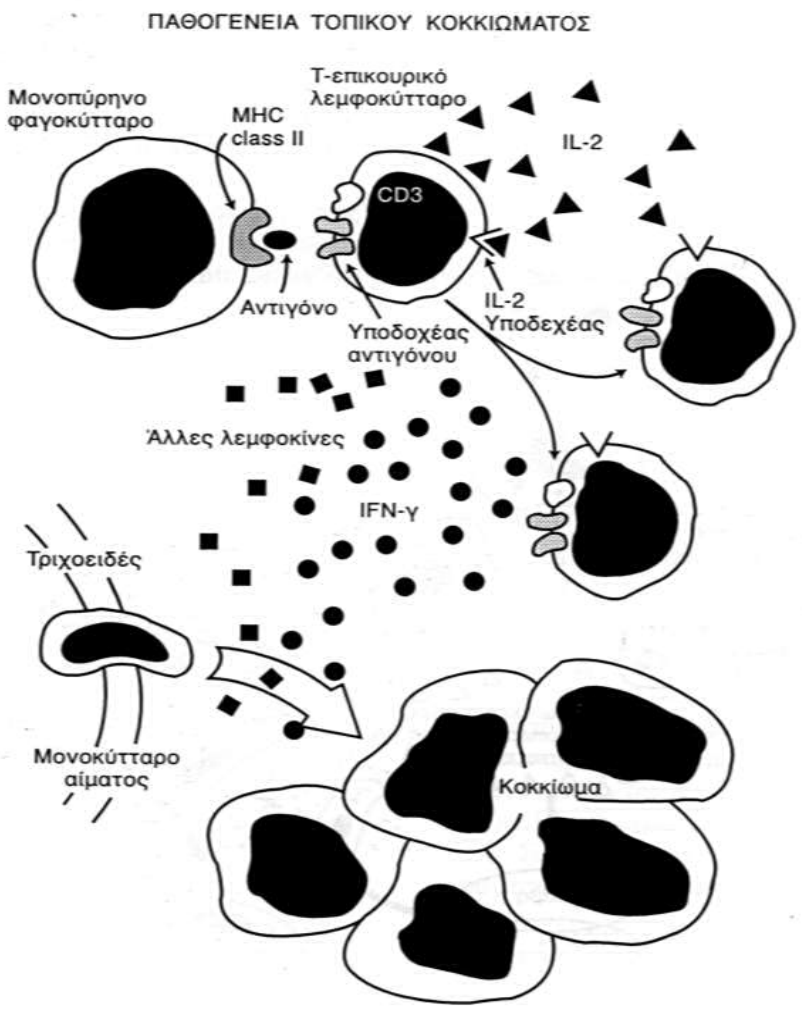
2.4. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Το κύριο μορφολογικό εύρημα στην σαρκοείδωση είναι το μη τυροειδές κοκκίωμα, του οποίου ο σχηματισμός οφείλεται στην παρουσία ενεργών Τ-λεμφοκυττάρων και ενεργοποιημένων κυψελιδικών μακροφάγων (ΚΦΜ), τα οποία χαρακτηρίζουν την χρονία φλεγμονή της νόσου. Η παθογένεια λοιπόν της νόσου σχετίζεται άμεσα με τις ανοσολογικές αλλαγές που συντελούνται στον πάσχοντα οργανισμό.

2.4.1. Παθογένεια τοπικού κοκκιώματος

Οι μηχανισμοί σχηματισμού τοπικού κοκκιώματος φαίνονται στην Εικόνα 3. Το αντιγόνο αφού φαγοκυτταρωθεί από το μονοπύρηνο φαγοκύτταρο παρουσιάζεται στο ειδικό CD4+T- κύτταρο μαζί με ένα μόριο του συστήματος ιστοσυμβατότητας NHC II.

Εικόνα 3



- Άνω αριστερά: ΚΜΦ υπό την επίδραση αντιγονικού ερεθισμού[b].
- Άνω δεξιά: Συνυπάρχουν CD4+ επικουρικά Τ- λεμφοκύτταρα και γιγαντοκύτταρα.
- Κάτω: Στα ώριμα κοκκιώματα τα επιθηλιοειδή και τα γιγαντοκύτταρα συσσωρεύονται σχηματίζοντας συμπαγή δομή. Τα CD4+ και τα CD8+ - λεμφοκύτταρα περιβάλλουν το κοκκίωμα μαζί με ινοβλάστες.

Το σύμπλεγμα αυτό αναγνωρίζεται μέσω ειδικού υποδοχέως από το Τ- κύτταρο (T-cell antigen receptor). Ακολουθεί μεταφορά του ερεθίσματος (signal transduction) μέσω CD3 κυττάρων, ενεργοποίηση γονιδίων, όπως των υποδοχέων της ιντερλευκίνης –2 (IL – 2), καθώς και των λεμφοκυτταροκινών ΙΙ –2 και ιντερφερόνης –γ (INF –γ). Οι κυτταροκίνες αυτές μαζί με μονοπύρηνα φαγοκύτταρα στο σημείο της φλεγμονής, όπου αυτά συσσωρεύονται, ενεργοποιούνται και πολλαπλασιάζονται, σχηματίζοντας κοκκίωμα.

2.4.2. Η εξέλιξη του σχηματισμού του κοκκιώματος

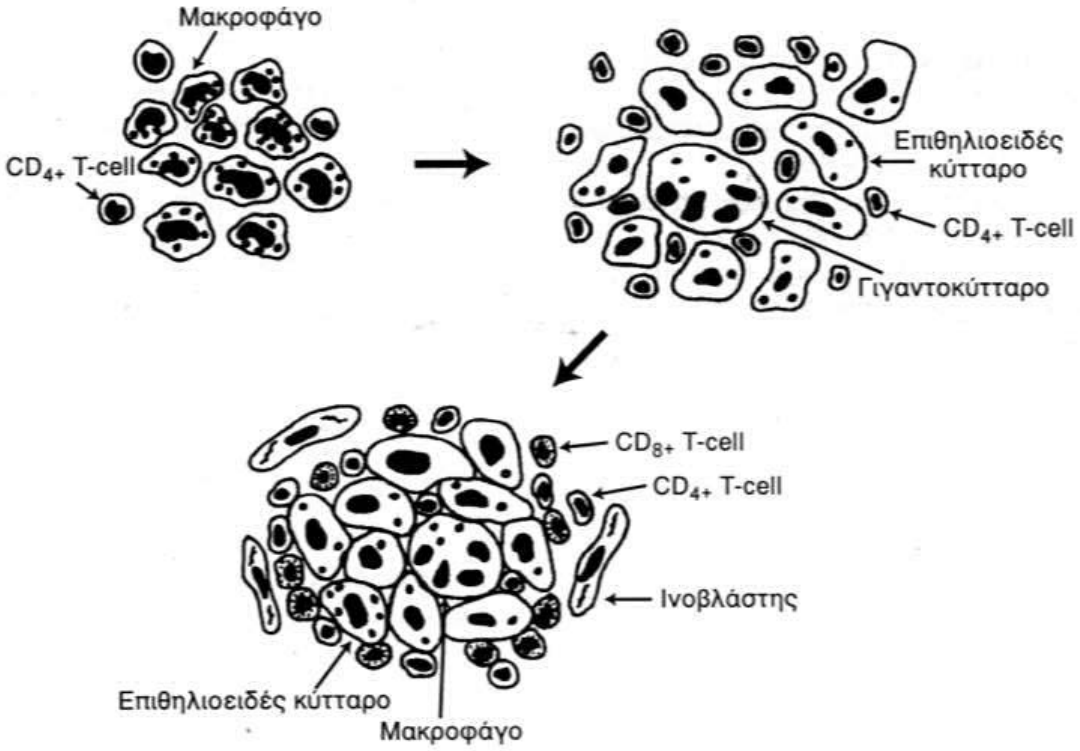
Η εξέλιξη του σχηματισμού του κοκκιώματος φαίνεται στην Εικόνα 4.
Απεικονίζονται τρία στάδια:

- Άνω αριστερά: Άθροιση ΚΜΦ υπό την επίδραση αντιγονικού ερεθισμού.
- Άνω δεξιά: Συνυπάρχουν CD4+ επικουρικά Τ – λεμφοκύτταρα και γιγαντοκύτταρα.
- Κάτω: Στα ώριμα κοκκιώματα τα επιθηλιοειδή και τα γιγαντοκύτταρα συσσωρεύονται σχηματίζοντας συμπαγή δομή. Τα CD4+ και τα CD8+ Τ-λεμφοκύτταρα περιβάλλουν το κοκκίωμα μαζί με ινοβλάστες.

2.5. ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΤΟΜΙΑ

Χαρακτηριστικό της νόσου είναι η αυξημένη κυτταρική ευαισθησία στις θέσεις προσβολής. Οι βλάβες μπορεί είτε να εντοπίζονται σε ένα όργανο είτε να είναι διεσπαρμένες. Όργανα που προσβάλλονται συχνότερα είναι οι πνεύμονες, το ήπαρ, ο σπλήνας, το δέρμα και τα μάτια. Ο πνεύμονας φαίνεται ότι είναι η πύλη εισόδου του αιτοπαθογόνου και ακολουθούν οι λεμφαδένες ως μέσα διασποράς της νόσου. Τα παθολογοανατομικά ευρήματα της νόσου είναι αρκετά χαρακτηριστικά. Τα σαρκοειδικού τύπου κοκκιώματα διαφέρουν από αυτά της φυματιώσεως στο ότι δεν χαρακτηρίζονται από τυροειδή νέκρωση, ενώ παρατηρούνται γιγαντοκύτταρα τύπου Langhans που περιέχουν αρκετές φορές σωμάτια Schaumann και αστεροειδή σωμάτια, ευρήματα που δεν είναι παθογνωμονικά της νόσου διότι συναντώνται και σε άλλες κοκκιωματώδεις

Εικόνα 4



Εξέλιξη σχηματισμού κοκκιώματος[b]

φλεγμονές [66]. Σε στενή συνάφεια με τα γιγαντοκύτταρα ανευρίσκονται αρκετά T_4 λεμφοκύτταρα και λίγα T_8 λεμφοκύτταρα, που εντοπίζονται κυρίως στις παρυφές των κοκκιωμάτων. Τα επιθηλιοειδή κύτταρα φαίνεται ότι προέρχονται από τα μακροφάγα με τα οποία διατηρούν λίγες ομοιότητες σε υπερμικροσκοπικό επίπεδο: τα φαγοσωμάτια και τα λυσοσωμάτια έχουν αντικατασταθεί από κυτταροπλασματικά οργανίδια περισσότερο συμβατά με τα παρατηρούμενα σε εκκριτικά κύτταρα. Τα ανώριμα επιθηλιοειδή κύτταρα είναι πλούσια σε τραχύ ενδοπλασματικό δίκτυο, χωρίς να έχει διευκρινιστεί το είδος της εκκρινόμενης πρωτείνης. Τα κοκκιώματα είναι υπεύθυνα για τελικές υδροξυλιώσεις και ενεργοποιήσεις προβιταμίνης D. Ως εκ τούτου πιθανολογείται ότι συμμετέχουν στην υπερασβεστιαιμία που παρατηρείται σε σαρκοείδωση. Με την πρώτη ματιά φαίνεται ότι τα κοκκιώματα κατανέμονται τυχαία στον πνεύμονα αλλά στην πραγματικότητα αυτά διατάσσονται κατά μήκος των λεμφικών αγγείων και βρίσκονται σε στενή συνάφεια με τα βρογχοαρτηριακά δεμάτια και τα μεσοκυψελιδικά διαφραγμάτια. Είναι επίσης πολύ καλά σχηματισμένα στους βρογχικούς βλεννογόνους, οπότε και είναι εύκολα διαγνώσιμα σε υλικό βρογχικών βιοψιών. Η στενή συνάφεια των κοκκιωμάτων με τα αιμοφόρα αγγεία είναι δυνατόν να προκαλέσει σαρκοειδική αγγειίτιδα λόγω επέκτασης της φλεγμονής σε όλους τους χιτώνες των αγγείων. Τα σαρκοειδικά κοκκιώματα μπορούν κατά τόπους να σχηματίζουν μεγάλες συναθροίσεις οπότε έχουμε την «οζώδη μορφή» της σαρκοείδωσης [67]. Σε μεταγενέστερα στάδια τα κοκκιώματα υαλοειδοποιούνται και μόνο η παρουσία των σωματίων Schaumann υποδηλώνει την ταυτότητά τους. Καθώς τα κοκκιώματα υποστρέφουν, επικρατεί το στοιχείο της διάμεσης ίνωσης με αποτέλεσμα την δημιουργία εικόνας δίκης μελισσοκερήθρας. Στη διαφορική διάγνωση της σαρκοείδωσης περιλαμβάνονται κοκκιωματώδεις φλεγμονώδεις νόσοι όπως η κοκκιωμάτωσης Wegener (χαρακτηρίζεται από μεγαλύτερη νέκρωση) και οι πνευμονίτιδες εξ υπερευαισθησίας όπου τα κοκκιώματα είναι περισσότερο διάσπαρτα κατανεμημένα και πτωχά σχηματισμένα, με παρεγχυματική κυρίως εντόπιση [68].

2.6. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Η σαρκοείδωση μπορεί να προσβάλλει σχεδόν όλα τα όργανα του σώματος και να εκδηλωθεί κλινικά με ποικίλα συμπτώματα και σημεία. Γενικά, θα μπορούσε να λεχθεί

ότι οι κλινικές εκδηλώσεις εξαρτώνται από τη διάρκεια, τη δραστηριότητα και την έκταση της νόσου, και ακόμη από το είδος και τη θέση του προσβληθέντος ιστού.

Η νόσος παρουσιάζεται με δύο κλινικές μορφές, την *οξεία ή υποξεία* και τη *χρονία.*

Η *οξεία ή υποξεία* έχει αιφνίδια έναρξη και τείνει να έχει αυτόματη ίαση. Πολύ συχνά είναι ασυμπτωματική ή το προέχον ενόχλημα είναι το οζώδες ερύθημα. Στους αρρώστους αυτούς, η ακτινογραφία θώρακος αποκαλύπτει συνήθως την ύπαρξη αμφοτερόπλευρης πυλαίας λεμφαδενοπάθειας. Σε ποσοστό μεγαλύτερο του 60% τα ακτινολογικά αυτά ευρήματα τείνουν να υποχωρήσουν. Στην περίπτωση αυτή τα κορτικοστεροειδή ίσως δεν είναι απαραίτητα.

Αντίθετα, η *χρονία* σαρκοείδωση έχει ασαφή έναρξη. Η διαδρομή της είναι αμβληχρή και η εξέλιξή της ποικίλει. Σε ποσοστό μεγαλύτερο του 90%, η ακτινογραφία θώρακος δείχνει εκτεταμένη παρεγχυματική διήθηση χωρίς ίνωση. Συνήθεις εκδηλώσεις είναι οι δερματικές βλάβες, η χρονία ραγοειδίτις, το γλαύκωμα, η εμμένουσα παρωτίτιδα και η υπερασβεστιαιμία και υπερασβεστιουρία που μπορεί να οδηγήσει σε νεφρασβέστωση και νεφρική ανεπάρκεια. Η συνύπαρξη διόγκωσης των παρωτίδων, συμπτωμάτων από τους οφθαλμούς και πάρεσης του προσωπικού νεύρου ονομάζεται σύνδρομο Heerdfordt. Τα κορτικοστεροειδή έχουν τη θέση τους για την ύφεση των συμπτωμάτων και τη λύση των κοκκιωμάτων.

Ανεξάρτητα από την κλινική μορφή της νόσου, η σαρκοείδωση συνοδεύεται στο ¼ έως 1/3 των περιπτώσεων από γενικά συμπτώματα και σημεία από το αναπνευστικό σύστημα. Κλινικές εκδηλώσεις ενδέχεται να υπάρχουν και από άλλα όργανα και συστήματα που έχουν προσβληθεί από τη νόσο [69].

<u>Α. Γενικά συμπτώματα.</u> Τα γενικά συμπτώματα της νόσου είναι ουσιαστικά τρία, ο πυρετός, το αίσθημα καταβολής και η απώλεια βάρους. Ο πυρετός είναι κατά κανόνα χαμηλός και σε ποσοστό περίπου 15% των περιπτώσεων αποτελεί το κυρίαρχο σύμπτωμα.

<u>Β. Τοπικά συμπτώματα.</u> Όπως ήδη αναφέρθηκε και παραπάνω, η σαρκοείδωση μπορεί να προσβάλλει σχεδόν όλα τα όργανα και ιστούς του σώματος. Κατ' ακολουθίαν, η νόσος μπορεί να δώσει ποικίλα συμπτώματα και σημεία ανάλογα

με την εντόπιση των παθολογοανατομικών βλαβών της. Αυτά με σειρά συχνότητας μπορεί να είναι:

- *από το αναπνευστικό:* βήχας, δύσπνοια, θωρακικό άλγος, απόχρεμψη, αιμόπτυση.
- *από άλλα όργανα:* λεμφαδενοπάθεια, δερματικές βλάβες, οφθαλμικές διαταραχές, αρθρικές ενοχλήσεις, μυαλγίες, νευρολογικά συμπτώματα, παρωτιδική διόγκωση, ξηροστομία.

2.7. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΝΕΥΜΟΝΑ ΚΑΙ ΣΑΡΚΟΕΙΔΩΣΗ

Η σαρκοείδωση, θεωρείται καλοήθης βλάβη, παρά ταύτα υπάρχουν δεδομένα που δηλώνουν αυξημένη προδιάθεση σε αυτούς τους ασθενείς για ανάπτυξη καρκίνου του πνεύμονα [70-80], όσο και άλλων συστημάτων [81-83]. Σε μία από τις μελέτες αυτές βρέθηκε ότι το λέμφωμα και ο καρκίνος του πνεύμονα ήταν 3 ως 11 φορές συχνότερος στους ασθενείς με σαρκοείδωση. Η παρατήρηση αυτή έχει και τον αντίλογό της [84,85]. Σε μια μελέτη που έγινε στη Δανία με 555 ασθενείς με σαρκοείδωση [85], οι οποίοι παρακολουθήθηκαν για 9-30 χρόνια, δεν βρέθηκε αυξημένη επίπτωση κακοήθειας. Οι συγγραφείς καταλήγουν ότι πιθανότατα τα αποτελέσματα προηγούμενων μελετών δεν ήταν σωστά λόγω στατιστικών λαθών ή λάθους στην ταξινόμηση των περιστατικών. Είναι γεγονός πάντως ότι τα ακτινολογικά ευρήματα της νόσου είναι αρκετά όμοια με αυτά άλλων ασθενειών , όπως το λέμφωμα ή ο καρκίνος του πνεύμονα, και πολύ συχνά δεν υπάρχει ιστολογική επιβεβαίωση. Έτσι κακοήθειες όπως οι παραπάνω συχνά διαγιγνώσκονται σαν σαρκοείδωση, και το αντίθετο, δυσκολεύοντας μια αναδρομική επιδημιολογική ανάλυση.

2.8 ΜΕΛΕΤΕΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΣΤΗ ΣΑΡΚΟΕΙΔΩΣΗ

Επιδημιολογικές και κλινικές μελέτες δείχνουν ότι υπάρχει κληρονομική προδιάθεση στην παθογένεια της σαρκοείδωσης [14,22,65,69,86-90]. Οι μελέτες αυτές υποστηρίζουν την άποψη ότι γενετικοί παράγοντες μπορεί να προδιαθέτουν σε αυτή τη διαταραχή ή να ευθύνονται για την κλινική έκφραση της νόσου.

Η οικογενής μορφή της νόσου [22,69,90-116] είχε παρατηρηθεί ήδη από τη δεκαετία του 1920 και μέχρι σήμερα έχουν παγκοσμίως βρεθεί 400 οικογένειες. Η νόσος θεωρείται οικογενής αν ένας τουλάχιστον βιολογικός συγγενής έχει την ίδια διαγνωση. . Αρκετές μελέτες έχουν ερευνήσει την σχέση των αντιγόνων ιστοσυμβατότητος I και II στη σαρκοείδωση, όμως προέκυψαν διαφορετικά αποτελέματα, ανάλογα με το στάδιο της νόσου και την εθνικότητα των ασθενών. Το γεγονός ότι μονοζυγώτες δίδυμοι, εμφανίζουν μεγαλύτερη πιθανότητα από ότι

διζυγώτες, να έχουν και οι δύο τη νόσο, υποστηρίζει ισχυρά τη γενετική συνιστώσα της νόσου [97].

Με τα ως τώρα δεδομένα φαίνεται να υπάρχει πραγματικά γενετική προδιάθεση στην παθογένεια της νόσου. Πιθανότατα η προδιάθεση αυτή σχετίζεται με την περιοχή των γονιδίων που ρυθμίζουν το μείζον σύστημα ιστοσυμβατότητος (MHC), τάξης I και II.

Η περιοχή των υποψηφίων αυτών γονιδίων δεν είναι η μόνη. Είναι πιο πιθανό η ευαισθησία προς τη σαρκοείδωση να είναι πολυγονιδιακή και να σχετίζεται και με την έκθεση σε περιβαλλοντολογικούς παράγοντες [22].

3. ΙΔΙΟΠΑΘΗΣ ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΗ ΙΝΩΣΗ

3.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ - ΟΡΙΣΜΟΣ

Η πρώτη περιγραφή της νόσου έγινε το 1907 στη Γερμανία. Το 1944 οι Hamman και Rich περιέγραψαν 4 ασθενείς οι οποίοι απεβίωσαν μέσα σε λίγους μήνες από μια ταχέως εξελισσόμενη νόσο, που παθολογοανατομικά χαρακτηριζόταν από φλεγμονώδη διήθηση του διαμέσου ιστού και ίνωση [117,118].

Ο όρος κρυπτογενής κυψελιδίτιδα προτάθηκε από το Scadding το 1964 [119]. Αυτός όρισε ινώδη κυψελιδίτιδα την παθολογοανατομική κατάσταση που χαρακτηριζόταν από ίνωση του πνευμονικού διαμέσου ιστού και των περιφερικών αεραγωγών. Ο όρος κρυπτογενής προσετέθη για να δηλώσει τον άγνωστο αιτιολογικό παράγοντα. Είναι συνώνυμος της ιδιοπαθούς πνευμονικής ίνωσης. Τον όρο αυτό προτιμούν στις ΗΠΑ. Σήμερα όμως ως ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση ονομάζεται κάθε ινωποιός φλεγμονώδης νόσος, της οποίας ο αιτιολογικός παράγοντας είναι άγνωστος. Ο Liebow περιέγραψε διάφορες υποομάδες της ΙΠΙ ανάλογα με το φλεγμονώδες κύτταρο που επικρατούσε στον πνευμονικό ιστό [2]. Η κατάταξη όμως που είναι σε ισχύ σήμερα είναι η νεώτερη από τους Katzenstein και Myers[295], που διατηρούν τα DIP και UIP του Liebow προσθέτωντας δύο ακόμα οντότητες, την AIP και την NSIP.

Ο τυπικός ασθενής με ΙΠΙ παρουσιάζει προοδευτικά αυξανόμενη δύσπνοια, με συνύπαρξη πολλές φορές ερεθιστικού βήχα. Κατά την κλινική εξέταση υπάρχει πληκτροδακτυλία και τρίζοντες στην ακρόαση. Στην ακτινογραφία θώρακα διαπιστώνονται διάσπαρτες οζώδεις ή δικτυοζώδεις σκιάσεις και ο λειτουργικός έλεγχος των πνευμόνων δείχνει διαταραχή αερισμού περιοριστικού τύπου.

3.2. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Η ΙΠΙ προσβάλλει κάθε ηλικία, αλλά σπανιότερα απαντάται στις ακραίες ηλικίες. Αναφέρονται στην βιβλιογραφία περιπτώσεις βρεφών ηλικίας μερικών εβδομάδων έως μηνών καθώς και ενός ασθενούς που σε ηλικία 80 ετών προσβλήθηκε από τη νόσο για πρώτη φορά. Συνήθως ο μέσος όρος ηλικίας των ασθενών είναι 50 –60 ετών. Η αναλογία ανδρών – γυναικών είναι 1,5 με 2,1. Όταν συνυπάρχουν και νοσήματα του κολλαγόνου η αναλογία ανδρών – γυναικών είναι 1:1. Η επίπτωση

είναι 3/100.000 κατοίκους. Σ' ό,τι αφορά στην κληρονομικότητα της νόσου, υπάρχει οικογενής επίπτωση, σε περιορισμένες όμως περιπτώσεις, αλλά οι περισσότεροι ασθενείς δεν έχουν κληρονομικό ιστορικό.

3.3. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ

Ο ακριβής αιτιολογικός παράγοντας της ΙΠΙ είναι άγνωστος παρά το πλήθος των ερευνητικών εργασιών που έχουν γίνει μέχρι σήμερα στον τομέα αυτό [7,119-155]. Το ερευνητικό ενδιαφέρον έχει επικεντρωθεί σε τρεις ουσιαστικά θεωρίες, οι οποίες είναι υποθέσεις, που δε δίνουν λύση στο πρόβλημα. Οι θεωρίες αυτές στηρίζονται σε γενετικές [15,140,156-173] και ανοσολογικές διαταραχές [17,174-176], και σε ιογενείς λοιμώξεις [177-183] ή γενικότερα περιβαλλοντικές επιδράσεις [184-187], όπως και το κάπνισμα [188-191].

Μια γενικώς παραδεκτή θεωρία είναι οτι η νόσος παρουσιάζεται σε άτομα που έχουν κάποια προδιάθεση, αν αυτά εκτεθούν σε άγνωστα ερεθίσματα. Τα ερθίσματα αυτά ξεκικνούν ένα καταράκτη γεγονότων που σχετίζεται με φλεγμονώδεις, ανοσολογικές και ινωτικές εξεργασίες στον πνευμονα, που ενώ θα έπρεπε να είναι αυτοπεριοριζόμενες καταλήγουν ως την ίνωση.

3.4. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Οι κύριες βιολογικές διεργασίες οι οποίες σχετίζονται με τον μηχανισμό της βλάβης και της επακόλουθης ίνωσης στο κατώτερο αναπνευστικό σύστημα στους ασθενείς με ΙΠΙ, φαίνονται στην Εικόνα 5.

Η επιφάνεια του αναπνευστικού βλεννογόνου είναι εφοδιασμένη με σημαντικό αριθμό ανοσοδραστικών κυττάρων που έχουν την ικανότητα να ενεργοποιούνται, να μεταναστεύουν και να διαφοροποιούνται σε άλλα κύτταρα ανάλογα με το ερέθισμα που δέχονται. Οι ικανότητες αυτές ενισχύονται από μια συνεχή ροή κυττάρων από το γενικό ανοσοποιητικό σύστημα και το μυελό των οστών προς τον πνεύμονα. Τα βασικότερα ανοσοδραστικά κύτταρα που παίζουν θεμελιώδη ρόλο στην εξέλιξη της παθογένειας ΙΠΙ είναι τα κυψελιδικά μακροφάγα, τα λεμφοκύτταρα, τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνα, τα ηωσινόφιλα και τα βασεόφιλα.

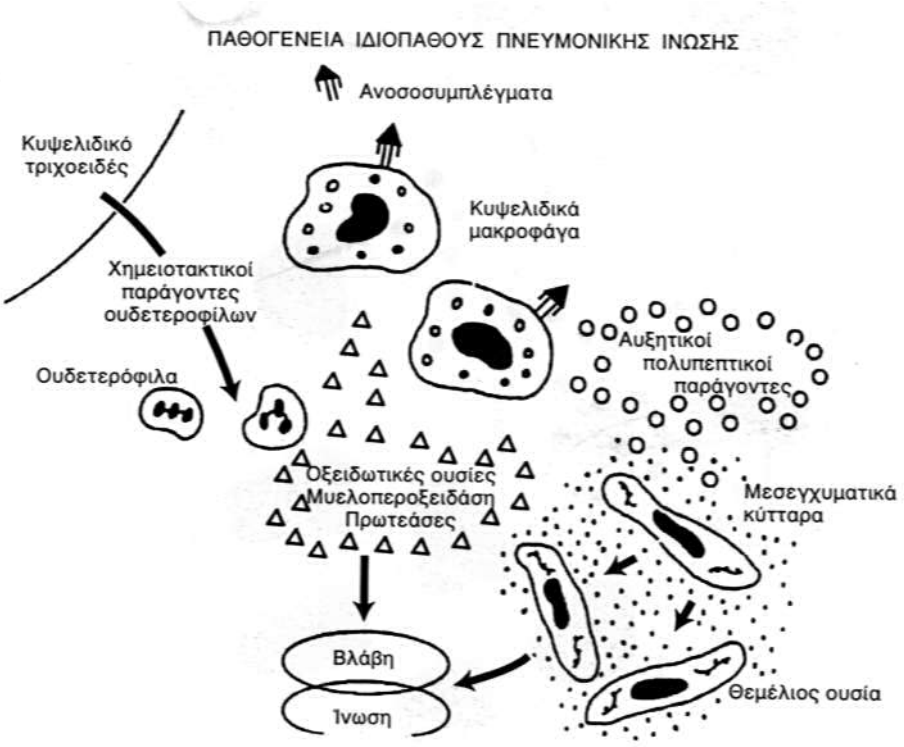
Ανοσοσυμπλέγματα διεγείρουν τα ΚΜΦ, τα οποία απελευθερώνουν χημειοτακτικούς παράγοντες οι οποίοι έχουν ουδετερόφιλα στα κυψελιδικά τριχοειδή. Τα ΚΜΦ και τα ουδετερόφιλα παράγουν οξειδωτικές ουσίες, μυελοϋπεροξειδάση και πρωτεάσες οι οποίες βλάπτουν το κυψελιδικό τοίχωμα. Τα ΚΜΦ εκλύουν επίσης διαφόρους πολυπεπτιδικούς αυξητικούς παράγοντες οι οποίοι διεγείρουν τα μεσεγχυματικά

κύτταρα να πολλαπλασιαστούν και τα οποία διεγείρουν τα μεσεγχυματικά κύτταρα να πολλαπλασιαστούν και τα οποία παράγουν κολλαγόνο και φιμπρονεκτίνη αυξάνοντας έτσι τον συνδετικό ιστό τοπικά.

3.5. ΑΝΟΜΟΙΟΓΕΝΕΙΑ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΤΩΝ ΙΝΩΤΙΚΩΝ ΒΛΑΒΩΝ

Η κατανομή της φλεγμονής του πνευμονικού ιστού είναι ανομοιογενής. Σε άλλες περιοχές υπάρχουν έντονες, σε άλλες ήπιες βλάβες και σε άλλες δεν παρατηρούνται βλάβες. Δεν είναι γνωστό γιατί συμβαίνει αυτό. Φαίνεται να παίζουν ρόλο, η κατανομή του αερισμού και της αιμάτωσης, ανεξάρτητα της εισαγωγής του βλαπτικού παράγοντα με τον εισπνεόμενο αέρα ή την αιματική ροή. Άλλοι παράγοντες που παίζουν ρόλο στην ανομοιογένεια αυτή είναι: ο διαφορετικός βαθμός διαλυτότητας των εισπνεομένων αερίων, η διαφορετική ικανότης αντίδρασης των επιθηλιακών κυττάρων στους βλαπτικούς παράγοντες και η διαφορετική διεισδυτικότητα των εισπνεομένων σωματιδίων.
Οι κοκκιωματώδους αιτιολογίας διάμεσοι νόσοι (π.χ. χρόνια σαρκοείδωση, πνευμονία από υπερευαισθησία, βρογχοπνευμονική ασπεργίλλωση, ηωσινόφιλο κοκκίωμα) προσβάλλουν τα άνω πνευματικά πεδία. Η ΙΠΙ και η αμιάντωση προσβάλλει τις βάσεις, ενώ η χρονία ηωσινοφιλική πνευμονία εντοπίζεται στην περιφέρεια.

Εικόνα 5



Παθογένεια ΙΠΙ[b]

3.6. ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΤΟΜΙΑ

Ο όρος *ινοποιητική κυψελιδίτιδα* [192] προσδιορίζει τον διπλό χαρακτήρα της νόσου η οποία χαρακτηρίζεται τόσο από φλεγμονή όσο και από ίνωση. Συνήθως παραβλέπεται στην περιγραφή της νόσου ο προσδιορισμός «διάμεση» καθ' όσον ένα μέρος της φλεγμονής συμβαίνει ενδοκυψελιδικά αλλά και μέρος της ίνωσης αντιπροσωπεύει στην πραγματικότητα κυψελιδικό εξίδρωμα που έχει ενσωματωθεί στο διάμεσο χώρο [193]. Οι όροι «κρυψιγενής» και «ιδιοπαθής» συχνά χρησιμοποιούνται ως συνώνυμοι, από παθολογοανατομικής όμως σκοπιάς δεν είναι δόκιμοι. Και αυτό γιατί η ινοποιητική κυψελιδίτιδα σε ασθενείς χωρίς συστηματική νόσο του συνδετικού ιστού είναι γενικά και ιδιοπαθής και κρυψιγενής αλλά η ίδια διεργασία σε ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα για παράδειγμα είναι κρυψιγενής αλλά όχι ιδιοπαθής. Είναι, επομένως, σωστότερο να χαρακτηρίζεται η κρυψιγενής ινοποιητική κυψελιδίτιδα ως «εντοπισμένη» η ως «συστηματική». Πρόσφατα έχει καταδειχθεί ότι αυτό ισχύει αναφορικά ως προς την διάμεση πνευμονοπάθεια της συστηματικής σκληροδερμίας, ενώ παρατηρήθηκε ότι εντοπισμένη ινοποιητική κυψελιδίτιδα διαδράμει βραχύτερα από παρόμοια πνευμονοπάθεια που εμφανίζεται ως επιπλοκή της συστηματικής σκληροδερμίας [194]. Παθολογοανατομικά το ίδιο συμβαίνει στην ινοποιητική κυψελιδίτιδα η οποία εμφανίζεται στα πλαίσια ρευματοειδούς αρθρίτιδας, πολυμυοσίτιδας και δερματομυοσίτιδας [195]. Άλλοι όροι που αναφέρονται βιβλιογραφικά είναι «ιδιοπαθής πνευμονική ίνωση» και «συνήθης διάμεσος πνευμονία». Ο πρώτος είναι κάπως γενικός και χρησιμοποιείται για την περιγραφή ιδιοπαθών ινοποιητικών πνευμονοπαθειών που διαφέρουν μεταξύ τους όπως η οργανοποιητική πνευμονίτιδα και η ινοποιητική κυψελιδίτιδα. Το επίθετο «συνήθης» χρησιμοποιείται για να δοθεί έμφαση στις διαφορές ανάμεσα στον συνηθισμένο ιστολογικό τύπο και σε άλλους τέσσερις τύπους οι οποίοι είναι: Α) με αποφολιδωτική έκφραση, Β) στα πλαίσια συνδρόμου αποφρακτικής βρογχιολίτιδας, Γ) ινωτική κυψελιδίτιδα με παρουσία γιγαντοκυττάρων και τέλος Δ) κυψελιδίτιδα που χαρακτηρίζεται από έντονες λεμφοκυτταρικές διηθήσεις. Από τους τύπους αυτούς, κάποιοι αναγνωρίζονται με τα σημερινά δεδομένα ως ιδιαίτερες νοσολογικές οντότητες. Για παράδειγμα, η λεμφοειδής διάμεση πνευμονίτιδα θεωρείται πλέον ως λεμφουπερπλαστική νόσος (λέμφωμα τύπου MALT) ενώ η γιγαντοκυτταρική διάμεση πνευμονίτιδα εξετάζεται μαζί με τις πνευμονοκονιώσεις [186]. Η αποφολιδωτική διάμεση πνευμονοπάθεια ονομάσθηκε έτσι διότι παλαιότερα υπήρχε

η πεποίθηση ότι τα ελεύθερα κύτταρα μέσα στον κυψελιδικό αυλό είναι επιθηλιακά. Η εξέταση όμως με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο κατέδειξε ότι τα αποφολιδωμένα κύτταρα στη μεγαλύτερή τους πλειοψηφία είναι μακροφάγα [196]. Επιπλέον, είναι αμφισβητήσιμο το εάν η συνήθης διάμεση πνευμονίτιδα είναι διαφορετική νοσολογική οντότητα από την αποφολιδωτική διάμεση πνευμονοπάθεια ή αν τελικά αποτελούν διαφορετικούς ιστολογικούς τύπους της ίδιας νόσου. Όσοι τάσσονται υπέρ της δεύτερης άποψης αναφέρονται σ' αυτές αντίστοιχα ως «τοιχωματικός» και «ενδοκυψελιδικός τύπος» κρυψιγενούς ινωποιητικής κυψελιδίτιδας. Υπέρ αυτής της θέσης είναι το γεγονός ότι η πλειοψηφία των περιπτώσεων της κρυψιγενούς ινωποιητικής κυψελιδίτιδας εμφανίζουν μικτή εικόνα, τόσο τοιχωματική όσο και ενδοκυψελιδική.

Οι Hamman και Rich περιέγραψαν 4 ασθενείς που απεβίωσαν από διάχυτη διάμεση πνευμονική ίνωση σε 6 μήνες από την έναρξη των συμπτωμάτων σε αντίθεση με την συνήθη κλινική πορεία των 4 περίπου ετών [117]. Ο όρος σύνδρομο Hamman-Rich επομένως χρησιμοποιείται για να περιγράψει περιπτώσεις με γρήγορη εξέλιξη. Στα πρώιμα στάδια της νόσου τα κυψελιδικά τοιχώματα εμφανίζονται οιδηματώδη και πεπαχυσμένα εξ αιτίας συνάθροισης λεμφοκυττάρων, πλασματοκυττάρων και ινοβλαστών, κυττάρων δηλαδή που συνθέτουν κολλαγόνο. Χαρακτηριστική είναι επίσης και η παρουσία μυοϊνοβλαστών, η συσπαστική ικανότητα των οποίων προφανώς συντελεί στη μεταβολή της αρχιτεκτονικής του πνευμονικού παρεγχύματος [197]. Συχνά παρατηρείται υπερπλασία του λεμφικού ιστού, ιδιαίτερα μάλιστα όταν συνυπάρχουν εκδηλώσεις νόσου του συνδετικού ιστού. Οι κυψελίδες περιέχουν άφθονα μακροφάγα στον αυλό τους. Παρότι στην ινωποιητική κυψελιδίτιδα παρατηρείται αξιόλογος αριθμός ουδετερόφιλων και ηωσινοφίλων κοκκιοκυττάρων στο υγρό της βρογχοκυψελιδικής έκπλυσης, πολύ λίγα από τα κυτταρικά αυτά στοιχεία αναγνωρίζονται σε τμήματα πνευμονικού ιστού που δεν έχει υποστεί έκπλυση, πράγμα που δίνει την εντύπωση ότι τα μακροφάγα συγκρατούνται επιλεκτικά. Σπάνια σχηματίζονται υαλοειδείς μεμβράνες οι οποίες μπορεί να μετατραπούν σε ινώδη συνδετικό ιστό, το στοιχείο όμως αυτό περιορίζεται στις ταχέως εξελισσόμενες περιπτώσεις όπως αυτές που περιγράφονται στο σύνδρομο Hamman-Rich. Σε αντίθεση με την εξωγενή αλλεργική κυψελιδίτιδα, δεν παρατηρείται σχηματισμός κοκκιωμάτων. Σωμάτια Masson αναφέρονται σπάνια, ενώ ενδοκυψελιδική ίνωση περιγράφεται στο 14% των περιπτώσεων [193].

Σε προχωρημένο στάδιο οι πνεύμονες είναι ρικνωμένοι και συμπαγείς. Οι κάτω λοβοί προσβάλλονται σε μεγαλύτερη συχνότητα από τους άνω, και εμφανίζουν μακροσκοπική εικόνα «κιρρωτικού ήπατος», γι' αυτό και η νόσος αναφερόταν παλαιότερα με τον όρο «κυστική κίρρωση του πνεύμονα». Η ίνωση του υπεζωκότα είναι αρκετά ασυνήθης εκδήλωση σε αντίθεση με την ασβέστωση που εμφανίζεται αρκετά συχνά. Στις διατομές, η πνευμονική επιφάνεια εμφανίζει ίνωση και εικόνα μελισσοκερήθρας. Μικροσκοπικά σε προχωρημένες καταστάσεις παρατηρείται αντικατάσταση της φυσιολογικής κυψελιδικής δομής από πυκνές κολλαγόνες ίνες που περικλείουν κυστικά διατεταμένους αεροφόρους χώρους οι οποίοι καλύπτονται από υπερπλαστικό βρογχικό η κυψελιδικό επιθήλιο, συχνά με εικόνα πλακώδους μετάπλασης. Οι διατεταμένοι αυτοί αεροφόροι χώροι περιλαμβάνουν βλέννη, ιστικά ράκη και κρυστάλλους χοληστερίνης, μακροφάγα και άλλα φλεγμονώδη στοιχεία. Τα τοιχώματα των αιμοφόρων αγγείων είναι πεπαχυσμένα στις περιοχές με ίνωση και φυσιολογικά στις υπόλοιπες. Κάποια φλεγμονώδη κύτταρα παραμένουν στον ινώδη ιστό, όχι όμως τόσο έκδηλα όσο στα αρχικά στάδια. Παρατηρείται επίσης έντονη υπερτροφία των λείων μυϊκών ινών, που προσέδωσε την επωνυμία «μυϊκή κίρρωση του πνεύμονα» [198], όρος που δεν χρησιμοποιείται πλέον. Η υπερπλασία των λείων μυϊκών ινών προέρχεται πιθανώς από τα βρογχιόλια και τα μικρά αιμοφόρα αγγεία, παρά από τους μυοβλάστες. Η παθολογοανατομική διάγνωση της ινωποιητικής κυψελιδίτιδας μπορεί να είναι δύσκολη καθ' όσον η ιστολογική εικόνα δεν είναι απολύτως ειδική για την νόσο. Παρόμοιες παθολογοανατομικές αλλοιώσεις περιγράφονται σε καταστάσεις που προκαλούνται από ιογενείς λοιμώξεις, τοξικές χημικές ουσίες καθώς και ακτινοβολία. Πρέπει, συνεπώς, να γίνει συνεκτίμηση κλινικών στοιχείων με την παθολογοανατομική εικόνα και να αποκλεισθούν ειδικές παθήσεις του διαμέσου χώρου όπως η ασβέστωση, η ιστιοκυττάρωση Χ, η πνευμονίτιδα από υπερευαισθησία, η λεμφαγγειολειομυομάτωση και η πνευμονική φλεβοαποφρακτική νόσο.

Εκτός από του να συνδράμει στην διάγνωση της νόσου ο παθολογοανατόμος μπορεί να βοηθήσει και στη πρόγνωση. Και τούτο γιατί η υαλοειδής εκφύλιση και η απώλεια της φυσιολογικής κυψελιδικής αρχιτεκτονικής με εικόνα μελισσοκερήθρας είναι αλλοιώσεις μη αναστρέψιμες ενώ οι φλεγμονώδεις αλλοιώσεις-τοιχωματικές και ενδοκυψελιδικές-είναι δυνητικά αναστρέψιμες. Έτσι η παθολογοανατομική έκθεση πρέπει να περιλαμβάνει όλα τα παραπάνω στοιχεία. Αν και η αποφολιδωτική διάμεση πνευμονοπάθεια θεωρείται ότι απαντά πολύ καλά σε θεραπεία με στεροειδή

εν τούτοις και στην περίπτωση αυτή οι ασθενείς μπορούν να αναπτύξουν αλλοιώσεις μη αναστρέψιμες με εικόνα πνεύμονος δίκην μελισσοκερήθρας.

Η κρυψιγενής ινοποιητική κυψελιδίτιδα εμφανίζει πολλά κοινά στοιχεία με τις νόσου του κολλαγόνου και συχνά συνδυάζεται με πολλές από αυτές. Σύνηθες εύρημα είναι η υπεργαμμασφαιριναιμία ενώ ανιχνεύονται επίσης μη οργανοειδικά αυτοαντισώματα με δυνατότητα καθήλωσης του συμπληρώματος, ρευματοειδής παράγοντας και αντιπυρηνικά αντισώματα [175]. Έχει μάλιστα καταδειχθεί στον ορό του αίματος των ασθενών και μερικές φορές στο τοίχωμα των πνευμονικών τριχοειδών η παρουσία ανοσοσυμπλεγμάτων, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις όπου η διάγνωση τίθεται νωρίς [176]. Είναι, συνεπώς, πιθανόν η νόσος να έχει ανοσολογική βάση, αλλά ανεξάρτητα από τον υποκείμενο ανοσολογικό μηχανισμό, το εκλυτικό αίτιο είναι άγνωστο. Τα παθογενετικά μονοπάτια που οδηγούν στην ίνωση είναι το αντικείμενο πολλών ερευνητικών προσπαθειών κατά τα τελευταία χρόνια. Με την εφαρμογή της τεχνικής της βρογχοκυψελιδικής έκπλυσης στη κλινική πράξη, έχει δοθεί αξιοσημείωτη προσοχή στον ρόλο των μακροφάγων και των ουδετεροφίλων, ο αριθμός των οποίων παρατηρείται αυξημένος στο υγρό της έκπλυσης. Είναι γνωστό ότι μετά από κατάλληλο ανοσολογικό ερεθισμό, τα μακροφάγα εκλύουν χημειοτακτικούς παράγοντες για τα ουδετερόφιλα καθώς και άλλους παράγοντες που διεγείρουν την εκκριτική δραστηριότητα των ινοβλαστών και ουδετεροφίλων. Βρέθηκε επίσης ότι τα μακροφάγα και τα ουδετερόφιλα μετά από κατάλληλη διέγερση εκκρίνουν μία σειρά από πρωτεάσες και τοξικές ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και υδροξυλίου. Η πρωτεόλυση μπορεί να διαταράσσει τη διαδικασία επούλωσης παρατείνοντάς την ενώ οι ελεύθερες ρίζες μπορεί να ευθύνονται για καταστροφή του ενδοθηλίου και του κυψελιδικού επιθηλίου. Η ενδοθηλιακές βλάβες επάγουν το διάμεσο οίδημα που με τη σειρά του οδηγεί σε ίνωση του διαμέσου χώρου όπως συμβαίνει στην «φαιά σκλήρυνση του πνεύμονα» ως αποτέλεσμα στένωσης της μιτροειδούς βαλβίδας. Κατά την εμβρυϊκή ζωή η ανάπτυξη ενδοδερμικών κυτταρικών μορφών που καλύπτουν τις αρχέγονες αεροφόρες οδούς, επηρεάζεται αμφίδρομα από το υποκείμενο μεσόδερμα [199]. Είναι επίσης πιθανόν ότι και στον πνεύμονα του ενήλικα το ώριμο κυψελιδικό επιθήλιο διαδραματίζει ρυθμιστικό ρόλο στον υποκείμενο συνδετικό ιστό. Έτσι, αν υφίσταται επανειλημμένη καταστροφή του κυψελιδικού επιθηλίου η οποία εμποδίζει την ανανέωσή του εύκολα ακολουθεί το στάδιο της διάμεσης ίνωσης. Εάν επίσης σε μία οργανοτυπική καλλιέργεια

στερήσουμε από μία τραχεία την επιθηλιακή της επένδυση ο αυλός της σύντομα γεμίζει με συνδετικό ιστό που στερείται επιθηλιακών στοιχείων. Αν όμως το επιθήλιο ενσωματωθεί υπό μορφή μοσχεύματος, εμποδίζεται ο πολλαπλασιασμός του συνδετικού ιστού και ο αυλός παραμένει ανοικτός. Έτσι, είναι πιθανόν βλάβες του κυψελιδικού επιθηλίου να συμμετέχουν με παρόμοιους μηχανισμούς στην ανάπτυξη της διάμεσης πνευμονικής ίνωσης. Η θεωρία της «διαρκούς βλάβης και αποκατάστασης» επιβεβαιώνεται από την παρουσία κολλαγόνου τύπου ΙΙΙ στην ενεργό ινοποιητική κυψελιδίτιδα [174].

Ένας άλλος εναλλακτικός μηχανισμός βασίζεται επίσης στη παρουσία επιθηλιακής βλάβης, με ιδιαίτερη βαρύτητα στους ινωποιητικούς παράγοντες που απελευθερώνονται από το αναγεννόμενο κυψελιδικό επιθήλιο. Οι ινωποιητικοί παράγοντες που ταυτοποιήθηκαν στο αναγεννόμενο κυψελιδικό επιθήλιο (αλλά όχι και στο φυσιολογικό) είναι μεταξύ άλλων ο Παράγοντας Νέκρωσης Όγκου-α (TNF-α), και ο Μετατρεπτικός Παράγοντας τύπου β (TGF-β) [200]. Η άμεση επαφή ανάμεσα στα κυψελιδικά επιθηλιακά κύτταρα και τα στοιχεία του διαμέσου χώρου μέσα από ελλείμματα της βασικής μεμβράνης όπως συχνά περιγράφεται στην πνευμονική ίνωση, θα ήταν σε θέση να διευκολύνει το πέρασμα οποιουδήποτε επιθηλιακού μηνύματος μέσω των παραπάνω παραγόντων προς τον συνδετικό ιστό. Τα αναγεννόμενα κύτταρα του κυψελιδικού επιθηλίου παρουσιάζουν στην κρυψιγενή ινοποιητική κυψελιδίτιδα ανώμαλη έκφραση του αντιγόνου Ια (HLA-DR δεύτερης τάξης μείζονος συστήματος ιστοσυμβατότητας), γεγονός που υποδηλώνει ότι τα κύτταρα αυτά μπορεί να αναγνωρίζονται ως αυτοαντιγόνα από τα ευαισθητοποιημένα Τ λεμφοκύτταρα, διαιωνίζοντας με τον τρόπο αυτό τη νόσο [201]. Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι στις διάμεσες πνευμονικές ινώσεις τα κυτταροτοξικά T_8 λεμφοκύτταρα υπερέχουν σε γενικές γραμμές των T_4 βοηθητικών λεμφοκυττάρων. Η απόπτωση του επιθηλίου σε συνδυασμό με ανεπάρκεια του επιφανειοδραστικού παράγοντα θα μπορούσε να βοηθήσει στην ερμηνεία του φαινομένου της εστιακής σύμπτωσης των κυψελιδικών τοιχωμάτων με την χαρακτηριστική παράθεση απογυμνωμένων βασικών μεμβρανών που περιγράφτηκαν με την βοήθεια του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου στο σύνδρομο Hamman-Rich. Ίδιο εύρημα έχουμε επίσης και στη διάχυτη κυψελιδική βλάβη η οποία είναι το παθολογικό υπόστρωμα του πολυπαραγοντικού και μη ειδικού συνδρόμου της αναπνευστικής δυσχέρειας των ενηλίκων. Η επιθηλιακή αναγέννηση που ακολουθεί γεφυρώνει τις κυψελίδες και οδηγεί σε μόνιμη ελάττωση των κυψελιδικών χώρων, κατάσταση που είναι γνωστή ως σκληρυντική ατελεκτασία.

Περιστασιακά οι απογυμνωμένες βασικές μεμβράνες καλύπτονται από ινική όπως ακριβώς παρατηρείται στη διάχυτη κυψελιδική βλάβη. Η ενσωμάτωση της ινικής στο βασικό χώρο των κυψελιδικών τοιχωμάτων και η οργανοποίηση της σ' αυτή τη θέση είναι μία άλλη διεργασία με την οποία αναπτύσσεται η διάμεση πνευμονική ίνωση [193].

3.7. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Η αρχική κλινική εκδήλωση της νόσου είναι η δύσπνοια η οποία γίνεται πιο έντονη με την άσκηση. Με την εξέλιξη της νόσου η δύσπνοια προοδευτικά επιδεινώνεται. Σε μερικούς ασθενείς συνυπάρχει απώλεια βάρους, μυαλγίες, αρθραλγίες και αίσθημα εύκολης κόπωσης. Αυτά τα συμπτώματα συνήθως αναφέρονται κατά την έναρξη της νόσου αν και μπορεί να είναι παρόντα και κατά την πορεία αυτής. Η έναρξη της νόσου πολλές φορές μπορεί να μιμείται γριππώδη συνδρομή ή να συνυπάρχει με ιογενή λοίμωξη, ή λοίμωξη από μυκόπλασμα.

Χαρακτηριστικό σύμπτωμα της νόσου είναι *ο βήχας* ο οποίος είναι ξηρός, βασανιστικός, σπάνια παραγωγικός.
Άλλα νοσήματα που μπορεί να συνυπάρχουν είναι η ρευματοειδής αρθρίτιδα, ερυθηματώδης λύκος, σκληροδερμία, δερματομυοσίτιδα και πιο σπάνια αναφέρεται περιφερική νευροπάθεια, χρόνια ενεργός ηπατίτιδα και αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία. Υπερτροφική πνευμονική οστεοαρθροπάθεια και αιφνίδιος πνευμοθώρακας αναφέρονται. Η πληκτροδακτυλία είναι το βασικό φυσικό σημείο, και βρίσκεται στο μεγαλύτερο ποσοστό των ασθενών, είτε από την αρχή της νόσου ή κατά την πορεία αυτής.

3.8. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΠΝΕΥΜΟΝΑ ΚΑΙ ΙΠΙ

Αξιοσημείωτη επιπλοκή της κρυψιγενούς ινωποιητικής κυψελιδίτιδας (ΙΠΙ) είναι η ανάπτυξη καρκίνου, μία παρατήρηση που στηρίζεται από αρκετές μελέτες στην διεθνή βιβλιογραφία [146,167,202-217].
Το ποσοστό εμφάνισης κακοήθειας στον πνεύμονα φθάνει έως και 13% [217]. Σε άλλη μελέτη ο βρογχογενής καρκίνος βρέθηκε 14.1 φορές πιο συχνός στους άνδρες καπνιστές ασθενείς με ΙΠΙ και 6,7 φορές πιο συχνός σε γυναίκες καπνίστριες με την ίδια νόσο, σε σχέση με το γενικό πληθυσμό [202].
Ο συχνότερος τύπος καρκίνου είναι αυτός εκ πλακωδών κυττάρων και λιγότερο συχνό το αδενοκαρκίνωμα [202], ενώ άλλοι μελετητές [209] δεν βρίσκουν διαφορά στον ιστολογικό τύπο ούτε στη θέση εντόπισης του καρκίνου, σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό. Μια ενδοιφέρουσα μελέτη είναι αυτή των Kuwano et al [204], οι οποιοι βρήκαν υπερέκφραση των p53 και p21 σε πνευμονικό ιστό από ασθενείς με ΙΠΙ, γεγονός που δεν ανιχνεύεται παρά μόνο σε εντοπισμένες περιοχές ίνωσης στον φυσιολογικό πνευμονικό ιστό. Υπέθεσαν λοιπόν οτι η υπερέκφραση αυτή σχετίζεται με με την χρόνια καταστροφή του DNA, με αποτέλεσμα την αναστολή

της G_1 φάσης ή απόπτωση, προκειμένου να γίνει επιδιώρθωση του DNA. Πιθανόν η χρόνια αυτή βλάβη να οδηγεί σε μετάλλαξη του p53 και καρκινογένεση.
Η υπερπλασία των κυψελιδικών κυττάρων αποτελεί πιθανώς το πρώτο στάδιο ανάπτυξης καρκινωμάτων. Μερικές φορές είναι δύσκολο να αποφασίσει ο παθολογοανατόμος αν η ατυπία του κυψελιδικού επιθηλίου αφορά σε δυσπλασία η σε νεοπλασία. Στην περίπτωση αυτή θα πρέπει να συνεκτιμηθούν και άλλοι παράγοντες όπως η ανίχνευση διαφόρων ογκογόνων και ογκοκατασταλτικών γονιδίων κτλ.Αν και είναι άγνωστη η παθογένεση καρκίνου του πνεύμονα στους ασθενείς αυτούς, σχετίζεται πιθανότατα με την έκθεση του πνευμονικού παρεγχύματος σε τοξικούς παράγοντες που οδηγούν σε κυψελιδίτιδα, την αποδιοργάνωση του και σε ίνωση.

3.9 ΜΕΛΕΤΕΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΣΤΗΝ ΙΠΙ

Η κληρονομική προδιάθεση στην παθογένεια της ΙΠΙ βασίζεται σε διάφορα ευρήματα [15,140,156-159,164]. Οι μελέτες αυτές υποστηρίζουν την άποψη ότι γενετικοί παράγοντες μπορεί να προδιαθέτουν σε αυτή τη διαταραχή ή να καθορίζουν την κλινική έκφραση της νόσου. Έχουν περιγραφεί περιπτώσεις οικογενούς ΙΠΙ [159-173,218-221], καθώς και περιπτώσεις της νόσου που αφορούν σε μονοωγενείς διδύμους, κάποιοι μάλιστα ιδύμους, κάποιοι μάλιστα χωρισμένοι γεωγραφικά για πολλά χρόνια [156].
Από τους Bitterman et al [164] έχει βρεθεί φλεγμονώδης δραστηριότητα σε κυψελιδικό επίπεδο σε φαινοτυπικά υγειείς συγγενείς ασθενών με ΙΠΙ. Σε αυτούς βρέθηκαν αυξημένες τιμές ουδετεροφίλων και ενεργοποιημένα μακροφάγα που παρήγαγαν χημειοτακτικούς παράγοντες για τα ουδερόφιλα και αυξητικούς παράγοντες για ινοβλάστες. Αν και η σημασία των παραπάνω ευρημάτων παραμένει άγνωστη, μπορεί να υποθέσει κανείς οτι οι συγγενείς των ασθενών αυτών έχουν αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης της νόσου.

Ο ρόλος του γενετικού παράγοντα ενδυναμώνεται επιπλέον για την ΙΠΙ, με την εμφάνηση όμοιων με την ΙΠΙ ευρημάτων σε διάφορα κληρονομικά σύνδρομα. Σε αυτά συμπεριλαμβάνονται η νευρινωμάτωση, η οζώδης σκλήρυνση, το σύνδρομο Hermansky-Pudlak, η νόσος Gaucher, η νόσος Niemann-Pick, και η οικογενής υπερασβεστιουρική υπερασβεστιαιμία. Αν και η συχνότητα της ΙΠΙ σε αυτές τις νόσους ποικίλει, οι εκπληκτικές ομοιότητες της κλινικής εικόνας με αυτές των σποραδικών περιπτώσεων ΙΠΙ, στηρίζουν τη θεωρία των κληρονομικών αιτιολογικών παραγόντων.

Η απουσία ενός συγκεκριμένου γενετικού παράγοντα υποδηλώνει ότι εάν η ΙΠΙ είναι όντως μια γενετικά καθορισμένη νόσος, είναι πιθανόταατα μια γενετικά πολυσύνθετη ασθένεια, που σχετίζεται με πολυγονικούς επιτόπους και πολλαπλούς

κληρονομικούς παράγοντες, δύσκολο να εξακριβωθούν επακριβώς [14]. Αφού η νόσος εμφανίζεται κυρίως σε ενήλικες, φαίνεται ότι η γενετική προδιάθεση σε συνδυασμό με ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες πιθανότατα, συμβάλουν στην φαινοτυπική έκφραση της παρεγχυματικής φλεγμονής και ίνωσης στην ΙΠΙ [14].

4. ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ ΚΑΙ ΝΕΟΠΛΑΣΙΕΣ

4.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η καρκινική εξαλλαγή ενός κυττάρου είναι μια πολύπλοκη και πολυσταδιακή διαδικασία, κατά την οποία περισσότεροι του ενός γενετικοί και επιγενετικοί παράγοντες απαιτούνται για τη μετάβαση από την κατάσταση φυσιολογικού ελέγχου κυτταρικής συμπεριφοράς, σε μια κατάσταση όπου ο έλεγχος αυτός έχει χαθεί. Ενώ η ανάπτυξη των φυσιολογικών κυττάρων ρυθμίζεται με βάση τις ανάγκες ολόκληρου του οργανισμού, τα καρκινικά κύτταρα έχουν την ικανότητα να διπλασιάζονται ανεξάρτητα και συνεχώς δημιουργώντας τελικά νεοπλασματικά μορφώματα τα οποία διεισδύουν στους γειτονικούς ιστούς. Ένα βασικό χαρακτηριστικό των καρκινικών κυττάρων είναι ότι διαιρούνται διαρκώς, παράγοντας νέα καρκινικά κύτταρα και ποτέ κάποιο φυσιολογικό απόγονο. Αυτό σημαίνει ότι οι ανωμαλίες που ωθούν ένα κύτταρο να γίνει καρκινικό, κληρονομούνται σταθερά σε κυτταρικό επίπεδο και επομένως πρέπει να έχουν γενετική βάση.

4.2. ΟΓΚΟΓΟΝΙΔΙΑ

Το ερευνητικό έργο ενός μεγάλου αριθμού εργαστηρίων την τελευταία εικοσαετία οδήγησε στη διαπίστωση ότι η ανάπτυξη και συνέπεια της μη φυσιολογικής έκφρασης ή/και λειτουργίας συγκεκριμένων γονιδίων. Τα γονίδια αυτά παίζουν σημαντικό ρόλο στον έλεγχο της αύξησης και της διαφοροποίησης του κυττάρου και κατατάσσονται σε δύο βασικές κατηγορίες: Τα ***ογκογονίδια*** (oncogenes), ιικά και κυτταρικά γονίδια (πρωτο-ογκογονίδια) που μεταπίπτουν σε ογκογονίδια μετά από ενεργοποίηση και τα ***ογκο-κατασταλτικά*** γονίδια (tumor-suppressor genes). Μια τρίτη κατηγορία, που εμφανίστηκε πρόσφατα και περιλαμβάνει γονίδια που παίζουν ρόλο στην καρκινογένεση, είναι αυτή των ***γονιδίων επιδιόρθωσης*** του DNA (mismatch repair genes). Η έρευνα πάνω σ' αυτές τις κατηγορίες γονιδίων προσανατολίζεται στην ταυτοποίηση ογκογονιδίων και ογκο-κατασταλτικών γονιδίων, στη διασαφήνιση του βιοχημικού τους ρόλου, στην εντόπιση των γενετικών αλλοιώσεων που οδηγούν σε ογκογενετική δράση και στην

εύρεση της συμμετοχής ογκογονιδίων και ογκο-κατασταλτικών γονιδίων στα διάφορα στάδια της κακοήθους εξαλλαγής.

4.3. ΟΓΚΟ-ΚΑΤΑΣΤΑΛΤΙΚΑ ΓΟΝΙΔΙΑ

Τα ογκο-κατασταλτικά γονίδια αποτελούν μια ευρεία ομάδα γονιδίων που συμπεριφέρονται στην καρκινογένεση με τρόπο υπολειπόμενο. Δηλαδή, η ογκογόνος δραστικότητά τους ενέχεται στην λειτουργική αδρανοποίηση και των δύο αλληλομόρφων των γονιδίων αυτών [222-225].

Τα πρώτα πειράματα σχετικά με την δράση των ογκο-κατασταλτικών γονιδίων διεξήχθησαν με την μέθοδο σύντηξης κυττάρων η οποία οδηγούσε στον σχηματισμό κυτταρικών υβριδίων [226]. Συγκεκριμένα, ένα καρκινικό κύτταρο συντήχθηκε με ένα κύτταρο το οποίο χαρακτηριζόταν από χαμηλότερο βαθμό κακοήθειας και γίνονταν παρατήρηση του φαινοτύπου του υβριδικού κυττάρου. Με τέτοια πειράματα βρέθηκε ότι το χρωμόσωμα 4 του ανθρώπου μπορούσε να καταστείλει την κακοήθεια, το χρωμόσωμα 1 την ανεξαρτησία προσκόλλησης στο υπόστρωμα καθώς και την αγγειογένεση [227]κλπ. Τα υβρίδια εκείνα τα οποία αφενός χαρακτηρίζονταν από απώλεια συγκεκριμένων χρωμοσωμάτων και αφετέρου από την ικανότητά τους να επάγουν όγκους σε πειραματόζωα οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι τα συγκεκριμένα χρωμοσώματα φέρουν ογκο-κατασταλτικά γονίδια. Αντίστροφα, η επαναφορά των χρωμοσωμάτων αυτών στα υβρίδια συνοδεύονταν από μείωση του καρκινικού φαινοτύπου γεγονός που υποδείκνυε και το ότι τα γονίδια αυτά θα πρέπει να συμπεριφέρονται γενετικά με τρόπο υπολειπόμενο [228].

4.4. ΑΠΩΛΕΙΑ ΕΤΕΡΟΖΥΓΩΤΙΑΣ

Γενετικές αναλύσεις στην συνέχεια με πολυμορφισμό μήκους περιοριστικών θραυσμάτων και υβριδισμό κατά Southern καθώς και με PCR σε δείκτες μικροδορυφορικού DNA έδειξαν ότι η απώλεια της ετεροζυγωτίας (ΑΕ), αποτελεί σταθερό και χαρακτηριστικό γνώρισμα των ογκο-κατασταλτικών γονιδίων, το οποίο βρίσκει εφαρμογή όχι μόνο στο γονίδιο του ρετινοβλαστώματος, όπου έγιναν οι πρώτες σχετικές παρατηρήσεις, αλλά και σε όλα τα ογκο-κατασταλτικά γονίδια [229]. Όσον αφορά τον μοριακό μηχανισμό της απώλειας της ετεροζυγωτίας, έχουν

διατυπωθεί διάφορα μοντέλα [223] τα οποία ερμηνεύουν το φαινόμενο αυτό (Εικόνα 6). Τα σημαντικότερα είναι τα παρακάτω:

α. Η έλλειψη ανιχνεύεται σαν απώλεια του ενός αλληλομόρφου χωρίς αύξηση της έντασης του εναπομένοντος αλληλομόρφου. Στην περίπτωση αυτή η απώλεια της ετεροζυγωτίας ταυτίζεται με την κυτταρογενετική ανάλυση με την οποία γίνεται ανίχνευση της έλλειψης, με πλεονέκτημα ότι γίνεται λεπτή χαρτογράφηση της περιοχής και η τεχνική χαρακτηρίζεται από υψηλότερη διακριτική ικανότητα.

β. Απώλεια που ακολουθείται από διπλασιασμό του χρωμοσώματος στην περιοχή αυτή στο εναπομένον αλληλόμορφο. Εδώ, αντίθετα με την προηγούμενη περίπτωση η πυκνομετρική ανάλυση της ηλεκτροφορητικής ζώνης δεν δείχνει απώλεια αν χρησιμοποιηθεί σαν μάρτυρας αντίστοιχη γενετική περιοχή που δεν βρίσκεται σε γενετική σύνδεση με την περιοχή που εμφανίζει την έλλειψη.

γ. Μιτωτικός ανασυνδυασμός όταν γενετικοί δείκτες εκατέρωθεν της υπό μελέτη περιοχής δεν υφίστανται απώλεια. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να θεωρηθεί και ως γονιδιακή μετατροπή.

Αποτελέσματα, από αρκετές μελέτες συνδυαζόμενα μεταξύ τους, οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι όλα τα ογκο-κατασταλτικά γονίδια προϋποθέτουν για την εμπλοκή τους στην καρκινογένεση την αδρανοποίηση και των δύο αλληλομόρφων δηλαδή συμπεριφέρονται με τρόπο υπολειπόμενο [230]. Επίσης, οι μελέτες απώλειας της ετεροζυγωτίας, αφενός υποδεικνύουν την θέση νέων υποψήφιων ογκο-κατασταλτικών γονιδίων και αφετέρου, αν αυτά είναι ήδη χαρακτηρισμένα τότε δείχνουν το βαθμό συμμετοχής των γονιδίων αυτών στην συγκεκριμένη νόσο.

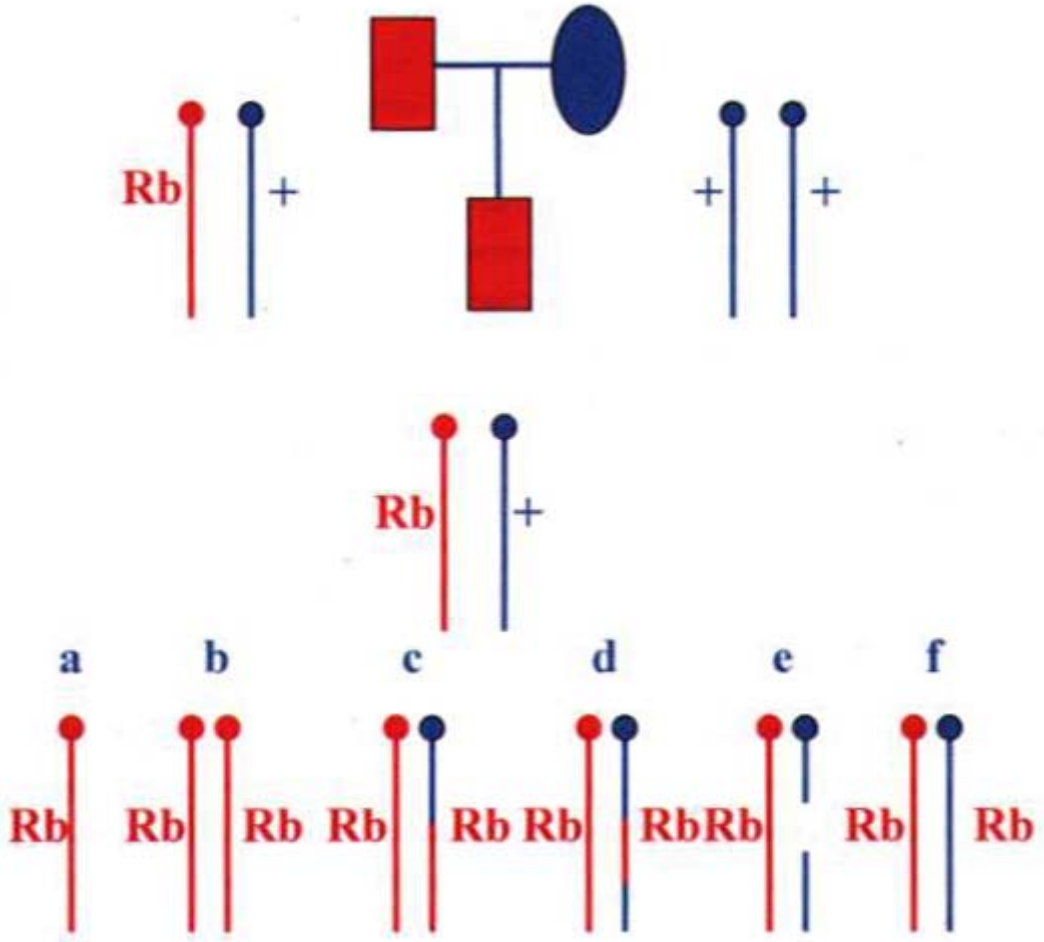
4.5. ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΑΣΤΑΘΕΙΑ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΓΕΝΕΣΗ

Κατά την ογκογένεση, εκτός από τα ογκογονίδια και τα ογκο-κατασταλτικά γονίδια, συμμετέχει και μια τρίτη ομάδα γονιδίων, τα οποία εμπλέκονται στην διατήρηση της πιστότητας του DNA κατά την αντιγραφή. Η υπόθεση αυτή, αν και

είχε προταθεί την προηγούμενη δεκαετία [231], ωστόσο μόλις πρόσφατα αποδείκτηκε πειραματικά ότι κατέχει γενικευμένο ρόλο στην καρκινογένεση. Τα γονίδια αυτά, κωδικοποιούν για πρωτεΐνες που είτε διορθώνουν τυχόν λάθη στο DNA ή και συστατικά του ίδιου του συστήματος αντιγραφής και οι μεταλλάξεις στα γονίδια αυτά έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση του ρυθμού μεταλλαξογένεσης [232]. Αν και αρχικά η συμμετοχή των γονιδίων αυτών αποδείκτηκε για ορισμένα κληρονομικά σύνδρομα καρκίνου, κυρίως του παχέως εντέρου [233], περαιτέρω έρευνες έδειξαν ότι σε όλους τους τύπους καρκίνου παρατηρούνται ανάλογα φαινόμενα, όπως σποραδικούς καρκίνους του παχέως εντέρου [234-236], του ενδομητρίου [237], του πνεύμονα [238], του μαστού [239].

Στο σημείο όμως αυτό θα πρέπει να τονίσουμε ότι το φαινόμενο της κακοήθους εξαλλαγής των κυττάρων δεν είναι υποχρεωτικά ανάλογο της συχνότητας των μεταλλάξεων, αλλά και άλλοι παράγοντες που σχετίζονται με τον τύπο της μετάλλαξης καθώς και με την φυσιολογία του κυττάρου καθ' αυτή σχετίζονται με το φαινόμενο της καρκινογένεσης. Αυτό, αποδείκτηκε καθαρά με πειράματα από τους [240], οι οποίοι σύγκριναν τους ρυθμούς μεταλλαξογένεσης και μετασχηματισμού σε κύτταρα ανθρώπου και ινδικών χοιριδίων: Αν και ο ρυθμός μεταλλαξογένεσης ήταν σχεδόν ταυτόσημος και στους δύο τύπους κυττάρων, ωστόσο στα ανθρώπινα κύτταρα, σπανιότατα συνέβαινε μετασχηματισμός, αντίθετα με τα κύτταρα των ινδικών χοιριδίων.

Εικόνα 6



Μηχανισμοί απώλειας ετεροζυγωτίας[e]:

a. αποχωρισμός των αδελφών χρωματίδων, **b.** αποχωρισμός των αδελφών χρωματίδων και διπλασιασμός, **c.** μιτωτικός ανασυνδιασμός, **d.** γονιδιακός ανασχηματισμός, **e.** Απάλειψη χρωμοσωμικής περιοχής, **f.** Σημειακή μετάλλαξη

4.6. ΑΣΤΑΘΕΙΑ ΜΙΚΡΟΔΟΡΥΦΟΡΙΚΟΥ DNA

Το μικροδορυφορικό DNA, απετέλεσε το ιδανικό πειραματικό εργαλείο για τον προσδιορισμό της πιστότητας στην αντιγραφή του DNA στα καρκινικά κύτταρα. Θα αναφέρουμε στη συνέχεια κάποια χαρακτηριστικά του μικροδορυφορικού DNA που το κατέστησαν πολύ χρήσιμο σε ανάλογες μελέτες.

Το μικροδορυφορικό DNA ανήκει στο υψηλά επαναλαμβανόμενο DNA και αποτελείται συνήθως από δινουκλεοτίδια ή τρινουκλεοτίδια (έως και εξανουκλεοτίδια θεωρείται ότι ανήκουν στην κατηγορία αυτή), που επαναλαμβάνονται αρκετές φορές στο γονιδίωμα του ανθρώπου. Υπάρχει σε περίπου 100.000 διαφορετικές θέσεις σε όλα τα χρωμοσώματα του ανθρώπου και τις περισσότερες φορές είναι CA/GT διπλέτες που επαναλαμβάνονται [241]. Όσον αφορά την λειτουργία των αλληλουχιών αυτών, στην συντριπτική πλειοψηφία των περιπτώσεων, δεν συσχετίζεται με την ρύθμιση της έκφρασης κάποιων γονιδίων. Έχει όμως προταθεί ότι οι αλληλουχίες αυτές συμμετέχουν στην αποφυγή λαθών κατά την διάρκεια φαινομένων γενετικού ανασυνδυασμού (recombination events), καθώς οριοθετούν τις περιοχές που γίνεται η ανταλλαγή των αδελφών χρωματίδων, χωρίς να επιβάλλεται αυτό να γίνει με απόλυτη ομολογία. Κατά συνέπεια, μικρά λάθη κατά τον ανασυνδυασμό, δεν αλλοιώνουν το πλαίσιο ανάγνωσης σε παρακείμενα γονίδια [242].

Η έλλειψη συγκεκριμένης λειτουργικότητας στις αλληλουχίες αυτές, σε συνδυασμό με την επαναλαμβανόμενη δομή τους, είχε σαν συνέπεια οι αλληλουχίες αυτές να χαρακτηρίζονται από υψηλό βαθμό πολυμορφισμού ως εξής: Η δημιουργία λαθών λόγω άνισου επιχιασμού κατά το ζευγάρωμα των αδελφών χρωματίδων ή κατά την αντιγραφή του DNA ευνοούνταν, ενώ η απουσία επιλεκτικής πίεσης στα νεοσχηματισθέντα - μεταλλαγμένα - αλληλόμορφα, τα σταθεροποιούσε στον πληθυσμό, προκαλώντας ένα υψηλότατο βαθμό πολυμορφισμού [243]. Ενδεικτικά αναφέρουμε ότι η ετεροζυγωτία των αλληλομόρφων του μικροδορυφορικού DNA, όσον αφορά τον αριθμό επανάληψης των αλληλουχιών αυτών υπερβαίνει το 90% στον φυσιολογικό πληθυσμό.

Τελευταία βρέθηκε ότι τα καρκινικά κύτταρα χαρακτηρίζονται επίσης από την δημιουργία τέτοιων νέων μεταλλαγμένων αλληλομόρφων, που απουσιάζουν από τον παρακείμενο φυσιολογικό ιστό. Ο σχηματισμός των νέων αυτών αλληλομόρφων είναι πάλι προϊόν των φαινομένων που προαναφέρθηκαν και χαρακτηρίζεται σαν αστάθεια

του μικροδορυφορικού DNA (microsatellite instability), στο εξής ΜΑ (μικροδορυφορική αστάθεια).

Ειδικότερα για τον καρκίνο, το φαινόμενο της ΜΑ συσχετίστηκε με λάθη κατά την αντιγραφή του DNA και αρχικά χαρακτηρίστηκε στον κληρονομικό μη πολυπωσικό καρκίνο του παχέως εντέρου (hereditary non-polyposis colorectal cancer) όπου και βρέθηκε ότι οφείλεται σε κληρονομικές μεταλλάξεις σε γονίδια που συμμετέχουν στην επιδιόρθωση των λαθών κατά την αντιγραφή του DNA [244]. Μεταγενέστερα όμως πειράματα έδειξαν ότι το φαινόμενο της ΜΑ επίσης χαρακτηρίζει σχεδόν όλους τους τύπους καρκίνου όπως σποραδικό καρκίνο του παχέως και του λεπτού εντέρου, του στομάχου, του μαστού, του ενδομητρίου, των ωοθηκών, του πνεύμονα κλπ. Αν και στις προαναφερθείσες περιπτώσεις δεν υπάρχει ακόμα σαφής συσχέτιση με μεταλλάξεις σε DNA-επιδιορθωτικά γονίδια, ωστόσο η αύξηση του ρυθμού μεταλλαξογένεσης είναι προφανής επιβεβαιώνοντας της θεωρία για τον καρκίνο σαν μεταλλακτικό φαινότυπο.

4.7. ΜΗ ΚΑΚΟΗΘΗ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΔΟΡΥΦΟΡΙΚΗ ΑΣΤΑΘΕΙΑ

ΜΑ, εκτός από τον καρκίνο έχουν αναφερθεί και σε άλλα γενετικά νοσήματα νευρολογικής φύσης. Τέτοιες είναι η χορεία του Huntington [245], το σύνδρομο του εύθραυστου Χ χρωμοσώματος [246] και η μυοτονική δυστροφία [247]. Στις προαναφερθείσες νόσους αυτό το οποίο συνήθως παρατηρείται είναι αύξηση (expansion) του αριθμού τρινοκλεοτιδίων σε περιοχές επαναλαμβανόμενου DNA, παρακείμενες σε συγκεκριμένα γονίδια των οποίων επηρεάζεται η έκφραση. Η θεμελιώδης διαφορά της περίπτωσης αυτής από την αστάθεια που παρατηρείται στον καρκίνο, είναι ότι οι αλληλουχίες-στόχοι είναι συγκεκριμένες και κατά συνέπεια η αστάθειά τους δεν εκφράζει μία γενικότερη αύξηση στον ρυθμό μεταλλαξογένεσης.Άλλες καλοήθεις διαταραχές στις οποίες έχει βρεθεί ΜΑ, είναι η αθηροσκλήρυνση [248-250] και το πτερύγιο του οφθαλμού [251,252]. Τέλος έχει βρεθεί ΜΑ σε εμβρυικούς ιστούς από αυτόματες αποβολές [253,254]. Πιθανόν οι ασθένειες αυτές έχουν παρόμοιο μηχανισμό με τις νεοπλασίες και ίσως θα μπορούσαν να θεωρηθούν ως καλοήθεις νεοπλασματικές καταστάσεις.

4.8. ΠΝΕΥΜΟΝΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΔΟΡΥΦΟΡΙΚΕΣ ΑΛΛΟΙΩΣΕΙΣ

Οι γενετικές μελέτες σε επίπεδο μικροδορυφορικού DNA σε πνευμονικές νόσους περιορίζονται - με την εξαίρεση του καρκίνου του πνεύμονα - μόνο στην χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια (ΧΑΠ)[255,256].

Οι Siafakas et al βρήκαν ΜΑ σε 14 από τους 60 ΧΑΠ ασθενείς που ελέχθησαν, ποσοστό 24% [255]. Ενδιαφέρον είναι ότι δεν βρέθηκαν παρόμοιες γενετικές αλλαγές στους 59 μη ΧΑΠ καπνιστές που στην ίδια μελέτη ήταν η ομάδα ελέγχου, πράγμα που σημαίνει ότι το κάπνισμα δεν είναι υπεύθυνο για τις παραπάνω αλλοιώσεις.

Όσον αφορά στον καρκίνο του πνεύμονα η βιβλιογραφία είναι πιο εκτεταμένη. Πρόκειται για μελέτες που ανιχνεύουν τόσο ΜΑ [238,257-262], όσο και ΑΕ [238,257,263-270], σε άλλοτε άλλους δείκτες. Ο αριθμός των δειγμάτων καρκινικού ιστού που ελέγχθηκε ήταν από 7 [265,267] ως 137 [260].

Τα αποτελέσματα συχνότητας ανίχνευσης ΜΑ σε ποσοστιαίες μονάδες στις μελέτες αυτές είναι από 6% [259] ως 55% [257]. Από τα χρωμοσώματα που έχουν ελεγχθεί (Χ, 1-9, 11-14, 17) υψηλότερες τιμές ΜΑ προέκυψαν από τα 9 και 17.

Η συχνότητα ανίχνευσης ΑΕ σε ποσοστιαίες μονάδες στις παραπάνω μελέτες κυμαίνεται από 24% [238] ως 86% [267]. Πρόκειται λοιπόν για ένα πιο συχνό εύρημα, κυρίως στον μη-μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα [263,266-268]. Από τα χρωμοσώματα που έχουν ελεγχθεί (3, 6, 9, 11, 13, 17) υψηλότερες τιμές ΑΕ προέκυψαν από τα 3, 9 και 17.

Β. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Ι. ΥΠΟΘΕΣΗ

Οι διάμεσες διηθητικές πνευμονοπάθειες (ΔΔΠ) είναι μία ανομοιογενής ομάδα παθήσεων του πνεύμονος, οι οποίες ταξινομούνται μαζί λόγω κοινών κλινικών, αιτιολογικών, παθοφυσιολογικών και παθολογοανατομικών χαρακτηριστικών καθώς και της κοινής παθογενετικής διαδικασίας ανεξαρτήτως αιτιολογίας [271]. Με βάση νεώτερα δεδομένα υπάρχουν κοινά στοιχεία στην παθογένεια των νόσων αυτών. Παράδειγμα η μη ειδική κυψελιδίτιδα είναι κοινό εύρημα σε πολλές διάμεσες πνευμονοπάθειες, πολύ λίγα όμως γνωρίζουμε για τη μοριακή βάση των ασθενειών αυτών [14]. Για κάποιες από τις νόσους αυτές έχει παρατηρηθεί αυξημένη επίπτωση καρκίνου του πνεύμονα. Συγκεκριμένα για την Ιδιοπαθή Πνευμονική Ίνωση (ΙΠΙ), έχει υπολογιστεί κίνδυνος εμφάνιση κακοήθειας στον πνεύμονα αυξημένος κατά 14.1 [202]. Για την Σαρκοείδωση που είναι μια πιο ήπια νόσος, αυτό ισχύει σε μικρότερο βαθμό [81]. Άγνωστη όμως παραμένει η αιτία, όπως επίσης και η μοριακή βάση των νοσημάτων αυτών.

Πρόσφατα είχε αποδειχθεί ότι η ύπαρξη Μικροδορυφορικής αστάθειας (ΜΑ) είναι κοινή ανωμαλία των καρκινικών κυττάρων, η οποία συνοδεύεται με ανωμαλίες στο μηχανισμό αποκατάστασης του DNA. Η ύπαρξη ΜΑ έχει διαπιστωθεί, σε κακοήθειες διαφόρων συστημάτων [232] και σε καρκίνους πνεύμονα [238]. Η ανίχνευση νέων ογκοκατασταλτικών γονιδίων (ΟΚΓ) παρέχει πληροφορίες για τη μοριακή βάση της ανάπτυξης του καρκίνου [272]. Η απενεργοποίηση των ΟΚΓ παίζει σημαντικό ρόλο στην καρκινογένεση. Σήμερα η ανίχνευση της απώλειας ετεροζυγωτίας (ΑΕ), με τη χρήση υψηλά πολυμορφικών δεικτών μικροδορυφορικού DNA, είναι η πιο συχνή μέθοδος που χρησιμοποιείται για τον εντοπισμό στο γονιδίωμα θέσεων με αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης υποψηφίων ΟΚΓ [273]. Μέχρι σήμερα όμως δεν έχει μελετηθεί η ύπαρξη των παραπάνω γενετικών αλλαγών και άρα η αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης νεοπλασίας στις ΔΔΠ.

Υποθέσαμε λοιπόν ότι ίσως οι παραπάνω γενετικές αλλαγές (ΜΑ και ΑΕ) πιθανόν να είναι ανιχνεύσιμες και στα δυο νοσήματα που αναφέρθηκαν (Σαρκοείδωση και ΙΠΙ), κάτι που θα μπορούσε να αποτελεί μέρος της πολύπλοκης γενετικής βάσης των παραπάνω νόσων.

Απ' όσο γνωρίζουμε αυτή η εργασία αποτελεί την πρώτη τέτοιου είδους γενετική μελέτη σε ασθενείς με ΔΔΠ.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η ανίχνευση των γενετικών αποκλίσεων σε επίπεδο μικροδορυφορικού DNA, σε ασθενείς με ΔΔΠ, καθώς και ο έλεγχος για την πιθανή εφαρμογή τους σαν δείκτες βαρύτητας της των νόσων αυτών.

ΙΙ. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Α. ΑΣΘΕΝΕΙΣ

*Σαρκοείδωση:

Μελετήθηκαν 30 ασθενείς με κλινική και ιστολογική επιβεβαίωση σαρκοείδωσης. Πρόκειται για ασθενείς που κυρίως έχουν διαγνωσθεί και παρακολουθούνται από την κλινική μας. Λόγω της σπανιότητας της νόσου η συλλογή των δειγμάτων ξεκίνησε από τον Ιανουάριο του 1996 και συνεχίστηκε ως τον Οκτώβριο του 1998, οπότε και έγινε η επεξεργασία των τελευταίων από τα δείγματα.

Κριτήρια αποκλεισμού αποτέλεσαν συνυπάρχουσες χρόνιες νόσοι, λοιμώξεις πνεύμονα ή κακοήθειες. Η διάμεση ηλικία ήταν 53 έτη (ηλικιακό εύρος: 24-66 έτη). Δέκα από αυτούς ήταν άνδρες και 20 γυναίκες. Καπνιστές ήταν οι 6 από τους παραπάνω με μέσο ιστορικό καπνίσματος 24 ± 8 πακέτα/έτη. Ο υπολογισμός του ιστορικού καπνίσματος των ασθενών γίνεται με τον τύπο:

Πακέτα/έτη = (σύνολο ετών καπνίσματος) x πακέτα τσιγάρων/ημέρα

Η μέση διάρκεια της νόσου τους ήταν 4,3± 1.8 έτη. Όλοι οι ασθενείς υποβλήθηκαν στα πλαίσια του ελέγχου για τη νόσο τους, ανάμεσα σε άλλες δοκιμασίες, και σε σπιρομέτρηση και μέτρηση αερίων αρτηριακού αίματος. Τα χαρακτηριστικά των ασθενών φαίνονται στον Πίνακα 8.

*Ιδιοπαθής Πνευμονική Ίνωση:

Μελετήθηκαν 26 ασθενείς με κλινικά, απεικονιστικά και/ή ιστολογικά ευρήματα συμβατά με ΙΠΙ. Πρόκειται για ασθενείς που κυρίως έχουν διαγνωσθεί και παρακολουθούνται από την κλινική μας. Ο αριθμός τους, λόγω του ότι η νόσος είναι πιο σπάνια από τη σαρκοείδωση, δεν έφτασε τον αριθμό στόχο (30) για το ίδιο διάστημα συλλογής δειγμάτων (Ιανουάριος 1996- Οκτώβριος 1998).

Κριτήρια αποκλεισμού αποτέλεσαν συνυπάρχουσες χρόνιες νόσοι, λοιμώξεις πνεύμονα ή κακοήθειες. Η διάμεση ηλικία ήταν 72 έτη (ηλικιακό εύρος: 57-82 έτη).Από αυτούς 20 ήταν άνδρες και έξι γυναίκες. Δεκαοκτώ ήταν καπνιστές, με μέσο ιστορικό καπνίσματος 29 ± 21 πακέτα/έτη. Όλοι οι ασθενείς υποβλήθηκαν στα

πλαίσια του ελέγχου για τη νόσο τους, ανάμεσα σε άλλες δοκιμασίες, και σε σπιρομέτρηση και μέτρηση αερίων αρτηριακού αίματος. Τα χαρακτηριστικά των ασθενών φαίνονται στον Πίνακα 9.

Πίνακας 8

Κλινικά και εργαστηριακά δεδομένα ασθενών με σαρκοείδωση *

	Ασθενείς με σαρκοείδωση
Αριθμός	30
Άνδρες / Γυναίκες	10/20
Ηλικία: median (έτη)	53
εύρος (έτη)	24-66
Κάπνισμα (n, Πακέτα/έτη)	6, 24 ± 8
Διάρκεια νόσου (έτη)	4.3 ± 1.8
Σπιρομέτρηση	
FEV_1 (% προβλ.)	75.8 ± 5
FVC (% προβλ.)	88.2 ± 3.5
FEV_1/FVC	82.3 ± 2.5
Αέρια αίματος, σε ηρεμία (FiO_2 : 21%)	
PaO_2 (mm Hg)	79.5 ± 7.9
$PaCO_2$ (mm Hg)	39.4 ± 3.4
pH	7.39 ± 0.05

*Μέσες τιμές (± SD), εκτός αν αναφέρεται διαφορετικά

Δείγματα πρωινών **πτυέλων** και περιφερικού **αίματος** συλλέχθηκαν από όλους τους ασθενείς.

Τα δείγματα πτυέλων θεωρήθηκαν επαρκή, όταν κατά την κυτταρολογική εξέταση (με

μεγέθυνση x 100) τα επιθηλιακά κύτταρα ήταν λιγότερα από 10 /κ.ο.π [274].

Πίνακας 9

Κλινικά και εργαστηριακά δεδομένα ασθενών με ΙΠΙ *

	Ασθενείς με ΙΠΙ
Αριθμός	26
Άνδρες / Γυναίκες	20/6
Ηλικία: median (έτη)	72
εύρος (έτη)	57-82
Κάπνισμα (n, Πακέτα/έτη)	18, 29 ± 21
Διάρκεια νόσου (έτη)	3.3 ± 1.4
Σπιρομέτρηση	
FEV_1 (% προβλ.)	69.8 ± 6
FVC (% προβλ.)	68.2 ± 5.1
FEV_1/FVC	91.2 ± 3.7
Αέρια αίματος, σε ηρεμία (FiO_2 : 21%)	
PaO_2 (mm Hg)	68.2 ± 6.8
$PaCO_2$ (mm Hg)	40.2 ± 2.9
pH	7.37 ± 0.1

* Μέσες τιμές (± SD), εκτός αν αναφέρεται διαφορετικά

Β. ΜΕΘΟΔΟΙ

1. Επεξεργασία DNA

1.1 Εξαγωγή χρωμοσωμικού DNA από πτύελα

Τα πτύελα ομογενοποιήθηκαν σε διάλυμα λύσης (10 mM EDTA, 10 mM Tris pH 8.0, 150 mM NaCl, 0.5% SDS). Στην συνέχεια ο ομογενοποιημένος ιστός επωάστηκε σε θερμοκρασία 60°C, αφού προστέθηκε πρωτεϊνάση Κ σε τελική συγκέντρωση 100 μg/ml. Ακολούθησε εκχύλιση του DNA με φαινόλη/χλωροφόρμιο για 1h σε θερμοκρασία 37°C. Το DNA κατακρημνήστηκε με προσθήκη μισού όγκου οξικού αμμωνίου (ή 1/20 όγκου NαCl 5M) και 2.5 όγκων απόλυτης αιθανόλης και φυγοκεντρήθηκε σε θερμοκρασία 4°C σε 13.000 rpm. Στη συνέχεια έγινε πλύσιμο του κατακρημνισμένου DNA με 70% αιθανόλη. Αφού απομακρύνθηκε η αιθανόλη το DNA επαναιρήθηκε σε ddH_2O και διατηρήθηκε σε θερμοκρασία 4°C. Η ποσότητα του DNA καθώς και η καθαρότητά του υπολογίστηκε έπειτα από φωτομέτρηση στα 260 nm και στα 280 nm [275].

1.2 Απομόνωση χρωμοσωμικού DNA από περιφερικό αίμα.

Περίπου 5 ml περιφερικού αίματος συλλέχθηκε και διατηρήθηκε με αντιπηκτικό (K-Na EDTA) σε θερμοκρασία 4°C. Αρχικά έγινε λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων (απύρηνα) με επώαση του αίματος σε ρυθμιστικό διάλυμα που περιείχε 10 mM Tris HCl pH 8.0, 320 mM σουκρόζη, 5 mM $MgCl_2$ και 1% Triton-X-100. Ακολούθησε ήπια ανάδευση του διαλύματος σε θερμοκρασία δωματίου και φυγοκέντρηση σε 2.500 rpm. Το κυτταρικό ίζημα συλλέχθηκε και επαναιωρήθηκε σε διάλυμα που περιέχει Tris pH 8.0 400 mM, EDTA 60 mM, NaCl 150 mM και SDS 1%. Ακολούθησε η προσθήκη υπερχλωρικού νατρίου, προσθήκη χλωροφορμίου και κατακρήμνιση του DNA με αιθανόλη.

2. Ηλεκτροφόρηση DNA

Το DNA ηλεκτροφορήθηκε σε πήκτωμα αγαρόζης ή ακρυλαμιδίου. Η επιλογή του συγκεκριμένου πηκτώματος εξαρτάται αφενός από το μέγεθος του DNA που πρόκειται να ηλεκτροφορηθεί και αφετέρου από την διακριτική ικανότητα που προσδοκάται να επιτευχθεί. Συνήθως, όσο μεγαλύτερα είναι τα DNA τμήματα καθώς και όσο μεγαλύτερες είναι οι διαφορές μεγέθους των τμημάτων που πρόκειται να διαχωριστούν, τόσο καταλληλότερο είναι το πήκτωμα αγαρόζης. Αντίθετα, για μικρότερα τμήματα DNA και για μικρές διαφορές μεγέθους ανάμεσά τους, επιλέγεται το πήκτωμα ακρυλαμιδίου (19:1 μίγμα ακρυλαμιδίου/bis-ακρυλαμιδίου) .

Και οι δύο τύποι πηκτωμάτων σχηματίζονται σε υδατικό μέσο που περιέχει 1X TBE ρυθμιστικό διάλυμα (10.8 g/l Tris pH 8.0, 0.002 EDTA). Η πήξη των πηκτωμάτων επιτυγχάνεται για την μεν αγαρόζη με στερεοποίησή της με την πτώση θερμοκρασίας (προηγείται τήξη της με βρασμό) ενώ για το ακρυλαμίδιο με την προσθήκη 50 μl TEMED και 160 μl υπερθειϊκού αμμωνίου 25% για 65 ml διαλύματος ακρυλαμιδίου.

Το δείγμα DNA που πρόκειται να ηλεκτροφορηθεί, επαναιωρείται σε διάλυμα φόρτωσης που περιέχει 0.25% μπλε της βρωμοφαινόλης, 0.25% κυανό του ξυλενίου και 25% φυκόλη.

3. Χρώση του DNA με νιτρικό άργυρο

Η μέθοδος αυτή εφαρμόζεται όταν το DNA έχει ηλεκτροφορηθεί σε πήκτωμα ακρυλαμιδίου και χαρακτηρίζεται για την πολύ μεγάλη ευαισθησία της η οποία την κάνει να επιλέγεται αντικαθιστώντας την ραδιενέργεια. Στα μειονεκτήματά της ταξινομείται η μη ειδική χρώση του δίκλωνου DNA, δεδομένου ότι χρωματίζεται επίσης και το μονόκλωνο DNA, το RNA καθώς και πρωτεΐνες, θέτοντας σαν προϋπόθεση για την εφαρμογή της την ύπαρξη ιδιαίτερα καθαρού και ειδικού DNA. Συνήθως εφαρμόζεται κατά την ηλεκτροφόρηση προϊόντων PCR.

Αρχικά το πήκτωμα ακρυλαμιδίου τοποθετήθηκε υπό ανάδευση σε μονιμοποιητικό διάλυμα για 10 min που περιείχε 10% αιθανόλη και 0.5% οξικό οξύ. Ακολούθησε η προσθήκη διαλύματος νιτρικού αργύρου 0.1% (w/v) για 20 min σε ημίφως, πλύσιμο με νερό και η προσθήκη κατόπιν του διαλύματος εμφάνισης που

περιέχει 0.4 N NaOH και 0.15% (v/v) φορμαλδεΰδη. Η αντίδραση τερματίστηκε με την προσθήκη διαλύματος ανθρακικού νατρίου 0.75% (w/v).

4. Αλυσιδωτή αντίδραση με πολυμεράση (PCR)

4.1.Αρχή της μεθόδου

Η αλυσιδωτή αντίδραση με πολυμεράση (PCR) επινοήθηκε το 1985 από τον Mullis και τους συνεργάτες του [276] και έφερε πραγματική επανάσταση στην μοριακή βιολογία με εφαρμογές από την βασική έρευνα στην κλινική πράξη. Η μέθοδος αυτή επιτυγχάνει σε ελάχιστο χρόνο, που δεν υπερβαίνει τις 2-3 h την ειδική ενίσχυση με εκθετικό τρόπο, συγκεκριμένων αλληλουχιών DNA, ώστε να είναι δυνατή η μελέτη τους και ο περαιτέρω χειρισμός τους (Εικόνα 7).

Το υπόστρωμα DNA επωάζεται σε ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει την θερμοανθεκτική *Taq* DNA πολυμεράση, μίγμα δεσοξυριβονουκλεοτιδίων και το ζεύγος των εκκινητών (primers). Αρχικά γίνεται θερμική αποδιάταξη του DNA στους 95°C για 5 min και ακολουθούν 30-35 κύκλοι 95°C (αποδιάταξη), 55-60°C (υβριδισμός των εκκινητών) και 72°C (πολυμερισμός), διάρκειας περίπου 30 sec το κάθε βήμα. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται η εκθετική αύξηση του αριθμού των αντιγράφων του DNA σύμφωνα με την εξίσωση: $\boldsymbol{N=n(1+e)^{c}}$, όπου N = τελική ποσότητα του προϊόντος, n = αρχική ποσότητα του υποστρώματος, e = απόδοση της αντίδρασης και c = ***αριθμός*** των κύκλων του PCR.

Η τεράστια απόδοση της αντίδρασης κάνει δυνατή την ενίσχυση αλληλουχιών, ακόμα και όταν αυτές βρίσκονται σε ελάχιστο αριθμό αντιγράφων ή το DNA έχει υποστεί μια σχετική αποδιάταξη.

Η ειδικότητα της PCR αντίδρασης ως προς την αλληλουχία που πρόκειται να ενισχυθεί εξαρτάται από του εκκινητές. Στατιστικά, έχει βρεθεί ότι όταν μια αλληλουχία DNA έχει μήκος τουλάχιστον 20 bp, τότε είναι μοναδική στο γονιδίωμα. Κατά συνέπεια, για να επιτευχθεί ειδική ενίσχυση αλληλουχιών πρέπει οι εκκινητές να είναι τουλάχιστον 20-μερή. Πράγματι, αυτό είναι και το μέσο μήκος των εκκινητών στην συντριπτική πλειοψηφία των εφαρμογών, που τους δίνει μια τέτοια θερμοδυναμική σταθερότητα ώστε σε θερμοκρασία περίπου 55°C να αναδιατάσσονται.

Η επίτευξη ικανοποιητικής αντίδρασης πολυμερισμού τόσο ως προς την απόδοση, όσο και ως προς την ειδικότητα, εξαρτάται κατά κύριο λόγο από τους παρακάτω παράγοντες:

1) την επιλογή κατάλληλων εκκινητών

2)την συγκέντρωση ιόντων Mg που είναι απαραίτητος συμπαράγοντας για την δράση της πολυμεράσης

3)τον προσδιορισμό της ακριβούς θερμοκρασίας αναδιάταξης των εκκινητών

Με δεδομένο ζεύγος εκκινητών, συνήθως η επίτευξη κανονικών συνθηκών σε μια αντίδραση PCR, περιλαμβάνει πειράματα όπου σταδιακά μεταβάλλονται ανεξάρτητα μεταξύ τους η θερμοκρασία αναδιάταξης και η συγκέντρωση ιόντων Mg.

Για ποσοτικοποίηση των αποτελεσμάτων του PCR απαραίτητη προϋπόθεση είναι το να τερματισθεί η αντίδραση, ενώ ακόμα βρίσκεται στην εκθετική της φάση. Με τον τρόπο αυτό μπορεί να γίνει γραμμική αντιστοίχηση της τελικής ποσότητας προϊόντος στην αρχική ποσότητα υποστρώματος. Συνήθως επιτελούνται προκαταρκτικά πειράματα με διαδοχικές αραιώσεις αρχικού υποστρώματος (δημιουργία πρότυπης καμπύλης), ώστε να βρεθούν οι συνθήκες εκείνες όπου διατηρείται η γραμμική αυτή σχέση.Ακόμα περισσότερο αξιόπιστη είναι η συνενίσχυση με την αλληλουχία στόχο, σταθερής ποσότητας υποστρώματος στο οποίο οι θέσεις αναγνώρισης των εκκινητών ταυτίζονται με αυτή της αλληλουχίας-στόχου [277]. Με τον τρόπο αυτό επιτελείται συναγωνισμός ανάμεσα στις δύο αλληλουχίες που συνενισχύονται, οπότε η αφθονία των αρχικών αντιγράφων της αλληλουχίας στόχου εκφράζεται σαν ο λόγος της ως προς την ένταση της ζώνης που αντιστοιχεί στον συναγωνιστή.

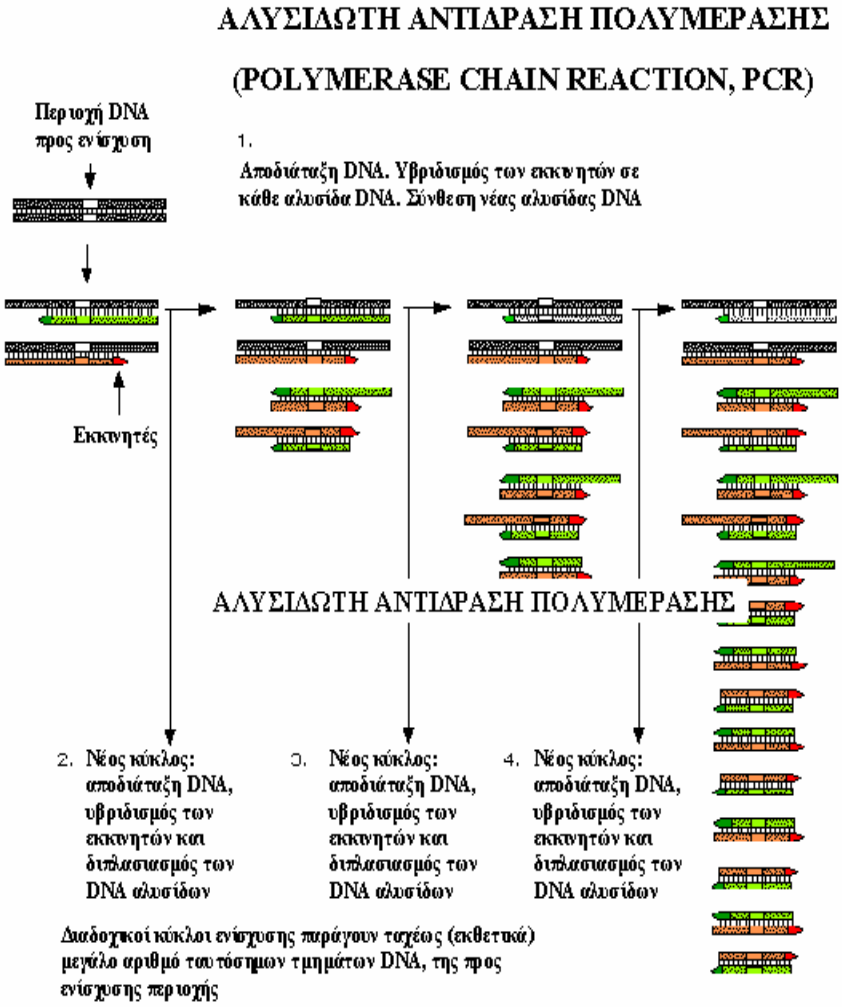
4.2 Ρυθμιστικά διαλύματα για την PCR

Για την PCR χρησιμοποιούνται διάφορα ρυθμιστικά διαλύματα που αφενός ρυθμίζουν την τιμή του pH και αφετέρου προμηθεύουν τους απαραίτητους συμπαράγοντες και τις σταθεροποιητικές ουσίες για την μέγιστη απόδοση της πολυμεράσης.

Στα πειράματα που περιγράφονται στην συνέχεια χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα ρυθμιστικά διαλύματα (10X):

Ρυθμιστικό διάλυμα Α: 670 mM Tris.HCl, pH 8.5; 166 mM θειϊκό αμμώνιο 67 mM χλωριούχο μαγνήσιο; 1.7 mg/ml BSA; 100 μM β-μερκαπτοαιθανόλη και 1% (w/v) Triton X-100)

Εικόνα 7



Σχηματική παράσταση της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης.

Ρυθμιστικό διάλυμα Β: 75mM Tris-HCl pH 9.0, 20 mM θειϊκό αμμώνιο, 0.01% (w/v) Tween 20, 2.5 mM θειϊκό μαγνήσιο,

Ρυθμιστικό διάλυμα C: 50 mM Tris HCl pH 8.3, 50 mM χλωριούχο κάλιο, 10 mM χλωριούχο μαγνήσιο, 10 mM διθειοθρεϊτόλη, 0.5 mM σπερμιδίνη

5. Ανάλυση απλοτύπου με δείκτες μικροδορυφορικού DNA

Η μέθοδος περιλαμβάνει την PCR ενίσχυση των πολυμορφικών αυτών περιοχών, την ηλεκτροφόρηση του προϊόντος σε πήκτωμα ακρυλαμιδίου 10% για 1000-2000 Vh και την χρώση με νιτρικό άργυρο. Λόγω της ιδιαίτερης φύσης των αλληλουχιών αυτών (επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες και πολυμορφισμός δηλαδή ετεροζυγωτία) επισημαίνονται διάφοροι παράγοντες, η προσοχή των οποίων επιβάλλεται για την επιτυχία της μεθόδου. Αρχικά απαιτείται η διατήρηση της αντίδρασης στην εκθετική της φάση, δεδομένου ότι πρόκειται για ημιποσοτική μέθοδο προσδιορισμού της σχετικής έντασης των δύο αλληλομόρφων. Επίσης, κατά την ηλεκτροφόρηση πρέπει να επιτυγχάνεται η μέγιστη διακριτική ικανότητα αφού συχνά τα αλληλόμορφα διαφέρουν σε μέγεθος μόλις δύο ζεύγη βάσεων.

6. Εκκινητές (primers)

Δέκα μικροδορυφορικοί δείκτες, που εντοπίζονται σε διάφορους χρωμοσωμικούς βραχίονες (Πίνακας 10,13), χρησιμοποιήθηκαν για να αποκαλύψουν ΜΑ ή/και ΑΕ. Αυτοί ήταν οι: THRA1, D17S579, D17S855, D17S250, ANK1, D9S59, D9S290, HXB, D8S133 και D8S137. Οι χρωμοσωμικές περιοχές που αξιολογήθηκαν ως προς την επίπτωση ΜΑ ή/και ΑΕ ήταν οι: 8p, 17q, 9p και 9q (Εικόνες 8-10). Η επιλογή των χρωμοσωμικών αυτών περιοχών βασίστηκε σε προηγούμενες μελέτες που αφορούσαν σε καρκίνο πνεύμονα [264,278], ή καλοήθεις πνευμονικές παθήσεις όπως η ΧΑΠ [255].

Τα ζεύγη εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τα παρακάτω:

- **THRA1**

  (sense) 5’-CTGCGCTTTGCACTATTGGG-3’

  (antisense) 5’-CGGGCAGCATAGCATTGCCT-3’

- **D17S579**

  (sense) 5’-AGTCCTGTAGACAAAACCTG-3’

  (antisense) 5’-CAGTTTCATACCAAGTTCCT-3’

- **D17S855**

  (sense) 5’-GGATGGCCTTTTAGAAAGTGG-3’

  (antisense) 5’-ACACAGACTTGTCCTACTGCC-3’

- **D17S250**

  (sense) 5’-GGAAGAATCAAATAGACAAT-3’

  (antisense) 5’-GCTGGCCATATATATATTTAAACC-3’

- **ANK1**

  (sense) 5’-ATTGCACCAGCATGTCCATA-3’

  (antisense) 5’-CTGCCTGGACTTAGAGCACC-3’

- **D9S59**

  (sense) 5’-AAGGGAATTCATCCCCTGCT-3’

  (antisense) 5’-TTACACTATACCAAGACTCC-3’

- **D9S290**

  (sense) 5’-GCATGCCTGCATCCAT-3’

  (antisense) 5’-CCAGCCACAGCAAACC-3’

- **D8S133**

  (sense) 5’-CAGGTGGGAAAACTGAGGGA-3’

  (antisense) 5’-AGCAACTGTCAACATATTGCTC-3’

- **D8S137**

(sense) 5'-AAATACCGAGACTCACACTATA-3'

(antisense) 5'-GCTAATCAGGGAATCACCCAA-3'

Για την ενίσχυση των γενετικών δεικτών χρησιμοποιήθηκαν εκκινητές που προμηθεύτηκαν από τις εταιρείες Research Genetics (USA) και Isogen (The Netherlands).

7. Αξιολόγηση αποτελεσμάτων

Στο ηλεκτροφορητικό μοντέλο των δεικτών μικροδορυφορικού DNA που ενισχύθηκαν, σαν ΜΑ καταγράφηκε κάθε μεταβολή στην κινητικότητα ενός ή και των δύο αλληλομόρφων (ή και η εμφάνιση πρόσθετων), του δείγματος DNA πτυέλων, σε σχέση με το αντίστοιχο DNA αίματος (φυσιολογικό). Η εμφάνιση επιπρόσθετων αλληλομόρφων εξηγείται ως αποτέλεσμα μεταλλάξεων σχετικών με το μήκος του μικροδορυφορικού DNA, που περιορίζεται μόνο σε έναν κυτταρικό υποπληθυσμό του παθολογικού ιστού, δημιουργώντας νέους κυτταρικούς κλώνους. Έτσι κατά την ανάλυση του μικροδορυφορικού DNA, όπως αυτό προκύπτει από την εκχύλισή του από τους ιστούς, μπορεί να παρατηρήσει κανείς αλληλόμορφα από τα προσβεβλημένα και μη προσβεβλημένα μικροδορυφορικά DNA. Τα gel πολυακρυλαμιδίου σαρώθηκαν, και η φωτεινότητα των ζωνών που αντιστοιχούσαν στα αλλήλια μικροδορυφορικού DNA ποσοτικοποιήθηκε χρησιμοποιώντας UVP σύστημα ανάλυσης εικόνων. Σαν ΑΕ θεωρήθηκε η μείωση της έντασης ενός αλληλόμορφου σε σχέση με το άλλο κατά 50% ή περισσότερο, όπως προέκυψε από τη σύγκριση DNA μεταξύ πτυέλων και αίματος. Η ανάλυση των θετικών για ΜΑ/ΑΕ επαναλήφθηκε δύο φορές με επιτυχή αναπαραγωγή των αποτελεσμάτων.

8. Υλικά και εταιρείες προέλευσης

1,2-διυδροξυ-αιθυλενο-δισ-ακρυλαμίδιο - BDH
Αγαρ-Difco
Αγαρόζη - Gibco BRL

Αιθανόλη - BDH

Αιθυλενο-διαμινο-τετραοξικό οξύ - BDH

Ακρυλαμίδιο - BDH

Ανθρακικό νάτριο – Sigma

Βορικό οξύ - BDH

Βρωμιούχο αιθίδιο - Sigma

Γλυκερόλη - Gibco BRL

Διαίθυλ-πυροκαρβονικό οξύ - BDH

Διθειοθρεϊτόλη - Sigma

Διμεθυλσουλφοξείδιο - BDH

Δεσοξυριβονουκλεοτίδια - Boehringer Manheim

Ενζυμα περιορισμού - New England Biolabs

Θειϊκό αμμώνιο - BDH

Ισοπροπανόλη - BDH

Κιτρικό νάτριο - BDH

Κυανό της βρωμοφαινόλης - Sigma

Λυσοζύμη - Sigma

Μεθανόλη – Fluka

Μεμβράνες διαπίδυσης πόρων διαμέτρου 10 mm - Sigma

MOPS - Sigma

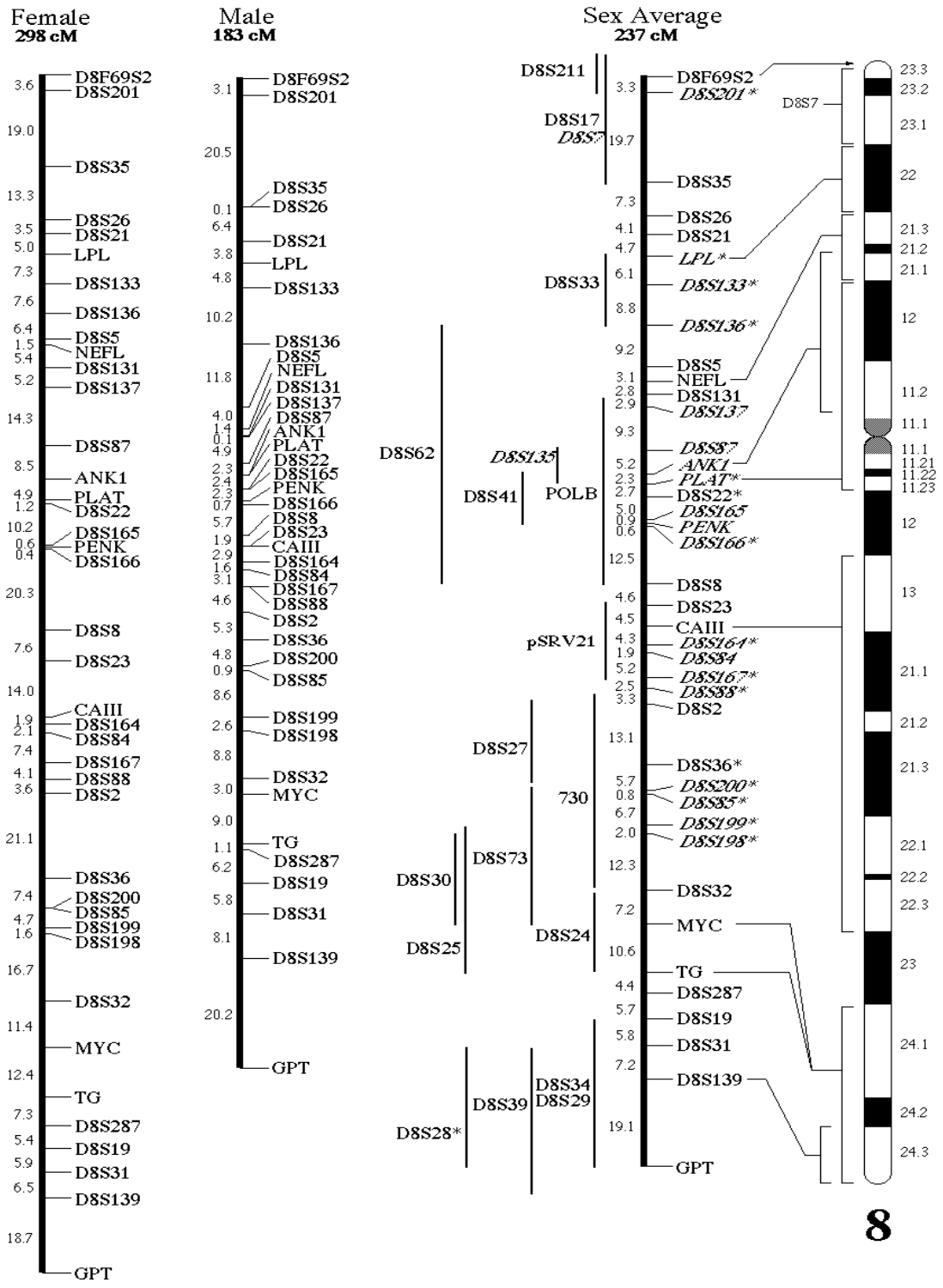
Νιτρικός άργυρος - Sigma

Οξεικό αμμώνιο - Sigma

Οξεικό κάλιο - Sigma

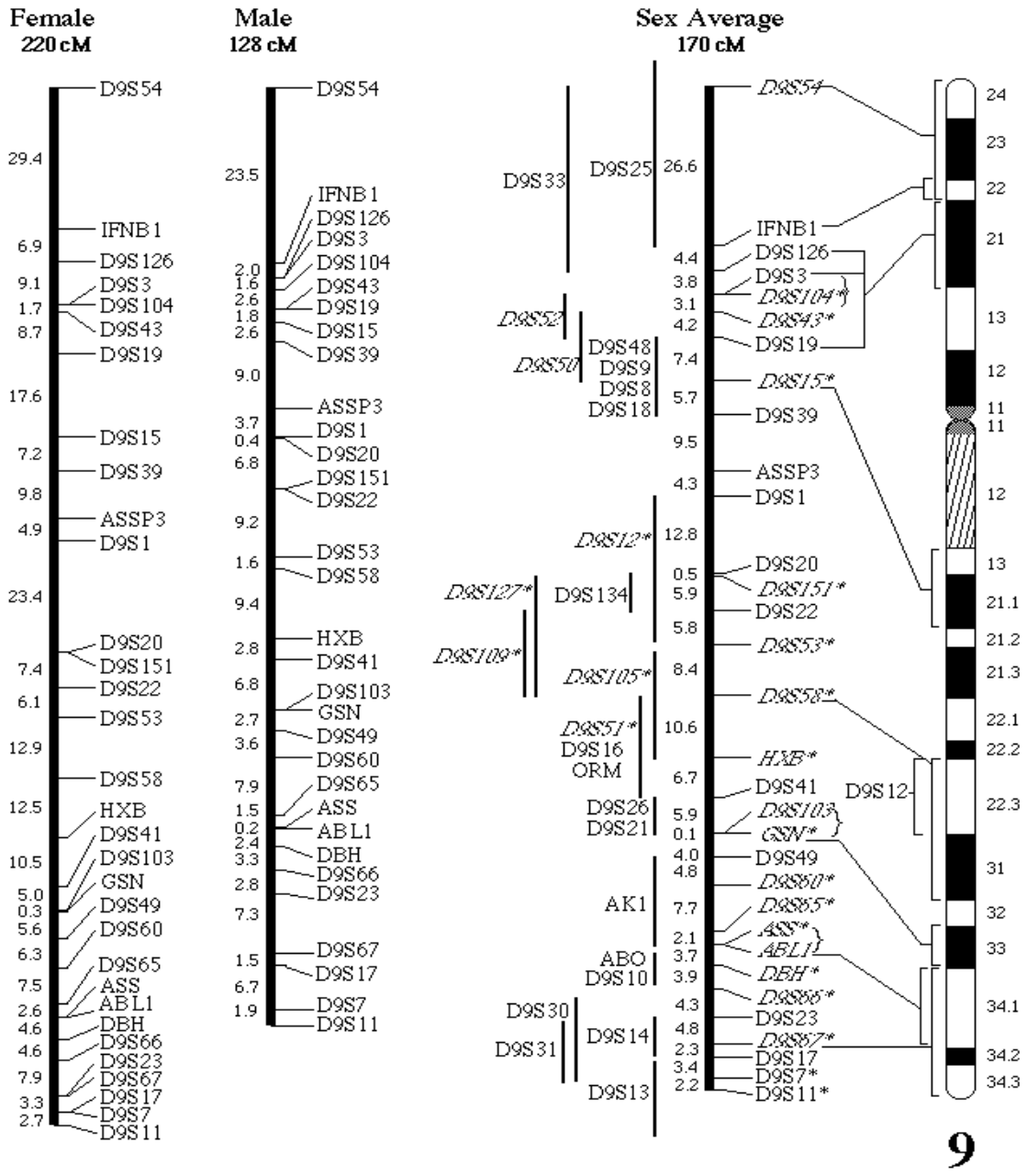
Οξεικό νάτριο - Sigma

Εικόνα 8



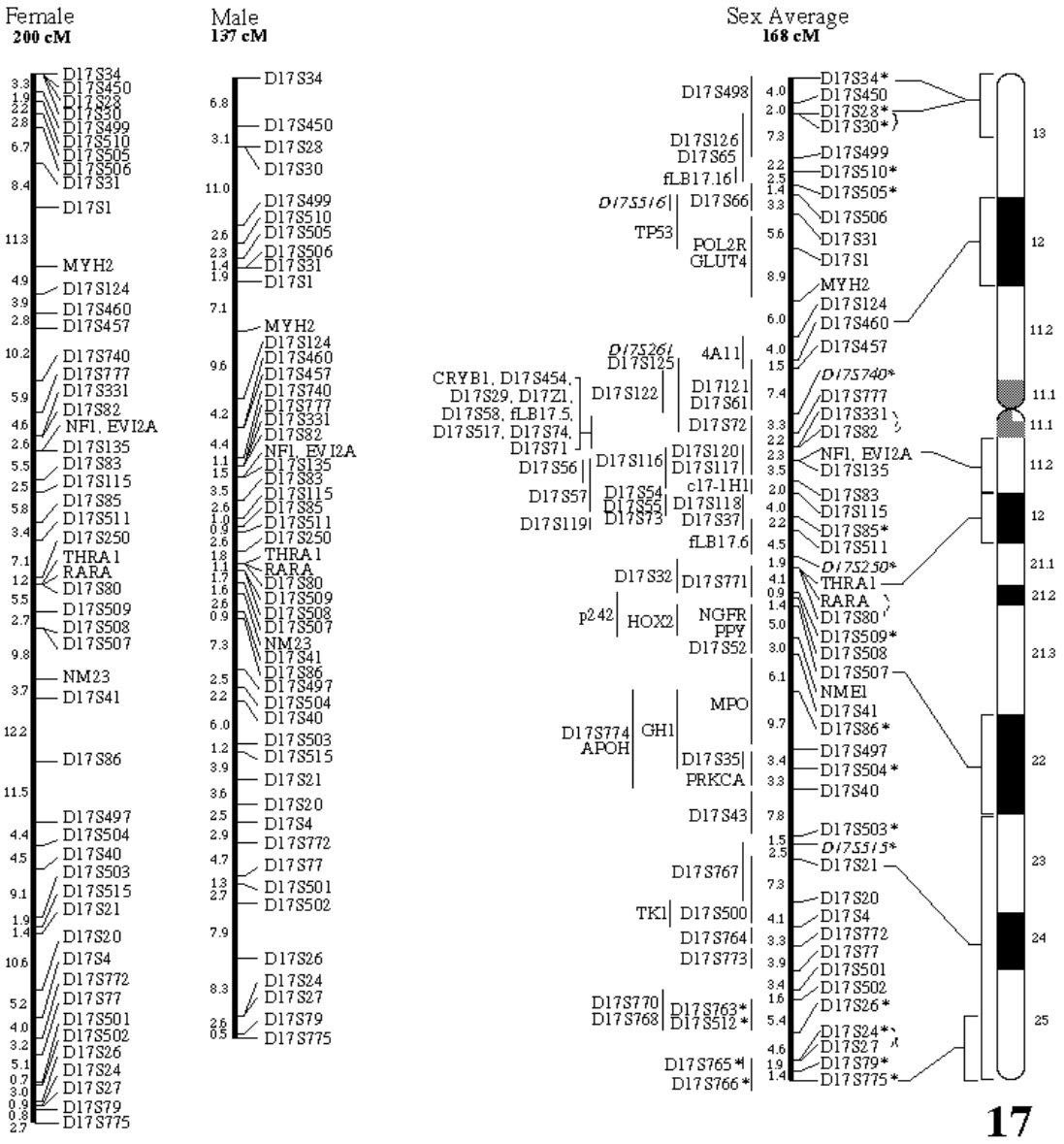
Χάρτης του χρωμοσώματος 8

Εικόνα 9



Χάρτης του χρωμοσώματος 9

Εικόνα 10



Χάρτης του χρωμοσώματος 17

Οξεικό οξύ - BDH

Πρωτεϊνάση Κ - Sigma

Ριβονουκλεάση Α - Sigma

RNAzol B-China Biotex

SDS - Sigma

SuperScript II RT, Life Technologies

Taq πολυμεράση - Gibco BRL

TEMED - Sigma

Tris base - BDH

Triton-X-100 - Sigma

Trizol - Gibco BRL

Tween-20 - Sigma

Υδροξείδιο του νατρίου - Sigma

Υδροχλωρικό οξύ - BDH

Υπερθειϊκό αμμώνιο - Gibco BRL

Υπεροξείδιο του υδρογόνου - BDH

Φαινόλη - BDH

Φορμαλδεΰδη - BDH

Φορμαμίδιο - BDH

Χλωριούχο καίσιο - Sigma

Χλωριούχο κάλιο - Sigma

Χλωριούχο λίθιο - Sigma

Χλωριούχο Μαγγάνιο - Sigma

Χλωριούχο μαγνήσιο - Sigma

Χλωριούχο νάτριο - Sigma

Χλωροφόρμιο – Fluka

9. Στατιστική ανάλυση

Οι ποσοτικές παρατηρήσεις των στοιχείων των παραμέτρων της αναπνευστικής λειτουργίας αναλύθηκαν με την δοκιμασία student t-test και Mann-Whitney. Οι

συσχετίσεις με την διάρκεια και τη βαρύτητα νόσου έγιναν με μοντέλα πολλαπλής γραμμικής ή λογαριθμικής αλληλοσυσχέτισης. Τέλος, οι πίνακες των ποιοτικών παρατηρήσεων αναλύθηκαν με το πρόγγραμα Excel.

Κάθε τιμή του $p < 0.05$, θεωρήθηκε ως στατιστικά σημαντική.

ΙΙΙ. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Αλλοιώσεις μικροδορυφορικού DNA στη Σαρκοείδωση

Η ηλεκτροφορητική εικόνα δειγμάτων πτυέλων συγκρίθηκε με αυτήν του αντίστοιχου περιφερικού αίματος χρησιμοποιώντας 10 πολυμορφικούς δείκτες μικροδορυφορικού DNA, για 30 ασθενείς με σαρκοείδωση (Πίνακας 10).

- Βρέθηκε ότι 14 (47%) των ασθενών με σαρκοείδωση εμφάνισαν γενετικές αποκλίσεις, είτε ΜΑ είτε ΑΕ.
- Έξι ασθενείς (20%) εμφάνισαν αστάθεια του μικροδορυφορικού DNA σε τουλάχιστον έναν δείκτη. Ο δείκτης που εμφάνισε συχνότερα ΜΑ ήταν ο ANK1 (33%), στο χρωμόσωμα 9p. Σε ένα από τα δείγματα εμφανίστηκε ΜΑ σε δύο δείκτες μικροδορυφορικού DNA.
- Εννέα (30%) δείγματα εμφάνισαν ΑΕ σε τουλάχιστον έναν δείκτη. Ο πιο συχνός δείκτης ΑΕ ήταν ο THRA1 (33%) στο χρωμόσωμα 17q. Παρόμοια υψηλή ΑΕ (33%) βρέθηκε επίσης με το δείκτη ANK1 στο χρωμόσωμα 9p. Τέσσερις (13%) ασθενείς εμφάνισαν ΑΕ σε περισσότερους από έναν δείκτες. Συχνές περιοχές στις οποίες βρέθηκε απώλεια αλληλομόρφων ήταν οι: 9q (16%) και 17q (16%).
- Ένας από τους ασθενείς εμφάνισε πλήρη απάλειψη του χρωμοσωμικού σκέλους 17q 11.2-q21, πιθανόν σαν αποτέλεσμα μιτωτικού ανασυνδυασμού.

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας συνοψίζονται στον Πίνακα 10.
Αντιπροσωπευτικά παραδείγματα δειγμάτων με ΜΑ και ΑΕ φαίνονται στις Εικόνες 11 και 12 αντιστοίχως.

Οι δύο υποομάδες των σαρκοειδικών ασθενών, θετικοί και αρνητικοί για ΜΑ ή/και ΑΕ, συγκρίθηκαν μεταξύ τους. Από την σύγκριση δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, όσον αφορά στη μέση ηλικία, τη χρονική διάρκεια της νόσου, τις καπνιστικές συνήθειες, τα αέρια αίματος και τις σπιρομετρικές παραμέτρους των ασθενών (Πίνακας 11).

Πίνακας 10

Απώλεια ετεροζυγωτίας και μικροδορυφορική αστάθεια στη σαρκοείδωση

Ασθενής No	THRA 1 17q12	D17 S 855 17q21	D17 S 579 17q21	D17 S 250 17q11.2	ANK 1 8p21.1-p11.2	D9 S 59 9q31-q33	D9 S 290 9q32-q34.1	D8 S 133 8p21.3-q11.1	D8 S 137 8p21.3-q11.1	HXB 9q32-q34
1	E	E	E	E	E	E	-	E	E	E
2	E	-	-	E	-	E	E	E	E	E
3	E	-	E	E	-	E	E	E	E	E
4	E	E	E	E	E	MA	E	E	E	E
5	E	E	E	E	O	E	E	-	E	E
6	E	-	-	E	E	E	E	E	E	E
7	E	-	-	E	E	E	E	E	E	O
8	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
9	E	E	E	O	E	E	AE	E	E	E
10	E	E	E	E	E	E	E	E	E	AE
11	E	-	-	-	-	E	AE	MA	E	-
12	E	E	E	E	O	E	E	E	E	E
13	E	E	E	E	MA	O	E	E	E	E
14	E	E	E	E	E	E	E	-	E	E
15	E	MA	E	E	E	O	E	E	E	E
16	MA	E	E	-	MA	E	E	E	E	E
17	E	E	E	-	E	O	E	E	E	O
18	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
19	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
20	E	E	E	E	E	E	E	-	-	E
21	E	E	AE	E	AE	E	E	E	E	E
22	E	E	E	E	E	AE	E	E	AE	E
23	E	E	E	E	E	E	E	E	E	-
24	E	E	E	E	AE	O	E	E	E	E
25	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
26	E	E	E	E	E	E	E	E	MA	E
27	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
28	AE	E	E	E	E	E	E	E	O	E
29	AE	AE	AE	AE	E	AE	E	E	E	E
30	AE	E	E	E	AE	E	E	E	E	E

Συντμήσεις: ΑΕ: Απώλεια Ετεροζυγωτίας,

ΜΑ: Μικροδορυφορική Αστάθεια,

Ε: Ετερόζυγο,

Ο: Ομόζυγο,

-: δεν υπάρχει αποτέλεσμα

Πίνακας 11

Συσχέτιση κλινικών και εργαστηριακών δεδομένων, σε σαρκοειδικούς ασθενείς, με / χωρίς Μικροδορυφορική Αστάθεια (ΜΑ), καθώς και με / χωρίς Απώλεια Ετεροζυγωτίας (ΑΕ) (μέσες τιμές ±SD)

	Σαρκοείδωση		
	ΜΑ, ΑΕ Θετικοί	**ΜΑ, ΑΕ Αρνητικοί**	**Στατιστικά σημαντικό**
Αριθμός	14	16	-
Ηλικία (έτη)	53 ±6.1	54 ±8	ΜΣΣ
Κάπνισμα (πακέτα/έτη)	6.1±7	5.9±8	ΜΣΣ
Διάρκεια νόσου (έτη)	4.7 ± 5.1	4.4 ± 4.0	ΜΣΣ
FEV_1 (% προβλ.)	75.4 ± 4.6	73.4 ± 5.4	ΜΣΣ
FVC (% προβλ.)	89.8 ± 5.7	88.2 ± 6.6	ΜΣΣ
FEV_1/FVC (%)	82 ± 5.8	80.4 ± 7.6	ΜΣΣ
PaO_2 (mm Hg)	80.0 ± 6.9	79.6 ± 8.2	ΜΣΣ
$PaCO_2$ (mm Hg)	38 ± 12.1	39.8 ± 9.9	ΜΣΣ
pH	7.39 ± 0.06	7.39 ± 0.04	ΜΣΣ

Συντμήσεις: ΜΣΣ= Μη Στατιστικά Σημαντικό

Εικόνα 11

Αντιπροσωπευτικές ηλεκτροφορητικές εικόνες από ασθενείς με σαρκοείδωση, με μικροδορυφορική αστάθεια.
Τα βέλη παρουσιάζουν τις μεταβολές στην κινητικότητα των αλληλίων.
(Οι αριθμοί πάνω από το γενετικό δείκτη αντιστοιχούν στον ασθενή).

N= φυσιολογικό DNA αίματος (Normal), S= πτυέλων DNA (Sputum)

Εικόνα 12

Αντιπροσωπευτικές ηλεκτροφορητικές εικόνες από ασθενείς με σαρκοείδωση, με απώλεια ετεροζυγωτίας.
Τα βέλη παρουσιάζουν την μείωση στη ένταση των αλληλίων.
(Οι αριθμοί πάνω από το γενετικό δείκτη αντιστοιχούν στον ασθενή).

N= φυσιολογικό DNA αίματος (Normal), S= DNA πτυέλων (Sputum)

1.α. Ειδικός έλεγχος για το δείγμα με χρωμοσωμική απάλειψη

Το δείγμα από τον ασθενή με τον κωδικό αριθμό 29, παρουσίασε, πλήρη **απάλειψη του χρωμοσωμικού σκέλους 17q 11.2-q21**.
Έτσι εκτός από τον έλεγχο στις περιοχές 8p, 9p, 9q και 17q, θεωρήσαμε ενδιαφέρον να ελέγξουμε το δείγμα αυτό με επιπλέον 22 επιπλέον δείκτες που βρίσκονται σε εγγύτητα με τα παρακάτω γονίδια, για πιθανές αλλοιώσεις: το h*MSH2* στο χρωμόσωμα 2p, το h*MSH1* στο χρωμόσωμα 3q, το *p16* στο χρωμόσωμα 9p, καθώς και τα *p53* και *BRCA1* στο χρωμόσωμα 17q and 17p, αντίστοιχα.

Τα συνοπτικά αποτελέσματα δίνονται στον Πίνακα 12, ενώ αντιπροσωπευτικά παραδείγματα δειγμάτων με ΑΕ, από το δείγμα αυτό, φαίνονται στην Εικόνα 13.

Είναι ενδοιαφέρον να σημειωθεί ότι παρά τις εκτεταμένες γενετικές αλλοιώσεις, ο ασθενής αυτός με σαρκοείδωση, είχε σχετικά ήπια νόσο, με καλή ως τώρα πορεία και με κλινικές παραμέτρους κοντά στον μέσο όρο των υπόλοιπων ασθενών.

Πίνακας 12. Αποτελέσματα ΑΕ για το δείγμα που παρουσίασε χρωμοσωμική απάλειψη

Χρωμοσωμ. βραχίονας	**Δείκτης**		**I**	**D**	**D**	**D**	**D**	**D**	**D**	**D**
			2S133	**2S119**	**2S123**	**2S147**	**2S160**	**2S171**	**2S177**	**2S337**
	2p		2	2	2	2	2	2	2	2
			p13-q21	p16	p16	p13.3	p13-q14	p24-p21	p16	p15
		Θέση	A	E	A	E	E	E	A	E
		Αποτέλ.	E		E				E	

Χρωμοσωμ. βραχίονας	**Δείκτης**		**D**	**D**	**D3S1**	**D3S1**
			3S1260	**3S1270**	**298**	**611**
	3p		3p	3	3p24.	3p24.
			24.2-p22	pter-p25	2-p22	2-p22
		Θέση	O	E	E	E
		Αποτέλ.				

Χρωμοσωμ. βραχίονας				
		ANK 1	**D8S 133**	**D8S137**
8p	**Δείκτης**	8p21.1-p11.2	8p21.3-q11.1	8p21.3-q11.1
	Θέση	E	E	E
	Αποτέλ.			

Χρωμοσωμ. βραχίονας							
		D9S50	**D9S161**	**D9S171**	**D9S FNA**	**D9S259**	**D9S270**
9p	**Δείκτης**	9p21	9p21	9p21	9p22	9p259	9p21
	Θέση	E	A	A	[illegible]	E	O
	Αποτέλ.		E	E	E		

Συντμήσεις:

ΑΕ: Απώλεια Ετεροζυγωτίας,

Ε: Ετερόζυγο,

Ο: Ομόζυγο

Χρωμοσωμ.βραχίονας	**9q**	**Δεί κτης**	**D9 S59** 9q31-q33	**D9 S290** 9q32-q34	**HXB** 9q34
		Θέση	AE	E	E
		Αποτέλ			

Χρωμοσωμ. βραχίονας	**17p**	**Δεί κτης**	**D 17S515** 17pter-qter	**D 17S379** 17p13.3	**T P53** 17p13.1	**D1 7S695** 17p ter-qter
		Θέση	E	E	E	E
		Αποτέλ.				

Χρωμοσωμ. Βραχίονας	**17q**	**Δεί κτης**	***THRA 1*** 17q12	**D17S855** 17q21	**D17S579** 17q21	**D17S250** 17q11.2
		Θέση	AE	AE	AE	AE
		Αποτέλ.				

Εικόνα 13

Αντιπροσωπευτικές ηλεκτροφορητικές εικόνες από το δείγμα που παρουσίασε χρωμοσωμική απάλειψη, με απώλεια ετεροζυγωτίας.

Τα βέλη παρουσιάζουν την μείωση στη ένταση των αλληλίων.

N= φυσιολογικό DNA αίματος (Normal), S= DNA πτυέλων (Sputum)

2. Αλλοιώσεις μικροδορυφορικού DNA στην Ιδιοπαθή Πνευμονική Ίνωση

Η ηλεκτροφορητική εικόνα δειγμάτων πτυέλων συγκρίθηκε με αυτήν του αντίστοιχου περιφερικού αίματος χρησιμοποιώντας 10 πολυμορφικούς δείκτες μικροδορυφορικού DNA, για 26 ασθενείς με Ιδιοπαθή Πνευμονική Ίνωση (Πίνακας 13).

- Βρέθηκε ότι 13 (50%) των ασθενών με σαρκοείδωση εμφάνισαν γενετικές αποκλίσεις, είτε MA είτε AE.
- Πέντε (19%) εμφάνισαν αστάθεια του μικροδορυφορικού DNA σε τουλάχιστον έναν δείκτη. Ο δείκτης που εμφάνισε συχνότερα MA ήταν ο THRA1 και ο D8S133, οι οποίοι παρουσίασαν MA σε 2 από τα 26 (8%) και 2 από τα 24 (8%) δείγματα που ελέγχθηκαν, στις χρωμοσωμικές θέσεις 17q12 και 8p21.3-q11.1, αντίστοιχα.
- Δέκα (39%) δείγματα εμφάνισαν AE σε τουλάχιστον έναν δείκτη. Ο πιο συχνός δείκτης AE ήταν ο D8S133, ο οποίος εμφάνισε AE σε 4 από τα 24 (16%) δείγματα που ελέγχθηκαν, στη χρωμοσωμική θέση 8p21.3-q11.1, και ο ANK1 ο οποίος εμφάνισε AE σε 3 από τα 26 (12%) δείγματα που ελέγχθηκαν, στη χρωμοσωμική θέση 9p21.1-p11.2.
- Τρεις (12%) εμφάνισαν AE σε περισσότερους από έναν δείκτες.
- Δύο ασθενείς (8%) παρουσίασαν τόσο MA όσο και AE.

Τα αποτελέσματα της μελέτης μας συνοψίζονται στον Πίνακα 13.

Αντιπροσωπευτικά παραδείγματα δειγμάτων με MA και AE φαίνονται στις Εικόνες 14 και 15 αντιστοίχως.

Οι δύο υποομάδες των ασθενών με ΙΠΙ, θετικοί και αρνητικοί για MA ή/και AE, συγκρίθηκαν μεταξύ τους. Από την σύγκριση δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, όσον αφορά στη μέση ηλικία, τη χρονική διάρκεια της νόσου, τις καπνιστικές συνήθειες, τα αέρια αίματος και τις σπιρομετρικές παραμέτρους των ασθενών.

Πίνακας 13

Απώλεια ετεροζυγωτίας και μικροδορυφορική αστάθεια στην Ιδιοπαθή Πνευμονική Ίνωση

Ασθενής No	THRA 1 17q12	D17 S 855 17q21	D17 S 579 17q21	D17 S 250 17q11.2	ANK 1 9p21.1-p11.2	D9 S 59 9q31-q33	D9 S 290 9q32-q34.1	D8 S 133 8p21.3-q11.1	D8 S 137 8p21.3-q11.1	HXE 9q32-q
1	E	E	E	E	E	E	-	E	E	E
2	E	E	E	E	O	E	E	E	E	-
3	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
4	E	E	E	E	AE	E	E	O	E	E
5	E	E	E	E	E	E	E	AE	E	E
6	E	E	E	E	E	E	E	O	E	O
7	MA	E	E	E	E	E	E	E	E	E
8	E	E	-	E	E	E	E	-	E	E
9	E	E	E	E	E	E	E	E	E	AE
10	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
11	E	-	O	E	E	E	E	E	E	E
12	E	-	E	E	E	E	E	E	E	-
13	MA	E	E	E	E	E	E	AE	AE	E
14	E	E	E	-	E	E	-	MA	E	E
15	E	E	E	E	E	E	E	O	AE	E
16	E	E	E	E	AE	E	-	AE	E	-
17	E	E	AE	E	E	AE	E	E	E	E
18	E	E	E	E	E	E	E	E	E	-
19	AE	E	E	E	E	E	E	-	E	-
20	E	E	-	O	E	O	E	E	E	E
21	E	N	E	E	E	E	E	E	O	E
22	E	N	O	E	AE	E	E	E	E	-
23	E	E	E	E	E	O	O	O	E	O
24	N	E	E	O	E	O	E	MA	O	E
25	N	N	E	E	O	E	E	AE	MA	E
26	E	N	E	-	E	E	E	E	E	E

Συντμήσεις: ΑΕ: Απώλεια Ετεροζυγωτίας,

ΜΑ: Μικροδορυφορική Αστάθεια,

Ε: Ετερόζυγο,

Ο: Ομόζυγο,

-: δεν υπάρχει αποτέλεσμα

Εικόνα 14

Αντιπροσωπευτικές ηλεκτροφορητικές εικόνες από ασθενείς με ΙΠΙ, με μικροδορυφορική αστάθεια.
Τα βέλη παρουσιάζουν τις μεταβολές στην κινητικότητα των αλληλίων.
(Οι αριθμοί πάνω από το γενετικό δείκτη αντιστοιχούν στον ασθενή).

N= φυσιολογικό DNA αίματος (Normal), S= πτυέλων DNA (Sputum)

Εικόνα 15

Αντιπροσωπευτικές ηλεκτροφορητικές εικόνες από ασθενείς με ΙΠΙ, με απώλεια ετεροζυγωτίας.
Τα βέλη παρουσιάζουν την μείωση στη ένταση των αλληλίων.
(Οι αριθμοί πάνω από το γενετικό δείκτη αντιστοιχούν στον ασθενή).

N= φυσιολογικό DNA αίματος (Normal), S= DNA πτυέλων (Sputum)

IV. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

1. Σαρκοείδωση

Στην εργασία αυτή μελετήσαμε τις γενετικές αλλαγές σε επίπεδο μικροδορυφορικού DNA σε 30 ασθενείς με σαρκοείδωση. Ανιχνεύσαμε δύο τύπους γενετικών αλλοιώσεων, την ΜΑ που αντανακλά αυξημένο ρυθμό μεταλλαξογένεσης, που εντοπίστηκε στο 20% των δειγμάτων και την ΑΕ, που είναι ενδεικτική της ανεύρεσης της θέσης πιθανών ογκοκατασταλτικών γονιδίων, που εντοπίσθηκε στο 30% των δειγμάτων.

Γενετικές αποκλίσεις όπως η ΜΑ έχουν ανιχνευθεί σε όλους σχεδόν τους ανθρώπινους όγκους [233-235,257,259,273,279-288] καθώς και σε καλοήθεις διαταραχές, όπως στην αθηροσκλήρυνση [248-250] και στο πτερύγιο του οφθαλμού [251,252], γεγονός που υποδηλώνει ότι αυτές οι ασθένειες έχουν παρόμοιο μηχανισμό με τις νεοπλασίες και ίσως θα μπορούσαν να θεωρηθούν ως καλοήθεις νεοπλασματικές καταστάσεις.

Η σαρκοείδωση, θεωρείται καλοήθης βλάβη, παρά ταύτα υπάρχουν δεδομένα που δηλώνουν αυξημένη προδιάθεση σε αυτούς τους ασθενείς για ανάπτυξη καρκίνου του πνεύμονα [70-80], όσο και άλλων συστημάτων [81-83]. (Εδώ πάντως θα πρέπει να σχολιαστεί ότι η παρατήρηση αυτή έχει και τον αντίλογό της [84,85]).

Η επαναλαμβανόμενη μονάδα όλων των δεικτών μικροδορυφορικού DNA που χρησιμοποιήσαμε σ' αυτή τη μελέτη είναι ένα δινουκλεοτίδιο. Πρόσφατα έχει δειχθεί ότι η αναλογία αυθορμήτων αλλαγών σε βραχείς τυχαίες αλληλουχίες 6 βάσεων, είναι 3 φορές υψηλότερη από εκείνη που συμβαίνει σε αλληλουχίες 2 βάσεων [286]. Επιπλέον, η αναλογία αυθορμήτων μεταλλάξεων που συμβαίνει σε τρι- και τετρανουκλεοτιδικές αλληλουχίες μικροδορυφορικου DNA μπορεί να είναι 50πλάσια από αυτήν των δινουκλεοτιδικών μικροδορυφορικών DNA [289,290]. Για τους παραπάνω λόγους τα δύο συστήματα μικροδορυφορικού DNA (δινουκλεοτιδικά έναντι τρι- και τετρανουκλεοτιδικά) δεν είναι άμεσα συγκρίσιμα, και τα δινουκλεοτίδια φαίνεται να αποτελούν πιο χρήσιμους δείκτες ελέγχου της γενετικής αστάθειας.

Στη μελέτη μας ωστόσο χρησιμοποιώντας δινουκλεοτίδια ενέχεται ο φόβος της υποεκτίμησης της πραγματικής συχνότητας της γονιδιακής αστάθειας. Παρά το

ότι ο αριθμός των δειγμάτων της μελέτης είναι αρκετά μικρός, ανιχνεύσαμε μία αξιοσημείωτη επίπτωση της ΜΑ. Τα πτύελα εν τούτοις περιέχουν αρκετή ποσότητα φυσιολογικού DNA, που μπορεί να μειώσει το σήμα του μεταλλαγμένου αλληλομόρφου και να δώσει ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα [255], οδηγώντας και πάλι σε υποεκτίμηση των αποτελεσμάτων. Εξετάζοντας τα δείγματα με επιπλέον δείκτες, θα μπορούσαν να αυξηθούν τα ποσοστά των αποτελεσμάτων μας.

Στη μελέτη αυτή ανιχνεύσαμε την παρουσία ενός άλλου βασικού δείκτη κακοήθειας, την επίπτωση της ΑΕ στα κύτταρα πτυέλων των σαρκοειδικών. Η ΑΕ παρατηρείται σε νεοπλασματικά κύτταρα ή σε προκαρκινικά κύτταρα όπου και σημαίνει εξέλιξη προς κακοήθεια. Το γεγονός αυτό στηρίζει την υπόθεση ότι μπορεί να υπάρχουν μεταλλαγμένα κύτταρα στο σαρκοειδικό ιστό. Σύμφωνα με τον Knudson και τη θεωρία «των δύο χτυπημάτων» [222] το φαινόμενο της ΑΕ σχετίζεται με την παρουσία ΟΚΓ που αφορούν στη νόσο. Σημαντική επίπτωση της ΑΕ βρέθηκε στο 17q 11.2-q21 γεγονός που δείχνει ότι σημαντικά ΟΚΓ για την ανάπτυξη της σαρκοείδωσης βρίσκονται σ' αυτήν την χρωμοσωμική περιοχή. Απαλείψεις στο σκέλος 17q συχνά συναντάμε σε πλήθος νεοπλασιών. Μεταξύ αυτών είναι οι όγκοι των ωοθηκών (με τους δείκτες THRA1και D17S75) [287], όγκοι οισοφάγου, μεταξύ των δεικτών C117-316 και C117-710 [291], όγκοι του λάρυγγα μεταξύ των D17S250 και D17S579 [278], μη μικροκυτταρικούς καρκίνους πνεύμονα [264] καθώς και τον καρκίνο του προστάτη [292]. Όλοι σχετίζονται με διαγραφή στο 17q κοντά στην περιοχή του γονιδίου BRCA1. Το γεγονός ότι υπάρχει ευρύ φάσμα των καρκίνων του ανθρώπου που υπόκεινται σε αλλαγές του πιθανού ΟΚΓ στο 17q, δείχνει ότι είναι σημαντικός ο ρόλος των γονιδίων αυτών στην ανάπτυξη νεοπλασίας. Λεπτομερής χαρτογράφηση της περιοχής απαιτείται προκειμένου να επισημανθεί η ακριβής περιοχή εντόπισης των πιθανών ΟΚΓ και του ρόλου τους στην παθογένεια της νόσου.

Επιδημιολογικές και κλινικές μελέτες δείχνουν ότι υπάρχει κληρονομική προδιάθεση στην παθογένεια της σαρκοείδωσης [14,22,65,69,86-90]. Η οικογενής μορφή της νόσου [22,69,90-116] είχε παρατηρηθεί ήδη από τη δεκαετία του 1920 και μέχρι σήμερα έχουν παγκοσμίως καταγραφεί 400 οικογένειες. Οι μελέτες αυτές υποστηρίζουν την άποψη ότι γενετικοί παράγοντες μπορεί να προδιαθέτουν σε αυτή τη διαταραχή ή να ευθύνονται για την κλινική έκφραση της νόσου.

Το γεγονός ότι μονοζυγώτες δίδυμοι, εμφανίζουν μεγαλύτερη πιθανότητα από ότι διζυγώτες, να έχουν και οι δύο τη νόσο, υποστηρίζει ισχυρά τη γενετική

συνιστώσα της νόσου [97]. Η απουσία ενός συγκεκριμένου γενετικού παράγοντα υποδηλώνει ότι η ευαισθησία προς τη σαρκοείδωση είναι μάλλον πολυγονιδιακή και σχετίζεται πιθανόν και με περιβαλλοντολογικούς παράγοντες [22].

Το κάπνισμα εντούτοις δεν φαίνεται να σχετίζεται με τις παραπάνω γενετικές διαταραχές αφού οι καπνιστές μεταξύ των σαρκοειδικών δεν φαίνεται να εκφράζουν ΜΑ ή ΑΕ σε μεγαλύτερο ποσοστό από τους μη καπνιστές. Επιπλέον δεδομένα που στηρίζουν αυτή την παρατήρηση, δίνονται από προηγούμενη μελέτη, όπου διαπιστώσαμε ότι ΜΑ ανιχνεύθηκε σε ασθενείς με ΧΑΠ αλλά όχι σε αντίστοιχο πληθυσμό καπνιστών χωρίς ΧΑΠ [255].

Με σκοπό να εκτιμήσουμε εάν η ΜΑ ή ΑΕ αποτελούν δείκτες βαρύτητας της σαρκοείδωσης συγκρίναμε τις δύο κατηγορίες σαρκοειδικών: ΜΑ ή/ και ΑΕ θετικούς και ΜΑ/ΑΕ αρνητικούς. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο κατηγοριών όσον αφορά σε παραμέτρους όπως: διάρκεια της νόσου, καπνιστικές συνήθειες, αέρια αίματος, έλεγχος πνευμονικής λειτουργίας (Πίνακας 11). Αυτό δείχνει ότι η ΜΑ και ΑΕ δεν σχετίζονται με τη βαρύτητα της νόσου.

Η ακριβής σημασία αυτών των ευρημάτων παραμένει να διευκρινισθεί διότι λείπει η σαφής πληροφορία της γενετικής βάσης της νόσου. Παρά ταύτα υποθέτουμε ότι το σχετικά υψηλό ποσοστό μετάλλαξης στη σαρκοείδωση, όπως αυτό δηλώνεται από την αστάθεια των μικροδορυφορικών αλληλουχιών, υποδηλώνει μια αποσταθεροποίηση του γονιδιώματος που μπορεί να επηρεάζει άλλα γονίδια, οδηγώντας σε απορύθμιση των κυττάρων που περιέχουν τις μεταλλάξεις.

Από τα αποτελέσματα της μελέτης συνάγεται το συμπέρασμα οτι η ΜΑ και η ΑΕ είναι φαινόμενα ανιχνεύσιμα στη σαρκοείδωση και πιθανόν ενέχονται στην αιτιοπαθογένεια της νόσου. Περαιτέρω μελέτες απαιτούνται με σκοπό να αξιολογηθεί η κλινική σημασία και η προγνωστική αξία αυτών των γενετικών αλλαγών καθώς και η μοριακή βάση της νόσου.

2. Ιδιοπαθής Πνευμονική Ίνωση

Στην εργασία αυτή μελετήσαμε τις γενετικές αλλαγές σε επίπεδο μικροδορυφορικού DNA σε 26 ασθενείς με ΙΠΙ. Βρήκαμε ότι το 50% των ασθενών εμφανίζει γενετικές αλλοιώσεις είτε ΜΑ είτε ΑΕ. Η ΜΑ ανιχνεύθηκε στο 19% και η ΑΕ στο 39% των δειγμάτων.

Γενετικές αποκλίσεις όπως η ΜΑ έχουν ανιχνευθεί σε όλους σχεδόν τους ανθρώπινους όγκους [233-235,257,259,273,279-288] καθώς και σε καλοήθεις διαταραχές [248-252] Πρόσφατα ανιχνεύτηκε ΜΑ σε ασθενείς με ΧΑΠ [255]. Στα πλαίσια της παρούσας διδακτορική διατριβής επιβεβαιώθηκε η γενετική αυτή αλλοίωση και σε ασθενείς με σαρκοειδωση - αποτελέσματα που βρίσκονται υπό δημοσίευση τη στιγμή που γράφονται αυτές οι γραμμές [293]. Στους ασθενείς με ΙΠΙ έχει βρεθεί αυξημένος κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου του πνεύμονα [146,167,202-217]. Έχει υπολογιστεί μάλιστα, ότι οι ασθενείς με ΙΠΙ παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου πνεύμονα κατά 14.1, σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό με συγκρίσιμη ηλικία και φύλο, λαμβάνοντας υπόψιν τον χρόνο παρακολούθησης αυτών των ασθενών [202].

Πρόσφατα έχει δειχθεί ότι, η αναλογία αυθορμήτων μεταλλάξεων που συμβαίνει σε τρι- και τετρανουκλεοτιδικές αλληλουχίες μικροδορυφορικου DNA είναι πολλαπλάσια από αυτήν των δινουκλεοτιδικών μικροδορυφορικών DNA [289,290]. Στη μελέτη μας ωστόσο χρησιμοποιώντας δινουκλεοτίδια ενέχεται ο φόβος της υποεκτίμησης της πραγματικής συχνότητας της γονιδιακής αστάθειας.

Σημαντική επίπτωση της ΑΕ βρέθηκε σε 4 από τα 24 (17%) δείγματα, στην περιοχή 8p21.3-q11.1, γεγονός που δείχνει ότι σημαντικά ΟΚΓ για την ανάπτυξη της ΙΠΙ μπορεί να εντοπίζονται σ' αυτήν την χρωμοσωμική περιοχή. Απαλείψεις στην περιοχή 8p21.3-q11.1 συχνά συναντάμε σε πλήθος νεοπλασιών [294]. Η δεύτερη σε συχνότητα ανίχνευσης χρωμοσωμική περιοχή με ΑΕ ήταν η 9p21.1-p11.2 που ανιχνεύθηκε σε 3 από 26 (12%) των δειγμάτων. Απαλείψεις στην περιοχή αυτή συχνά παρατηρούνται σε νεοπλασίες του πνεύμονα [257]. Λεπτομερής χαρτογράφηση της περιοχής απαιτείται προκειμένου να επισημανθεί η ακριβής περιοχή εντόπισης των πιθανών ΟΚΓ και του ρόλου τους στην παθογένεια της νόσου. Τα πτύελα περιέχουν

αρκετή ποσότητα φυσιολογικού DNA, που μπορεί να μειώσει το σήμα του μεταλλαγμένου αλληλόμορφου και να δώσει ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα [255].

Στη μελέτη αυτή ανιχνεύσαμε την παρουσία ενός άλλου βασικού δείκτη κακοήθειας, την ΑΕ στα κύτταρα πτυέλων των ασθενών με ΙΠΙ. Η ΑΕ παρατηρείται σε νεοπλασματικά κύτταρα ή σε προκαρκινικά κύτταρα όπου και σημαίνει εξέλιξη προς κακοήθεια. Το γεγονός αυτό στηρίζει την υπόθεση ότι μπορεί να υπάρχουν μεταλλαγμένα κύτταρα στον ινώδη ιστό των ασθενών με ΙΠΙ. Σύμφωνα με τον Knudson και τη θεωρία «των δύο χτυπημάτων» [156] το φαινόμενο της ΑΕ σχετίζεται με την παρουσία ΟΚΓ που αφορούν στη νόσο.
Η επιλογή των συγκεκριμένων χρωμοσωμικών περιοχών που μελετήθηκαν για ΜΑ και ΑΕ βασίστηκε σε προηγούμενες μελέτες που αφορούσαν σε καρκίνο πνεύμονα [257,264], ή καλοήθεις πνευμονικές παθήσεις όπως η ΧΑΠ [255] και η σαρκοείδωση [293], τα αποτελέσματα της οποίας είχαν προηγηθεί. Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα που αφορούν στους ασθενείς με σαρκοείδωση, με αυτά της ΙΠΙ παρατηρούμε παρόμοιο ποσοστό αλλοιώσεων. Στη σαρκοείδωση βρήκαμε ότι 14 από 30 (47%) έδειξαν γενετικές αλλοιώσεις, είτε ΜΑ είτε ΑΕ. Έξι από 30 (20%) παρουσίασαν ΜΑ και 9 (30%) ΑΕ σε έναν τουλάχιστο μικροδορυφορικό δείκτη. Στην παρούσα μελέτη η συχνότητα της ΑΕ ήταν ελαφρώς αυξημένη (39%), το οποίο θα μπορούσε να εξηγήσει μερικώς την αυξημένη επίπτωση του καρκίνου του πνεύμονα σε ασθενείς με ΙΠΙ.

Η κληρονομική προδιάθεση στην παθογένεια της ΙΠΙ βασίζεται σε διάφορα ευρήματα [15,140,156-159,164]. Οι μελέτες αυτές υποστηρίζουν την άποψη ότι γενετικοί παράγοντες μπορεί να προδιαθέτουν σε αυτή τη διαταραχή ή να καθορίζουν την κλινική έκφραση της νόσου. Έχουν περιγραφεί περιπτώσεις οικογενούς ΙΠΙ [159-173,218-221], καθώς και περιπτώσεις που αφορούν σε μονοωγενείς διδύμους, κάποιοι μάλιστα χωρισμένοι γεωγραφικά για πολλά χρόνια [156].

Η απουσία ενός συγκεκριμένου γενετικού παράγοντα υποδηλώνει ότι εάν η ΙΠΙ είναι όντως μια γενετικά καθορισμένη νόσος, είναι πιθανόν μια γενετικά πολυσύνθετη ασθένεια, που σχετίζεται με πολυγονικούς επιτόπους και πολλαπλούς κληρονομικούς παράγοντες, δύσκολο να εξακριβωθούν επακριβώς [14]. Αφού η νόσος εμφανίζεται κυρίως σε ενήλικες, φαίνεται ότι η γενετική προδιάθεση σε συνδυασμό με ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες πιθανότατα, συμβάλουν στην φαινοτυπική

έκφραση της παρεγχυματικής φλεγμονής και ίνωσης στην ΙΠΙ [14]. Στην παρούσα εργασία, ο υπό μελέτη πληθυσμός ήταν Έλληνες Καυκάσιοι, και δεν παρουσίαζαν γενετικές ποικιλομορφίες, και με το δεδομένο ότι ο πληθυσμός αυτός προέρχεται από τον περιορισμένο χώρο του νησιού της Κρήτης, όλα τα άτομα επηρεάζονταν από τους ίδιους περίπου περιβαλλοντικούς παράγοντες.

Το κάπνισμα εντούτοις δεν φαίνεται να σχετίζεται με τις παραπάνω γενετικές διαταραχές αφού οι καπνιστές μεταξύ των ασθενών με ΙΠΙ δεν εκφράζουν ΜΑ ή ΑΕ σε μεγαλύτερο ποσοστό από τους μη καπνιστές. Επιπλέον δεδομένα που στηρίζουν αυτή την παρατήρηση, δίνονται από δυο προηγούμενες μελέτες [255,293]. Διαπιστώσαμε ότι ΜΑ ανιχνεύθηκε σε ασθενείς με ΧΑΠ αλλά όχι σε αντίστοιχο πληθυσμό καπνιστών χωρίς ΧΑΠ [255]. Επίσης βρήκαμε ότι ασθενείς με σαρκοείδωση παρουσίαζαν τόσο ΜΑ όσο και ΑΕ, με την ίδια συχνότητα ανάμεσα σε καπνιστές και μη καπνιστές από αυτούς [293].

Με σκοπό να εκτιμήσουμε εάν η ΜΑ ή ΑΕ αποτελούν δείκτες βαρύτητας της ΙΠΙ, συγκρίναμε τις δύο κατηγορίες σαρκοειδικών: ΜΑ ή/και ΑΕ θετικούς και ΜΑ/ΑΕ αρνητικούς. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο κατηγοριών όσον αφορά σε παραμέτρους όπως: διάρκεια της νόσου, καπνιστικές συνήθειες, αέρια αίματος, έλεγχος πνευμονικής λειτουργίας. Αυτό δείχνει ότι η ΜΑ και ΑΕ πιθανότατα δεν σχετίζονται με τη βαρύτητα της νόσου.

Η ακριβής σημασία αυτών των ευρημάτων παραμένει να διευκρινισθεί διότι λείπει η σαφής πληροφορία της γενετικής βάσης της νόσου. Παρά ταύτα υποθέτουμε ότι το σχετικά υψηλό ποσοστό μετάλλαξης στην ΙΠΙ, όπως αυτό δηλώνεται από την αστάθεια των μικροδορυφορικών αλληλουχιών, υποδηλώνει μια αποσταθεροποίηση του γονιδιώματος που μπορεί να επηρεάζει άλλα γονίδια, οδηγώντας σε απορύθμιση των κυττάρων που περιέχουν τις μεταλλάξεις.

Από τα αποτελέσματα της μελέτης συνάγεται το συμπέρασμα οτι η ΜΑ και η ΑΕ είναι φαινόμενα ανιχνεύσιμα στην ΙΠΙ και πιθανόν ενέχονται στην αιτιοπαθογένεια της νόσου. Περαιτέρω μελέτες απαιτούνται με σκοπό να αξιολογηθεί

η κλινική σημασία και η προγνωστική αξία αυτών των γενετικών αλλαγών καθώς και η μοριακή βάση της νόσου.

V. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Σαρκοείδωση

- *Η ΜΑ και η ΑΕ είναι φαινόμενα ανιχνεύσιμα στη σαρκοείδωση*

- Η ΜΑ που αντανακλά αυξημένο ρυθμό μεταλλαξογένεσης, εντοπίστηκε στο 20% των δειγμάτων και η ΑΕ, που είναι ενδεικτική της ανεύρεσης της θέσης πιθανών ογκοκατασταλτικών γονιδίων, εντοπίσθηκε στο 30% των δειγμάτων

  - *Σημαντική επίπτωση της ΑΕ βρέθηκε στο 17q 11.2-q21 γεγονός που δείχνει ότι σημαντικά ΟΚΓ για την ανάπτυξη της σαρκοείδωσης βρίσκονται σ' αυτήν την χρωμοσωμική περιοχή*

- Οι μελετηθείσες γενετικές αλλοιώσεις δεν φαίνεται να σχετίζονται με τη βαρύτητα της νόσου

2. Ιδιοπαθής Πνευμονική Ίνωση

- *Η ΜΑ και η ΑΕ είναι φαινόμενα ανιχνεύσιμα στην ΙΠΙ*

- 50% των ασθενών εμφανίζει γενετικές αλλοιώσεις είτε ΜΑ είτε ΑΕ. Η ΜΑ ανιχνεύθηκε στο 19% και η ΑΕ στο 39% των δειγμάτων.

  - *Σημαντική επίπτωση της ΑΕ βρέθηκε στο 8p21.3-q11.1, γεγονός που δείχνει ότι σημαντικά ΟΚΓ για την ανάπτυξη της ΙΠΙ μπορεί να εντοπίζονται σ' αυτήν την χρωμοσωμική περιοχή.*

- *Οι μελετηθείσες γενετικές αλλοιώσεις δεν φαίνεται να σχετίζονται με τη βαρύτητα της νόσου*

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Coultas DB, Zumwald RI, Black WC, Sobonya RA. The epidemiology of interstitial lung diseases. Am J Respir Crit Care Med 1994; 150:967-972.

2. Liebow AA. Deginition and classification of interstitial pneumonias in human pathology. In: Basset F, Georges R, editors. Progress in Respiration Research. New York: Karger, 1975:1-33.

3. Schneeberger-Keeley E, Karnovsky M. The ultrastructural basis of alveolar-capillary membrane permeability to peroxidase used as a tracer. J Cell Biol 1968; 37:781-793.

4. Weibel E, Bachofen H. Structural design of the alveolar septum and fluid exchange. In: Fishman A, Renkin E, editors. Pulmonary edema. Baltimore: Willinams&Wilkins, 1979:1-20.

5. Staub NC. The pathophysiology of pulmonary edema. Hum Pathol 1970; 1:419-432.

6. Staub NC, Nagano H, Pearce ML. Pulmonary edema in dogs, especially the sequence of fluid accumulation in lungs. J Appl Physiol 1967; 22:227-240.

7. Bowden DH, Adamson IY. Role of monocytes and interstitial cells in the generation of alveolar macrophages I. Kinetic studies of normal mice. Lab Invest 1980; 42:511-517.

8. Vijeyaratnam GS, Corrin B. Origin of the pulmonary alveolar macrophage studied in the iprindole- treated rat. J Pathol 1972; 108:115-118.

9. Bowden DH, Adamson IY. Alveolar macrophage response to carbon in monocyte-depleted mice. Am Rev Respir Dis 1982; 126:708-711.

10. Corry D, Kulkarni P, Lipscomb MF. The migration of bronchoalveolar macrophages into hilar lymph nodes. Am J Pathol 1984; 115:321-328.

11. Harmsen AG, Muggenburg BA, Snipes MB, Bice DE. The role of macrophages in particle translocation from lungs to lymph nodes. Science 1985; 230:1277-1280.

12. Clark JG, Kuhn CE, McDonald JA, Mercham RP. Lung connective tissue. Int Rev connect Tissue Res 1983; 10:249-331.

13. Campbell EJ, Senio RM, Welgus HJ. Extracellular Matrix injury during lung Inflammation. Chest 1987; 92:161-167.

14. Raghu G, Mageto YN. Genetic Predisposition of Interstitial Lung Disease. In: Schwartz M, King T, editors. Interstitial lung disease. Ontario, CA: Decker BC, 1998:119-134.

15. Musk A, etal. Genetic studies in familial fibrosisng alveolitis. Possible linkage with immunoglobulin allotypes (Gm). Chest 1986; 89:206-210.

16. Kumar RK, Lykke A. Messages and handshakes: cellular interactions in pulmonary fibrosis. Pathology 1995; 27:18-26.

17. Rochester C, Elias J. Cytokines and cytokine networking in the pathogenesis of interstitial fibrotic lung disorders. Semin Respir Med 1993; 14:389-416.

18. Rubin E, Farber J. The respiratory system. In: Rubin E, Farber JL, editors. Essential Pathology. Philadelphia: JB Lippincott, 1995:313-346.

19. Johnston C, et al. Differenses in correlation of mRNA gene expresion in mice sensitive and resistant to radiation-induced pulmonary fibrosis. Radiat Res 1995; 142:197-203.

20. Bhat M, et al. Fluoromicroscopic studies of bleomycin-induced intracellular oxxidation in alveolar macrophages and its inhibition by taurine. Environ Health Perspect 1994; 102:91-96.

21. Duchene G. Fundamental bases of combined therapy in lung cancer: cell resistance to chemotherapy and radiotherapy. Lung Cancer 1994; 10:67-72.

22. Rybicki BA, Maliarik MJ, Major M, Popovich J, Jr., Iannuzzi MC. Epidemiology, demographics, and genetics of sarcoidosis. Semin Respir Infect 1998; 13:166-173.

23. Fick RB, Reynolds HY. Pseudomonas respiratory infection in cystic fibrosis: a possible defect in opsonic IgG antibody? Bull Eur Physiopathol Respir 1983; 19:151-161.

24. Homma JY, Abe C, Chosa H, Ueda K, Saegusa J, Nakayama M, et al. Bacteriological investigation on biopsy specimens from patients with sarcoidosis. Jpn J Exp Med 1978; 48:251-255.

25. Fidler HM, Rook GA, Johnson NM, McFadden J. Mycobacterium tuberculosis DNA in tissue affected by sarcoidosis. BMJ 1993; 306:546-549.

26. Cummings MM. An evaluation of the possible relationship of pine pollen to sarcoidosis. Acta Med Scand Suppl 1964; 425:48-50:48-50.

27. Di Alberti L, Piattelli A, Artese L, Favia G, Patel S, Saunders N, et al. Human herpesvirus 8 variants in sarcoid tissues. Lancet 1997; 350:1655-1661.

28. Sodja I, Votava L. Isolation of haemadsorptive virus from cases of sarcoidosis. Acta Virol 1966; 10:81

29. James DG. Aetiology of sarcoidosis. Arch Monaldi 1976; 31:16-24.

30. Steplewski Z. The serach for viruses in sarcoidosis. Ann N Y Acad Sci 1976; 278:260-3:260-263.

31. Ghossein RA, Ross DG, Salomon RN, Rabson AR. A search for mycobacterial DNA in sarcoidosis using the polymerase chain reaction. Am J Clin Pathol 1994; 101:733-737.

32. Buck AA, Sartwell PE. Epidemiologic investigations on sarcoidosis. Am J Hygiene 1961; 74:152-173.

33. Johnson LA, Edsall JR, Austin JH, Ellis K. Pulmonary sarcoidosis: could mycoplasma-like organisms be a cause? Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis 1996; 13:38-42.

34. Lipsky BA, Goldberger AC, Tompkins LS, Plorde JJ. Infections caused by nondiphtheria corynebacteria. Rev Infect Dis 1982; 4:1220-1235.

35. Almenoff PL, Johnson A, Lesser M, Mattman LH. Growth of acid fast L forms from the blood of patients with sarcoidosis. Thorax 1996; 51:530-533.

36. Farber HW, Fairman RP, Glauser FL. Talc granulomatosis: laboratory findings similar to sarcoidosis. Am Rev Respir Dis 1982; 125:258-261.

37. Shelley WB, Hulley HL. The allergic origin of zirconium deodorant granulomas. Br J Dermatol 1958; 75-101.

38. Mitchell DN, Rees RJ. A transmissible agent from sarcoid tissue. Lancet 1969; 2:81-84.

39. Williams WJ. Beryllium disease--pathology and diagnosis. J Soc Occup Med 1977; 27:93-96.

40. Ishige I, Usui Y, Takemura T, Eishi Y. Quantitative PCR of mycobacterial and propionibacterial DNA in lymph nodes of Japanese patients with sarcoidosis. Lancet 1999; 354:120-123.

41. Wilsher ML, Menzies RE, Croxson MC. Mycobacterium tuberculosis DNA in tissues affected by sarcoidosis. Thorax 1998; 53:871-874.

42. Abe C, Iwai K, Mikami R, Hosoda Y. Frequent isolation of Propionibacterium acnes from sarcoidosis lymph nodes. Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg [A] 1984; 256:541-547.

43. Saboor SA, Johnson NM, McFadden J. Detection of mycobacterial DNA in sarcoidosis and tuberculosis with polymerase chain reaction [see comments]. Lancet 1992; 339:1012-1015.

44. Vokurka M, Lecossier D, du Bois RM, Wallaert B, Kambouchner M, Tazi A, et al. Absence of DNA from mycobacteria of the M. tuberculosis complex in sarcoidosis. Am J Respir Crit Care Med 1997; 156:1000-1003.

45. Ozcelik U, Ozkara HA, Gocmen A, Akcoren Z, Kocagoz T, Kiper N, et al. Detection of Mycobacterium tuberculosis DNA in tissue samples of children with sarcoidosis. Pediatr Pulmonol 1997; 24:122-124.

46. Popper HH, Klemen H, Hoefler G, Winter E. Presence of mycobacterial DNA in sarcoidosis. Hum Pathol 1997; 28:796-800.

47. Li N, Bajoghli A, Kubba A, Bhawan J. Identification of mycobacterial DNA in cutaneous lesions of sarcoidosis. J Cutan Pathol 1999; 26:271-278.

48. el-Zaatari FA, Naser SA, Markesich DC, Kalter DC, Engstand L, Graham DY. Identification of Mycobacterium avium complex in sarcoidosis. J Clin Microbiol 1996; 34:2240-2245.

49. Richter E, Greinert U, Kirsten D, Rusch-Gerdes S, Schluter C, Duchrow M, et al. Assessment of mycobacterial DNA in cells and tissues of mycobacterial and sarcoid lesions. Am J Respir Crit Care Med 1996; 153:375-380.

50. Popper HH, Winter E, Hofler G. DNA of Mycobacterium tuberculosis in formalin-fixed, paraffin- embedded tissue in tuberculosis and sarcoidosis detected by polymerase chain reaction. Am J Clin Pathol 1994; 101:738-741.

51. Mitchell IC, Turk JL, Mitchell DN. Detection of mycobacterial rRNA in sarcoidosis with liquid-phase hybridisation. Lancet 1992; 339:1015-1017.

52. Mitchell DN. Mycobacteria and sarcoidosis. Lancet 1996; 348:768-769.

53. Lisby G, Milman N, Jacobsen GK. Search for Mycobacterium paratuberculosis DNA in tissue from patients with sarcoidosis by enzymatic gene amplification. APMIS 1993; 101:876-878.

54. Wong CF, Yew WW, Wong PC, Lee J. A case of concomitant tuberculosis and sarcoidosis with mycobacterial DNA present in the sarcoid lesion. Chest 1998; 114:626-629.

55. Iwai K. Propionibacterium acnes in sarcoidosis. Sarcoidosis 1989; 6:73-75.

56. Hance AJ. The role of mycobacteria in the pathogenesis of sarcoidosis. Semin Respir Infect 1998; 13:197-205.

57. Fidler HM. Mycobacteria and sarcoidosis: recent advances. Sarcoidosis 1994; 11:66-68.

58. Siltzbach LE. Etiology of sarcoidosis. Practitioner 1969; 202:613-618.

59. Kashihara K. A hypothesis for the induction of sarcoidosis. Trends Microbiol 1996; 4:342

60. Dobrescu G, Bendescu M. Actualities in sarcoidosis morphopathogenesis. Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi 1975; 79:622-623.

61. Grant RP, Van Ordstrand HS. Sarcoidosis--recent progress in etiology and pathogenesis. Cleve Clin Q 1967; 34:205-216.

62. Van Gundy K, Sharma OP. Pathogenesis of sarcoidosis. West J Med 1987; 147:168-174.

63. Williams WJ. Aetiology of sarcoidosis. Pathol Res Pract 1982; 175:1-12.

64. O'Connor CM, FitzGerald MX. Speculations on sarcoidosis. Respir Med 1992; 86:277-282.

65. Iannuzzi MC. Genetics of sarcoidosis. Monaldi Arch Chest Dis 1998; 53:609-613.

66. Viale G, Codecasa L, Bulgheroni P, Giobbi A, Madonini E, Dell'Orto P, et al. T-cell subsets in sarcoidosis: an immunocytochemical investigation of blood, bronchoalveolar lavage fluid, and prescalenic lymph nodes from eight patients. Hum Pathol 1986; 17:476-481.

67. Romer FK. Sarcoidosis with large nodular lesions simulating pulmonary metastases. An analysis of 126 cases of intrathoracic sarcoidosis. Scand J Respir Dis 1977; 58:11-16.

68. Carrington CB, Liebow A. Limited forms of angiitis and granulomatosis of Wegener's type. Am J Med 1966; 41:497-527.

69. Wirnsberger RM, de Vries J, Wouters EF, Drent M. Clinical presentation of sarcoidosis in The Netherlands an epidemiological study. Neth J Med 1998; 53:53-60.

70. Sarkar TK. Anaplastic carcinoma of the lung and sarcoidosis. Br J Clin Pract 1970; 24:297-299.

71. Kuhara H, Wakabayashi T, Kishimoto H, Ichimura K, Torii Y, Yamamoto M. Lung cancer and chronic interstitial pneumonia associated with systemic sarcoidosis. Acta Pathol Jpn 1985; 35:199-211.

72. Kamiyoshihara M, Hirai T, Kawashima O, Ishikawa S, Morishita Y. Pulmonary small cell carcinoma associated with sarcoid reactions: report of a case. Surg Today 1999; 29:382-384.

73. Kamiyoshihara M, Hirai T, Kawashima O, Ishikawa S, Morishita Y. Sarcoid reactions in primary pulmonary carcinoma: report of seven cases. Oncol Rep 1998; 5:177-180.

74. Levy NT, Rubin J, DeRemee RA, Aughenbaugh GL, Unni KK, Kahn MJ. Carcinoid tumors and sarcoidosis--does a link exist? Mayo Clin Proc 1997; 72:112-116.

75. Segawa Y, Takigawa N, Okahara M, Maeda Y, Takata I, Fujii M, et al. Primary lung cancer associated with diffuse granulomatous lesions in the pulmonary parenchyma. Intern Med 1996; 35:728-731.

76. Noone PG, O'Briain DS, Luke D, Clancy L. Adenocarcinoma of the lung in association with chronic sarcoidosis. Ir Med J 1993; 86:27-28.

77. Sugio K, Inoue T, Yokoyama H, Ishida T, Nakano S, Sugimachi K. Sarcoid reactions in regional lymph nodes of primary lung cancer. Respiration 1993; 60:133-136.

78. Savino A, Ostrovsky PD, Sanders A, Daly SM. Coexistence of sarcoidosis and carcinoma in a solitary pulmonary nodule. N Y State J Med 1986; 86:648-649.

79. Salmassi S, LaBach JP, Amini J. Pulmonary cancer of triple cell differentiation with sarcoid reaction. Case report. Mo Med 1982; 79:77-80.

80. Shoenfeld Y, Avidor E, Eldar M, Vidne B, Levy M, Pinkhas J. Squamous cell carcinoma associated with sarcoidosis in the lung. Oncology 1978; 35:112-113.

81. Reich JM, Mullooly JP, Johnson RE. Linkage analysis of malignancy-associated sarcoidosis. Chest 1995; 107:605-613.

82. Brincker H, Wilbek E. The incidence of malignant tumours in patients with respiratory sarcoidosis. Br J Cancer 1974; 29:247-251.

83. Seersholm N, Vestbo J, Viskum K. Risk of malignant neoplasms in patients with pulmonary sarcoidosis. Thorax 1997; 52:892-894.

84. Bogaerts Y, Van Der Straeten M, Tasson J, Pauwels R. Sarcoidosis or malignancy: a diagnostic dilemma. Eur J Respir Dis 1983; 64:541-550.

85. Romer FK, Hommelgaard P, Schou G. Sarcoidosis and cancer revisited: a long-term follow-up study of 555 Danish sarcoidosis patients. Eur Respir J 1998; 12:906-912.

86. Stirling RG, Culligan P, du Bois RM. Sarcoidosis. In: Schwartz M, King T, editors. Interstitial Lung Disease. Ontario, CA: Decker Publishing, 1998:

87. Schurmann M, Bein G, Kirsten D, Schlaak M, Muller-Quernheim J, Schwinger E. HLA-DQB1 and HLA-DPB1 genotypes in familial sarcoidosis. Respir Med 1998; 92:649-652.

88. Rybicki BA, Maliarik MJ, Major M, Popovich J, Jr., Iannuzzi MC. Genetics of sarcoidosis. Clin Chest Med 1997; 18:707-717.

89. Hosoda Y, Hiraga Y, Odaka M, Yangawa H, Ito Y, Shiegematsu I, et al. A cooperative study of sarcoidosis in Asia and Africa: analytic epidemiology. Ann N Y Acad Sci 1976; 278:355-67:355-367.

90. James DG, Neville E, Piyasena KH, Walker AN, Hamlyn AN. Possible genetic influences in familial sarcoidosis. Postgrad Med J 1974; 50:664-670.

91. Rybicki BA, Harrington D, Major M, Simoff M, Popovich J, Jr., Maliarik M, et al. Heterogeneity of familial risk in sarcoidosis. Genet Epidemiol 1996; 13:23-33.

92. Pietinalho A, Ohmichi M, Hirasawa M, Hiraga Y, Lofroos AB, Selroos O. Familial sarcoidosis in Finland and Hokkaido, Japan--a comparative study. Respir Med 1999; 93:408-412.

93. Fite E, Alsina JM, Anto JM, Morera J. Sarcoidosis: family contact study. Respiration 1998; 65:34-39.

94. Bambery P, Kaur U, Bhusnurmath SR, Dilawari JB. Familial idiopathic granulomatosis: sarcoidosis and Crohn's disease in two Indian families. Thorax 1991; 46:919-921.

95. Soria LM, Valverde Garcia J, Sole JM, Badrinas Vancells F. Familial sarcoidosis: a case report. Sarcoidosis 1990; 7:133-135.

96. Mitchell DN, Scadding JG. Sarcoidosis. Am Rev Respir Dis 1974; 110:774-802.

97. Harrington DW, Major M, Rybicki BA. Familial Sarcoidosis: Analysis of 91 families. Sarcoidosis 1994; 11:240-243.

98. Fite E, Mana J, Alsina JM, Morera J. Sarcoidosis: chest radiograph screening of familial contacts. Respiration 1996; 63:160-163.

99. Ducloux D, Welker Y, Lassoued K, Modai J. Familial neurosarcoidosis. J Intern Med 1996; 239:83-84.

100. Carmichael AJ, Tan CY, Smith AG. Familial sarcoidosis: high ethnic prevalence. Acta Derm Venereol 1989; 69:531-532.

101. Luisetti M, Cremaschi P, Rizzo S, Martinetti M, Belvedere M. Report of one case of familial sarcoidosis. Sarcoidosis 1988; 5:90-91.

102. Turton C. High prevalence of familial sarcoidosis in an Irish population. Thorax 1984; 39:479

103. Edmondstone WM, Wilson AG. Temporal clustering of familial sarcoidosis in non-consanguineous relatives. Br J Dis Chest 1984; 78:184-186.

104. Brennan NJ, Crean P, Long JP, FitzGerald MX. High prevalence of familial sarcoidosis in an Irish population. Thorax 1984; 39:14-18.

105. Nowinski T, Flanagan J, Ruchman M. Lacrimal gland enlargement in familial sarcoidosis. Ophthalmology 1983; 90:909-913.

106. Gronhagen-Riska C, Fyhrquist F, Hortling L, Koskimies S. Familial occurrence of sarcoidosis and Crohn's disease. Lancet 1983; 1:1287-1288.

107. Prendiville J, Robinson A, Young M. Familial sarcoidosis. Ir J Med Sci 1982; 151:258-260.

108. Priestley S, Delaney JC. Familial sarcoidosis presenting with stridor. Thorax 1981; 36:636-637.

109. Taafe A, Feinman L. Familial sarcoidosis: a report of three cases. Br J Clin Pract 1977; 31:225-226.

110. Sharma OP, Neville E, Walker AN, James DG. Familial sarcoidosis: a possible genetic influence. Ann N Y Acad Sci 1976; 278:386-400:386-400.

111. Headings VE, Weston D, Young RC, Jr., Hackney RL, Jr. Familial sarcoidosis with multiple occurrences in eleven families: a possible mechanism of inheritance. Ann N Y Acad Sci 1976; 278:377-85:377-385.

112. Keating JP, Weissbluth M, Ratzan SK, Barton LL. Familial sarcoidosis. Am J Dis Child 1973; 126:644-647.

113. Anonymous. Familial associations in sarcoidosis. A report to the Research Committee of the British Thoracic and Tuberculosis Association. Tubercle 1973; 54:87-98.

114. Wiman LG. Familial occurrence of sarcoidosis. Scand J Respir Dis Suppl 1972; 80:115-9:115-119.

115. Sharma OP, Johnson CS, Balchum OJ. Familial sarcoidosis. Report of four siblings with acute sarcoidosis. Am Rev Respir Dis 1971; 104:255-257.

116. Salm R. Familial sarcoidosis terminating as neurosarcoidosis. Postgrad Med J 1969; 45:668-674.

117. Hamman L, Rich AR. Acute diffuse interstitial fibrosis of the lungs. Bull John Hopkins Hosp 1944; 77:177

118. Parr LH. Hamman-Rich syndrome. Idiopathic pulmonary interstitial fibrosis of the lung. J Natl Med Assoc 1969; 61:8-12.

119. Scadding JG. Fibrosing alveolitis. Br Med J 1964; 2:686

120. Corrin B, Dewar A. Pathogenesis of idiopathic interstitial pulmonary fibrosis. Ultrastruct Pathol 1996; 20:369-371.

121. Murray JC, Laurent GJ. What is pulmonary fibrosis? Thorax 1988; 43:9-11.

122. Jackson LK. Idiopathic pulmonary fibrosis. Clin Chest Med 1982; 3:579-592.

123. Ander L, Zettergren L. Idiopathic interstitial fibrosis of the lungs. 3. Pathology and serology. Acta Med Scand 1967; 182:475-489.

124. Katzenstein AL. Pathogenesis of "fibrosis" in interstitial pneumonia: an electron microscopic study. Hum Pathol 1985; 16:1015-1024.

125. Marinelli WA. Idiopathic pulmonary fibrosis. Progress and challenge. Chest 1995; 108:297-298.

126. Dunnill MS. Pulmonary fibrosis. Histopathology 1990; 16:321-329.

127. Jimenez SA. New insights into the pathogenesis of interstitial pulmonary fibrosis. Thorax 1994; 49:193-195.

128. Kuhn C. The pathogenesis of pulmonary fibrosis. Monogr Pathol 1993; 78-92.

129. Weissler JC. Idiopathic pulmonary fibrosis: cellular and molecular pathogenesis. Am J Med Sci 1989; 297:91-104.

130. Crystal RG, Fulmer JD, Baum BJ, Bernardo J, Bradley KH, Bruel SD, et al. Cells, collagen and idiopathic pulmonary fibrosis. Lung 1978; 155:199-224.

131. Gadek J, Hunninghake G, Schoenberger C, Fells G, Crystal R. Pulmonary asbestosis and idiopathic pulmonary fibrosis: pathogenetic parallels. Chest 1981; 80:63-64.

132. Gough J. Advances in the pathogenesis of non-occupational pulmonary fibrosis. Med Lav 1965; 56:460-461.

133. Patchefsky AS, Israel HL, Hoch WS, Gordon G. Desquamative interstitial pneumonia: relationship to interstitial fibrosis. Thorax 1973; 28:680-693.

134. Scadding JG. Diffuse pulmonary alveolar fibrosis. Ther Umsch 1973; 30:191-198.

135. Lambe D. Idiopathic interstitial fibrosis. Lung 1990; 168 Suppl:993-7:993-997.

136. Sharma OP. Idiopathic pulmonary fibrosis. Curr Opin Pulm Med 1996; 2:343-346.

137. Valdivia E, Hensley G, Leory EP, Wu J, Jaeschke W. Morphology and pathogenesis of desquamative interstitial pneumonitis. Thorax 1977; 32:7-18.

138. Selman M, Montano M, Montfort I, Perez-Tamayo R. A new model of diffuse interstitial pulmonary fibrosis in the rat. Exp Mol Pathol 1985; 43:375-387.

139. Kasper M, Haroske G. Alterations in the alveolar epithelium after injury leading to pulmonary fibrosis. Histol Histopathol 1996; 11:463-483.

140. Marshall RP, McAnulty RJ, Laurent GJ. The pathogenesis of pulmonary fibrosis: is there a fibrosis gene? Int J Biochem Cell Biol 1997; 29:107-120.

141. Poh SC, Monteiro EH, Chao TC. Acute diffuse interstitial fibrosis of the lungs. Singapore Med J 1972; 13:201-205.

142. Groniowski J, Walski M. Ultrastructural patterns of pulmonary fibrosis. Ann Med Sect Pol Acad Sci 1975; 20:77-78.

143. Fujita J, Yamadori I, Kamei T, Yamaji Y, Takahara J. Neutrophilic endotheliitis in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. Chest 1995; 108:589

144. Callahan LM, Evans JN, Adler KB. Alterations in the cellular population of the alveolar wall in an animal model of fibrosis. A morphometric study. Chest 1986; 89:188S-189S.

145. Chan-Yeung M, Muller NL. Cryptogenic fibrosing alveolitis. Lancet 1997; 350:651-656.

146. Iyonaga K, Miyajima M, Suga M, Saita N, Ando M. Alterations in cytokeratin expression by the alveolar lining epithelial cells in lung tissues from patients with idiopathic pulmonary fibrosis. J Pathol 1997; 182:217-224.

147. Turner-Warwick M. In search of a cause of cryptogenic fibrosing alveolitis (CFA): one initiating factor or many? Thorax 1998; 53 Suppl 2:S3-9:S3-9.

148. Sime PJ, Xing Z, Graham FL, Csaky KG, Gauldie J. Adenovector-mediated gene transfer of active transforming growth factor- beta1 induces prolonged severe fibrosis in rat lung. J Clin Invest 1997; 100:768-776.

149. Burkhardt A. Pathogenesis of pulmonary fibrosis. Hum Pathol 1986; 17:971-973.

150. Burkhardt A. Alveolitis and collapse in the pathogenesis of pulmonary fibrosis. Am Rev Respir Dis 1989; 140:513-524.

151. du Bois RM. Advances in our understanding of the pathogenesis of fibrotic lung disease. Respir Med 1990; 84:185-187.

152. Ruttner JR, Spycher MA, Sticher H. The detection of etiologic agents in interstitial pulmonary fibrosis. Hum Pathol 1973; 4:497-512.

153. Rennard SI, Bitterman PB, Crystal RG. Current concepts of the pathogenesis of fibrosis: lessons from pulmonary fibrosis. Prog Clin Biol Res 1984; 154:359-77:359-377.

154. Witschi H, Haschek WM, Meyer KR, Ullrich RL, Dalbey WE. A pathogenetic mechanism in lung fibrosis. Chest 1980; 78:395-399.

155. Selman M, Pardo A. Pathogenic mechanisms in the development of diffuse pulmonary fibrosis. Braz J Med Biol Res 1996; 29:1117-1126.

156. Javaheri S, Lederer DH, Pella JA, Mark GJ, Levine BW. Idiopathic pulmonary fibrosis in monozygotic twins. The importance of genetic predisposition. Chest 1980; 78:591-594.

157. Watters LC. Genetic aspects of idiopathic pulmonary fibrosis and hypersencitivity pneumonitis. Semin Respir Med 1986; 11:317-325.

158. Mageto YN, Raghu G. Genetic predisposition of idiopathic pulmonary fibrosis. Curr Opin Pulm Med 1997; 3:336-340.

159. Musk AW, Zilko PJ, Manners P, Kay PH, Kamboh MI. Genetic studies in familial fibrosing alveolitis. Possible linkage with immunoglobulin allotypes (Gm). Chest 1986; 89:206-210.

160. Hoste P, Willams J, Devriendt J, Lamont H, Van Der Straeten M. Familial diffuse interstitial pulmonary fibrosis associated with oculocutaneous albinism. Report of two cases with a family study. Scand J Respir Dis 1979; 60:128-134.

161. van Valenberg PL, Lammers JW, van den Hout HA, Molema J, van Herwaarden CL. Chronic extrinsic allergic alveolitis in a family with idiopathic pulmonary fibrosis: the importance of histological diagnosis. Eur Respir J 1992; 5:1154-1157.

162. Stinson JC, Tomkin GH. Familial cryptogenic fibrosing alveolitis: a case report. Ir J Med Sci 1992; 161:42-43.

163. Wright JA, Pennington JE. Familial lymphoid interstitial pneumonitis. J Pediatr 1987; 111:638

164. Bitterman PB, Rennard SI, Keogh BA, Wewers MD, Adelberg S, Crystal RG. Familial idiopathic pulmonary fibrosis. Evidence of lung inflammation in unaffected family members. N Engl J Med 1986; 314:1343-1347.

165. Barzo P. Familial idiopathic fibrosing alveolitis. Eur J Respir Dis 1985; 66:350-352.

166. Prichard MG, Musk AW. Adverse effect of pregnancy on familial fibrosing alveolitis. Thorax 1984; 39:319-320.

167. McDonnell L, Sweeney EC, Jagoe WS, FitzGerald MX. Familial pulmonary fibrosis and lung cancer. Ir J Med Sci 1982; 151:315-317.

168. Murphy A, O'Sullivan BJ. Familial fibrosing alveolitis. Ir J Med Sci 1981; 150:204-209.

169. Touloukian JS. A familial variant of the Hamman-Rich syndrome. J Indiana State Med Assoc 1975; 68:956-958.

170. Hilton RD, Pitkeathly DA. Familial association of rheumatoid arthritis and fibrosing alveolitis. Ann Rheum Dis 1974; 33:191-195.

171. Solliday NH, Williams JA, Gaensler EA, Coutu RE, Carrington CB. Familial chronic interstitial pneumonia. Am Rev Respir Dis 1973; 108:193-204.

172. Swaye P, Van Ordstrand HS, McCormack LJ, Wolpaw SE. Familial Hamman-Rich syndrome. Report of eight cases. Dis Chest 1969; 55:7-12.

173. Stemmermann GN. Chronic familial lung disease. Am Rev Respir Dis 1967; 95:663-669.

174. Bateman ED, Turner-Warwick M, Haslam PL, Adelmann-Grill BC. Cryptogenic fibrosing alveolitis: prediction of fibrogenic activity from immunohistochemical studies of collagen types in lung biopsy specimens. Thorax 1983; 38:93-101.

175. Turner-Warwick M, Haslam P. Antibodies in some chronic fibrosing lung diseases. I. Non organ-specific autoantibodies. Clin Allergy 1971; 1:83-95.

176. Turner-Warwick M, Haslam P, Weeks J. Antibodies in some chronic fibrosing lung diseases. II. Immunofluorescent studies. Clin Allergy 1971; 1:209-219.

177. Wangoo A, Shaw RJ, Diss TC, Farrell PJ, du Bois RM, Nicholson AG. Cryptogenic fibrosing alveolitis: lack of association with Epstein-Barr virus infection. Thorax 1997; 52:888-891.

178. Yonemaru M, Kasuga I, Kusumoto H, Kunisawa A, Kiyokawa H, Kuwabara S, et al. Elevation of antibodies to cytomegalovirus and other herpes viruses in pulmonary fibrosis. Eur Respir J 1997; 10:2040-2045.

179. Ferri C, La Civita L, Fazzi P, Solfanelli S, Lombardini F, Begliomini E, et al. Interstitial lung fibrosis and rheumatic disorders in patients with hepatitis C virus infection. Br J Rheumatol 1997; 36:360-365.

180. Kuwano K, Nomoto Y, Kunitake R, Hagimoto N, Matsuba T, Nakanishi Y, et al. Detection of adenovirus E1A DNA in pulmonary fibrosis using nested polymerase chain reaction. Eur Respir J 1997; 10:1445-1449.

181. Stewart JP, Egan JJ, Ross AJ, Kelly BG, Lok SS, Hasleton PS, et al. The detection of Epstein-Barr virus DNA in lung tissue from patients with idiopathic pulmonary fibrosis. Am J Respir Crit Care Med 1999; 159:1336-1341.

182. Egan JJ, Woodcock AA, Stewart JP. Viruses and idiopathic pulmonary fibrosis. Eur Respir J 1997; 10:1433-1437.

183. Egan JJ, Stewart JP, Hasleton PS, Arrand JR, Carroll KB, Woodcock AA. Epstein-Barr virus replication within pulmonary epithelial cells in cryptogenic fibrosing alveolitis. Thorax 1995; 50:1234-1239.

184. Iwai K, Mori T, Yamada N, Yamaguchi M, Hosoda Y. Idiopathic pulmonary fibrosis. Epidemiologic approaches to occupational exposure. Am J Respir Crit Care Med 1994; 150:670-675.

185. Fasske E. Pathogenesis of pulmonary fibrosis induced by chrysotile asbestos. Longitudinal light and electron microscopic studies on the rat model. Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol 1986; 408:329-346.

186. Davison AG, Haslam PL, Corrin B, Coutts II, Dewar A, Riding WD, et al. Interstitial lung disease and asthma in hard-metal workers: bronchoalveolar lavage, ultrastructural, and analytical findings and results of bronchial provocation tests. Thorax 1983; 38:119-128.

187. Gross P. Pulmonary fibrosis from amorphous silica dust. Arch Environ Health 1978; 33:100

188. Weiss W. Presentation of data on pulmonary fibrosis and cigarette smoking. Am J Ind Med 1984; 5:417-421.

189. Weiss W. Cigarette smoking and diffuse pulmonary fibrosis. A preliminary report. Arch Environ Health 1967; 14:564-568.

190. Weiss W. Cigarette smoking and diffuse pulmonary fibrosis. Am Rev Respir Dis 1969; 99:67-72.

191. Baumgartner KB, Samet JM, Stidley CA, Colby TV, Waldron JA. Cigarette smoking: a risk factor for idiopathic pulmonary fibrosis. Am J Respir Crit Care Med 1997; 155:242-248.

192. Scadding JG, Hinson KF. Diffuse fibrosing alveolitis (diffuse interstitial fibrosis of the lungs). Correlation of histology at biopsy with prognosis. Thorax 1967; 22:291-304.

193. Basset F, Ferrans VJ, Soler P, Takemura T, Fukuda Y, Crystal RG. Intraluminal fibrosis in interstitial lung disorders. Am J Pathol 1986; 122:443-461.

194. Harrison NK, Myers AR, Corrin B, Soosay G, Dewar A, Black CM, et al. Structural features of interstitial lung disease in systemic sclerosis. Am Rev Respir Dis 1991; 144:706-713.

195. Yousem SA, Colby TV, Carrington CB. Lung biopsy in rheumatoid arthritis. Am Rev Respir Dis 1985; 131:770-777.

196. Leroy EP. The blood-air barrier in desquamative interstitial pneumonia (D.I.P.). Virchows Arch Pathol Anat Physiol Klin Med 1969; 348:117-130.

197. Kuhn C, McDonald JA. The roles of the myofibroblast in idiopathic pulmonary fibrosis. Ultrastructural and immunohistochemical features of sites of active extracellular matrix synthesis. Am J Pathol 1991; 138:1257-1265.

198. Davies D, MacFarlane A, Darke CS, Dodge OG. Muscular hyperplasia ("cirrhosis") of the lung and bronchial dilatations as features of chronic diffuse fibrosing alveolitis. Thorax 1966; 21:272-289.

199. Taderera JV. Control of lung differentiation in vitro. Dev Biol 1967; 16:489-512.

200. Nash JR, McLaughlin PJ, Hoyle C, Roberts D. Immunolocalization of tumour necrosis factor alpha in lung tissue from patients dying with adult respiratory distress syndrome. Histopathology 1991; 19:395-402.

201. Kallenberg CG, Schilizzi BM, Beaumont F, De Leij L, Poppema S, The TH. Expression of class II major histocompatibility complex antigens on alveolar epithelium in interstitial lung disease: relevance to pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. J Clin Pathol 1987; 40:725-733.

202. Turner-Warwick M, Lebowitz M, Burrows B, Johnson A. Cryptogenic fibrosing alveolitis and lung cancer. Thorax 1980; 35:496-499.

203. Panos RJ, Mortenson RL, Niccoli SA, King TE, Jr. Clinical deterioration in patients with idiopathic pulmonary fibrosis: causes and assessment. Am J Med 1990; 88:396-404.

204. Kuwano K, Kunitake R, Kawasaki M, Nomoto Y, Hagimoto N, Nakanishi Y, et al. P21Waf1/Cip1/Sdi1 and p53 expression in association with DNA strand breaks in idiopathic pulmonary fibrosis. Am J Respir Crit Care Med 1996; 154:477-483.

205. Griffin JP. Interstitial pulmonary fibrosis and lung cancer. Chest 1995; 108:1193-1194.

206. Fraire AE, Greenberg SD. Carcinoma and diffuse interstitial fibrosis of lung. Cancer 1973; 31:1078-1086.

207. Fox B, Risdon RA. Carcinoma of the lung and diffuse interstitial pulmonary fibrosis. J Clin Pathol 1968; 21:486-491.

208. Tesluk H, Ikeda RM. Pulmonary carcinoma originating in chronic diffuse interstitial fibrosis of the lung. Chest 1970; 57:386-388.

209. Mizushima Y, Kobayashi M. Clinical characteristics of synchronous multiple lung cancer associated with idiopathic pulmonary fibrosis. A review of Japanese cases. Chest 1995; 108:1272-1277.

210. Kawai T, Yakumaru K, Suzuki M, Kageyama K. Diffuse interstitial pulmonary fibrosis and lung cancer. Acta Pathol Jpn 1987; 37:11-19.

211. Ripstein CB, Spain DM, Bluth I. Scar cancer of the lung. J Thorac Cardiovasc Surg 1968; 56:362-370.

212. Wells C, Mannino DM. Pulmonary fibrosis and lung cancer in the United States: analysis of the multiple cause of death mortality data, 1979 through 1991. South Med J 1996; 89:505-510.

213. Haddad R, Massaro D. Idiopathic diffuse interstitial pulmonary fibrosis (fibrosing alveolitis), atypical epithelial proliferation and lung cancer. Am J Med 1968; 45:211-219.

214. Kirishima K, Satoh H, Yamashita YT, Ohtsuka M, Sekizawa K. Unilateral metachronous lung cancers in a patient with idiopathic pulmonary fibrosis. Oncol Rep 1999; 6:763-765.

215. Nagai A, Chiyotani A, Nakadate T, Konno K. Lung cancer in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. Tohoku J Exp Med 1992; 167:231-237.

216. Jones AW. Alveolar cell carcinoma occurring in idiopathic interstitial pulmonary fibrosis. Br J Dis Chest 1970; 64:78-84.

217. Meyer R, Leibow A. Relatonship of interstitial pneumonia honeycombing and atypical epithelial proliferation to cancer of the lung. Cancer 1965; 18:83-95.

218. Franchi LM, Chin TW, Nussbaum E, Riker J, Robert M, Talbert WM. Familial pulmonary nodular lymphoid hyperplasia. J Pediatr 1992; 121:89-92.

219. Buchino JJ, Keenan WJ, Algren JT, Bove KE. Familial desquamative interstitial pneumonitis occurring in infants. Am J Med Genet Suppl 1987; 3:285-91:285-291.

220. Farrell PM, Gilbert EF, Zimmerman JJ, Warner TF, Saari TN. Familial lung disease associated with proliferation and desquamation of type II pneumonocytes. Am J Dis Child 1986; 140:262-266.

221. O'Brodovich HM, Moser MM, Lu L. Familial lymphoid interstitial pneumonia: a long-term follow-up. Pediatrics 1980; 65:523-528.

222. Knudson AG, Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. Proc Natl Acad Sci U S A 1971; 68:820-823.

223. Lasko D, Cavenee W, Nordenskjold M. Loss of constitutional heterozygosity in human cancer. Annu Rev Genet 1991; 25:281-314:281-314.

224. Knudson AG, Jr. Genetics of human cancer. Annu Rev Genet 1986; 20:231-251.

225. Knudson AG, Jr., Strong L. Mutation and cancer: A model for Wilms tumor of the kidney. J Natl Cancer Inst 1972; 48:313-324.

226. Harris H, Klein G. Malignancy of somatic cell hybrids. Nature 1969; 224:1314-1316.

227. Stoler A, Bouck N. Identification of a single chromosome in the normal human genome essential for suppression of hamster cell transformation. Proc Natl Acad Sci U S A 1985; 82:570-574.

228. Saxon PJ, Srivatsan ES, Stanbridge EJ. Introduction of human chromosome 11 via microcell transfer controls tumorigenic expression of HeLa cells. EMBO J 1986; 5:3461-3466.

229. Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. Am J Hum Genet 1980; 32:314-331.

230. Dunn JM, Phillips RA, Zhu X, Becker A, Gallie BL. Mutations in the RB1 gene and their effects on transcription. Mol Cell Biol 1989; 9:4596-4604.

231. Spandidos DA. A unified theory for the development of cancer. Biosci Rep 1986; 6:691-708.

232. Loeb LA. Microsatellite instability: marker of a mutator phenotype in cancer. Cancer Res 1994; 54:5059-5063.

233. Aaltonen LA, Peltomaki P, Leach FS, Sistonen P, Pylkkanen L, Mecklin JP, et al. Clues to the pathogenesis of familial colorectal cancer. Science 1993; 260:812-816.

234. Ionov Y, Peinado MA, Malkhosyan S, Shibata D, Perucho M. Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis. Nature 1993; 363:558-561.

235. Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. Science 1993; 260:816-819.

236. Shibata D, Peinado MA, Ionov Y, Malkhosyan S, Perucho M. Genomic instability in repeated sequences is an early somatic event in colorectal tumorigenesis that persists after transformation. Nat Genet 1994; 6:273-281.

237. Risinger JI, Berchuck A, Kohler MF, Watson P, Lynch HT, Boyd J. Genetic instability of microsatellites in endometrial carcinoma. Cancer Res 1993; 53:5100-5103.

238. Shridhar V, Siegrfied J, Hunt J, Alonso MM, Smith DI. Genetic Instability of Microsatellite sequences in many non-small cell lung carcinomas. Cancer Res 1994; 54:2084-2087.

239. Yee CJ, Roodi N, Verrier CS, Parl FF. Microsatellite instability and loss of heterozygosity in breast cancer. Cancer Res 1994; 54:1641-1644.

240. Spandidos DA, Siminovitch L. The relationship between transformation and somatic mutation in human and Chinese hamster cells. Cell 1978; 13:651-662.

241. Weber JL, May PE. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. Am J Hum Genet 1989; 44:388-396.

242. Radman M, Wagner R. Mismatch recognition in chromosomal interactions and speciation. Chromosoma 1993; 102:369-373.

243. Schlotterer C, Tautz D. Slippage synthesis of simple sequence DNA. Nucleic Acids Res 1992; 20:211-215.

244. Parsons R, Li GM, Longley MJ, Fang WH, Papadopoulos N, Jen J, et al. Hypermutability and mismatch repair deficiency in RER+ tumor cells. Cell 1993; 75:1227-1236.

245. Snell RG, MacMillan JC, Cheadle JP, Fenton I, Lazarou LP, Davies P, et al. Relationship between trinucleotide repeat expansion and phenotypic variation in Huntington's disease [see comments]. Nat Genet 1993; 4:393-397.

246. Yu S, Pritchard M, Kremer E, Lynch M, Nancarrow J, Baker E, et al. Fragile X genotype characterized by an unstable region of DNA. Science 1991; 252:1179-1181.

247. Fu YH, Pizzuti A, Fenwick RG, Jr., King J, Rajnarayan S, Dunne PW, et al. An unstable triplet repeat in a gene related to myotonic muscular dystrophy. Science 1992; 255:1256-1258.

248. Hatzistamou J, Kiaris H, Ergazaki M, Spandidos DA. Loss of heterozygosity and microsatellite instability in human atherosclerotic plaques. Biochem Biophys Res Commun 1996; 225:186-190.

249. Spandidos DA, Ergazaki M, Arvanitis D, Kiaris H. Microsatellite instability in human atherosclerotic plaques. Biochem Biophys Res Commun 1996; 220:137-140.

250. Kiaris H, Hatzistamou J, Spandidos DA. Instability at the H-ras minisatellite in human atherosclerotic plaques. Atherosclerosis 1996; 125:47-51.

251. Detorakis ET, Sourvinos G, Tsamparlakis J, Spandidos DA. Evaluation of loss of heterozygosity and microsatellite instability in human pterygium: clinical correlations. Br J Ophthalmol 1998; 82:1324-1328.

252. Spandidos DA, Sourvinos G, Kiaris H, Tsamparlakis J. Microsatellite instability and loss of heterozygosity in human pterygia. Br J Ophthalmol 1997; 81:493-496.

253. Kiaris H, Koumantakis E, Ergazaki M, Spandidos DA. Microsatellite instability in aborted embryos. Mol Hum Reprod 1996; 2:72-74.

254. Kiaris H, Ergazaki M, Spandidos DA. Instability at the H-ras minisatellite is associated with the spontaneous abortion of the embryo. Biochem Biophys Res Commun 1995; 214:788-792.

255. Siafakas NM, Tzortzaki EG, Sourvinos G, Bouros D, Tzanakis N, Kafatos A, et al. Microsatellite DNA instability in COPD. Chest 1999; 116:47-51.

256. Spandidos DA, Ergazaki M, Hatzistamou J, Kiaris H, Bouros D, Tzortzaki EG, et al. Microsatellite intability in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Oncol Rep 1996; 3:489-491.

257. Froudarakis ME, Sourvinos G, Fournel P, Bouros D, Vergnon JM, Spandidos DA, et al. Microsatellite instability and loss of heterozygosity at chromosomes 9 and 17 in non-small cell lung cancer. Chest 1998; 113:1091-1094.

258. Miozzo M, Sozzi G, Musso K, Pilotti S, Incarbone M, Pastorino U, et al. Microsatellite alterations in bronchial and sputum specimens of lung cancer patients. Cancer Res 1996; 56:2285-2288.

259. Fong KM, Zimmerman PV, Smith PJ. Microsatellite instability and other molecular abnormalities in non- small cell lung cancer. Cancer Res 1995; 55:28-30.

260. Ryberg D, Lindstedt BA, Zienolddiny S, Haugen A. A hereditary genetic marker closely associated with microsatellite instability in lung cancer. Cancer Res 1995; 55:3996-3999.

261. Merlo A, Mabry M, Gabrielson E, Vollmer R, Baylin SB, Sidransky D. Frequent microsatellite instability in primary small cell lung cancer. Cancer Res 1994; 54:2098-2101.

262. Mao L, Lee D, Tockman M, Erozan Y, Askin F, et al. MIcrosatellite alterations as clonal markers of the detection of human cancer. Proc Natl Acad Sci 1994; 91:9871-9875.

263. Sozzi G, Veronese ML, Negrini M, Baffa R, Cotticelli MG, Inoue H, et al. The FHIT gene 3p14.2 is abnormal in lung cancer. Cell 1996; 85:17-26.

264. Fong KM, Kida Y, Zimmerman PV, Ikenaga M, Smith PJ. Loss of heterozygosity frequently affects chromosome 17q in non-small cell lung cancer. Cancer Res 1995; 55:4268-4272.

265. Kishimoto Y, Sugio K, Hung JY, Virmani AK, McIntire DD, Minna JD, et al. Allele-specific loss in chromosome 9p loci in preneoplastic lesions accompanying non-small-cell lung cancers. J Natl Cancer Inst 1995; 87:1224-1229.

266. Rasio D, Negrini M, Manenti G, Dragani TA, Croce CM. Loss of heterozygosity at chromosome 11q in lung adenocarcinoma: identification of three independent regions. Cancer Res 1995; 55:3988-3991.

267. Hung J, Kishimoto Y, Sugio K, Virmani A, McIntire DD, Minna JD, et al. Allele-specific chromosome 3p deletions occur at an early stage in the pathogenesis of lung carcinoma [published erratum appears in JAMA 1995 Jun 28;273(24):1908]. JAMA 1995; 273:558-563.

268. Thiberville L, Bourguignon J, Metayer J, Bost F, Diarra-Mehrpour M, Bignon J, et al. Frequency and prognostic evaluation of 3p21-22 allelic losses in non-small-cell lung cancer. Int J Cancer 1995; 64:371-377.

269. Merlo A, Gabrielson E, Mabry M, Vollmer R, Baylin SB, Sidransky D. Homozygous deletion on chromosome 9p and loss of heterozygosity on 9q, 6p, and 6q in primary human small cell lung cancer. Cancer Res 1994; 54:2322-2326.

270. Merlo A, Gabrielson E, Askin F, Sidransky D. Frequent loss of chromosome 9 in human primary non-small cell lung cancer. Cancer Res 1994; 54:640-642.

271. Crystal RG, Bitterman PB, Rennard SI, et al. Interstitial lung diesases of unknown cause. Disorders characterized by chronic inflamation of the lower respiratory tract. N Engl J Med 1984; 310:154-166-235-244.

272. Anderson MLM, Spandidos DA. Oncogenes and onco-suppresor genes in lung cancer. Resp Med 1993; 87:413-420.

273. Sourvinos G, Kiaris H, Tsikkinis A, Vassilaros S, Spandidos DA. Microsatellite instability and loss of heterozygosity in primary breast tumours. Tumour Biol 1997; 18:157-166.

274. Flournoy DJ. Sputum specimen quality. Chest 1994; 106:1930

275. Maniatis T, Fritsch E, Somebrook J. Molecular cloning, a laboratory manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1982.

276. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, et al. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. Science 1988; 239:487-491.

277. Siebert PD, Larrick JW. Competitive PCR. Nature 1992; 359:557-558.

278. Kiaris H, Spanakis N, Ergazaki M, Sourvinos G, Spandidos DA. Loss of heterozygosity at 9p and 17q in human laryngeal tumors. Cancer Lett 1995; 97:129-134.

279. Chung YJ, Park SW, Song JM, Lee KY, Seo EJ, Choi SW, et al. Evidence of genetic progression in human gastric carcinomas with microsatellite instability. Oncogene 1997; 15:1719-1726.

280. Buonsanti G, Calistri D, Padovan L, Luinetti O, Fiocca R, Solcia E, et al. Microsatellite instability in intestinal- and diffuse-type gastric carcinoma. J Pathol 1997; 182:167-173.

281. Lin JT, Wu MS, Shun CT, Lee WJ, Wang JT, Wang TH, et al. Microsatellite instability in gastric carcinoma with special references to histopathology and cancer stages. Eur J Cancer 1995; 31A:1879-1882.

282. Lin JT, Wu MS, Shun CT, Lee WJ, Sheu JC, Wang TH. Occurrence of microsatellite instability in gastric carcinoma is associated with enhanced expression of erbB-2 oncoprotein. Cancer Res 1995; 55:1428-1430.

283. Chong JM, Fukayama M, Hayashi Y, Takizawa T, Koike M, Konishi M, et al. Microsatellite instability in the progression of gastric carcinoma. Cancer Res 1994; 54:4595-4597.

284. Liu B, Farrington SM, Petersen GM, Hamilton SR, Parsons R, Papadopoulos N, et al. Genetic instability occurs in the majority of young patients with colorectal cancer. Nat Med 1995; 1:348-352.

285. Peltomaki P, Lothe RA, Aaltonen LA, Pylkkanen L, Nystrom-Lahti M, Seruca R, et al. Microsatellite instability is associated with tumors that characterize the hereditary non-polyposis colorectal carcinoma syndrome. Cancer Res 1993; 53:5853-5855.

286. Eshleman JR, Markowitz SD, Donover PS, Lang EZ, Lutterbaugh JD, Li GM, et al. Diverse hypermutability of multiple expressed sequence motifs present in a cancer with microsatellite instability. Oncogene 1996; 12:1425-1432.

287. Godwin AK, Vanderveer L, Schultz DC, Lynch HT, Altomare DA, Buetow KH, et al. A common region of deletion on chromosome 17q in both sporadic and familial epithelial ovarian tumors distal to BRCA1. Am J Hum Genet 1994; 55:666-677.

288. Field JK, Kiaris H, Howard P, Vaughan ED, Spandidos DA, Jones AS. Microsatellite instability in squamous cell carcinoma of the head and neck. Br J Cancer 1995; 71:1065-1069.

289. Jeffreys AJ, Royle NJ, Wilson V, Wong Z. Spontaneous mutation rates to new length alleles at tandem-repetitive hypervariable loci in human DNA. Nature 1988; 332:278-281.

290. Weissenbach J, Gyapay G, Dib C, Vignal A, Morissette J, Millasseau P, et al. A second-generation linkage map of the human genome. Nature 1992; 359:794-801.

291. Mori T, Aoki T, Matsubara T, Iida F, Du X, Nishihira T, et al. Frequent loss of heterozygosity in the region including BRCA1 on chromosome 17q in squamous cell carcinomas of the esophagus. Cancer Res 1994; 54:1638-1640.

292. Gao X, Zacharek A, Salkowski A, Grignon DJ, Sakr W, Porter AT, et al. Loss of heterozygosity of the BRCA1 and other loci on chromosome 17q in human prostate cancer. Cancer Res 1995; 55:1002-1005.

293. Vassilakis DA, Sourvinos G, Markatos M, Psathakis K, Spandidos DA, Siafakas NM, et al. Microsatellite instability and loss of heterozygosity in pulmonary sarcoidosis. Am J Respir Crit Care Med 1999; In press.

294. Lerebours F, Olschwang S, Thuille B, Schmitz A, Fouchet P, Buecher B, et al. Fine deletion mapping of chromosome 8p in non-small-cell lung carcinoma. Int J Cancer 1999; 81:854-858.

295. Katzenstein AA, Myers J. Idiopathic pulmonary fibrosis. Clinical relevance of pathologic classification. Am J Respir Crit Care Med 1998; 157: 1301-1315

Επίσης χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω πηγές:

Α. Ελληνικά

a. Διάμεσες διηθητικές πνευμονοπάθειες, Εκδόσεις Ελληνικής Πνευμονολογικής Εταιρία, Αθήνα 1994

b. Διάμεσες Πνευμονοπάθειες, στο: Εκπαιδευτικά Σεμινάρια 9ου Πανελληνίου Συνεδρίου Νοσημάτων Θώρακος, Ελληνική Ιατρική, 63: (suppl 3): 433-521

c. Κλινική Πνευμονολογία, Δ. Πολυζωγόπουλος, Β. Πολυχρονόπουλος, Ιατρικές Εκδόσεις Πασχαλίδη, Αθήνα 1993

d. Η συμβολή της διαβρογχικής βιοψίας στη μελέτη των διαχύτων διαμέσων πνευμονοπαθειών. Μπούρος Δ. , Διδακτορική Διατριβή, Αθήνα 1985

e. Γενετικές και μοριακές αλλοιώσεις του γονιδίου BRCA1 στον καρκίνο του μαστού. Σουρβίνος Γ., Διδακτορική Διατριβή, Ηράκλειο 1998

f. Ανίχνευση K-ras μεταλλάξεων και αστάθεια μικροδορυφορικού DNA στο βρογχογενή καρκίνο. Φρουδαράκης Μ., Διδακτορική Διατριβή, Ηράκλειο 1997

g. Σαρκοείδωση: Επιδημιολογία, Κλινική έκφραση, Διάγνωση, Θεραπευτική αντιμετώπιση, Μπούρος Δ., Σεμινάρια Εσωτερικής Παθολογίας 1(3):171-189,1994

Β. Ξενόγλωσσα

h. Interstitial Lung Disease. Schwarz M., King T. 3rd ed., Decker, London 1998

i. Pulmonary Diseases and Disorders. Fishman A. 3rd ed., McGraw-Hill, 1998

j. Textbook of Respiratory Medicine. Murray J., Nadel J. 2nd ed., Saunders, 1994

k. Synopsis of Diseases of the Chest. R. Fraser, P. Pare, R. Fraser, P. Pare. 2nd ed., Saunders, 1994

l. Taschenatlas der Physiologie, Silbernagl S., Despopoulos A. 2. Auflage, Thieme, 1983

m. The Ciba Collection Vol. 7: Respiratory System, F. Netter, Ciba-Geigy Corporation, 1980

n. Das Bronchialkarzinom and andere bronchopulmonale Tumoren. R. Loddenkemper, Kohlhammer Verlag, 1998

ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ