

# Δελτίο

Α' Παιδιατρικής Κλινικής  
Πανεπιστημίου Αθηνών

20  
18

ΤΟΜΟΣ 68,  
ΤΕΥΧΟΣ 2,  
ΑΠΡΙΛΙΟΣ,  
ΜΑΪΟΣ,  
ΙΟΥΝΙΟΣ

ISSN: 1792 - 0256



Άρθρο ειδικού ενδιαφέροντος	1
Άρθρο ανασκόπησης	12
Ερευνητική εργασία	21
Κλινική μελέτη	34
Από την ιστορία της Παιδιατρικής	40

## Annals of Clinical Pediatrics of the University of Athens

Article of special interest	1
Review	12
Research Study	21
Clinical Study	34
Archives of Pediatrics	40

# Αφήστε την Zita να απογειώσει την εικόνα & τις πωλήσεις σας



Η **Zita Digital Management** είναι το It τμήμα του **Ομίλου Zita**. Οι εξειδικευμένες υπηρεσίες της στοχεύουν στην πλήρη αξιοποίηση των Social Media και του Digital Marketing, σημαντικά εργαλεία για τη διαφήμιση και την προβολή επιχειρήσεων αλλά και μεμονωμένων επαγγελματιών. Η πολύχρονη, πάνω από 36 χρόνια, δραστηριότητα της Zita σε όλο το φάσμα της επικοινωνίας και του marketing, το έμπειρο και εξειδικευμένο προσωπικό, η πιστοποίηση με **ISO 9001** και **ISO 14001**, καθώς και η διεθνής παρουσία του ομίλου και στις 5 ηπείρους, καθιστούν την Zita Digital Management τον πλέον αξιόπιστο συνεργάτη, για κάθε οργανισμό και επαγγελματία που αποφασίζει να αξιοποιήσει το ηλεκτρονικό marketing για την προβολή και ανάπτυξη της επιχείρησής του.

- Διαφημιστικές Εκστρατείες
- Διαχείριση Social Media
- Διαφήμιση Social Media
- Google Adwords
- Content Marketing
- Εκπαίδευση Στελεχών
- Social Media
- SEO
- Google Ads
- Website Design & Development
- Λήψη και Επεξεργασία Βίντεο & Φωτογραφίας για Διαδικτυακή Χρήση
- On-site/page text optimization
- Εταιρική Ταυτότητα
- Graphic Design
- E-mail Marketing



**Επικοινωνήστε μαζί μας για ένα ενημερωτικό ραντεβού, θα σας κοστίσει... τίποτα**

[www.zitadigitalmanagement.com](http://www.zitadigitalmanagement.com)

Αλέξανδρος Πρίφτης

Ομήρου 29, Πέτα Σαρωνικού, 190 01, Τηλ: +30 22994 40966,

E-mail: [a.priftis@zita-management.com](mailto:a.priftis@zita-management.com)

20  
18ΤΟΜΟΣ 68,  
ΤΕΥΧΟΣ 2,  
ΑΠΡΙΛΙΟΣ,  
ΜΑΪΟΣ,  
ΙΟΥΝΙΟΣ

# Δελτίο

## Α' Παιδιατρικής Κλινικής Πανεπιστημίου Αθηνών

ΤΡΙΜΗΝΙΑΙΟ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΕΡΙΟΔΙΚΟ ΜΕ ΕΘΝΙΚΗ ΑΝΑΓΝΩΡΙΣΗ  
ΦΕΚ 19/16-1-1985, ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΠΑΙΔΩΝ «Η ΑΓΙΑ ΣΟΦΙΑ»

### ΙΔΙΟΚΤΗΤΗΣ

Α' ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ  
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ  
ΑΘΗΝΩΝ - ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ  
ΠΑΙΔΩΝ  
«Η ΑΓΙΑ ΣΟΦΙΑ»

### PUBLISHED BY:

**ZITA**  
MEDICAL  
MANAGEMENT

### ZITA MEDICAL MANAGEMENT S.A.

Ομήρου 29, Πέτα Σαρωνικού  
+30 22994 40962,  
E-mail: g.kouloumpis@  
zitamanagement.com

**Εικόνα εξωφύλλου:** Αρχαίο  
ελληνικό άγαλμα με τίτλο «Statue  
of a Child», 200 - 300 μ.Χ., ύψος  
33,02 cm, έκθεμα στο μουσείο «Los  
Angeles County Museum of Art»

### ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ ΣΥΝΤΑΞΗΣ

Χριστίνα Κανακά - Gantenbein

### ΕΠΙΤΙΜΟΣ ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ ΣΥΝΤΑΞΗΣ

Γεώργιος Π. Χρούσος

### ΑΝ. ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ ΣΥΝΤΑΞΗΣ

Μαρία Θεοδωρίδου

### ΕΠΙΤΙΜΗ ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Χρήστος Καττάμης  
Ελευθερία ΡώμαΒασιλική Συριοπούλου  
Χρύσα Τζουμάκα-Μπακούλα

### ΜΕΛΗ ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

Ευαγγελία Χαρμανδάρη  
Αντώνης Καττάμης  
Σουλτάνα Σιαχανίδου  
Βασιλική Σπούλου  
Αθανάσιος Μίχος  
Αθανάσιος Καδίτης  
Μαρία - Ροζέ Πονς Ροντριγκεθ  
Δέσποινα ΜπριάναΠαναγιώτα Περβανίδου  
Μαρία Μοσχόβη  
Φλώρα Μπακοπούλου  
Εμμανουήλ Ζουμάκης  
Χρήστος Γιαπιτζάκης  
Αδαμαντία Μαλλιαρού  
Ειρήνη Ορφανού  
Αθανασία ΛουρίδαΑλεξάνδρα Παπαδοπούλου  
Ευαγγελία Λυκοπούλου  
Θεώνη Πετροπούλου  
Αντίνα Σάντου  
Άννα Σκιαθίτου  
Ευανθία Μπότσα  
Ελισάβετ Γεωργιάδου

### ΔΙΕΘΝΗΣ ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΤΟΥ «ΔΕΛΤΙΟΥ Α' ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΠΑΝ. ΑΘΗΝΩΝ»

- |   |  |
|---|--|
| 1. Stylianos Antonarakis (Γενεύη, Ελβετία)    | 13. Olga Kordonouri (Ανόβερο, Γερμανία)            |
| 2. Alexis Arzimanoglou (Λυόν, Γαλλία)         | 14. Hugo Lagercrantz (Στοκχόλμη, Σουηδία)          |
| 3. Peter Bader (Φρανκφούρτη, Μείν, Γερμανία)  | 15. Maria New (Νέα Υόρκη, ΗΠΑ)                     |
| 4. Tadej Battelino (Λουμπλιάνα, Σλοβενία)     | 16. Constantine Stratakis (Βηθεσδά, ΗΠΑ)           |
| 5. Margherita Bonamico (Ρώμη, Ιταλία)         | 17. Charalambos Pothoulakis (Λος Άντζελες, ΗΠΑ)    |
| 6. Athos Busvaros (Βοστώνη, Μασαχουσέτη, ΗΠΑ) | 18. Manuel Roig (Βαρκελώνη, Ισπανία)               |
| 7. Claudia Chiriboga (Νέα Υόρκη, ΗΠΑ)         | 19. Dimitrios Spentzos (Βοστώνη, ΗΠΑ)              |
| 8. George Coukos (Φιλαδέλφεια, ΗΠΑ)           | 20. Thomas Walsh (Βηθεσδά, ΗΠΑ)                    |
| 9. Basil Daras (Βοστώνη, ΗΠΑ)                 | 21. Michael Wessels (Βοστώνη, ΗΠΑ)                 |
| 10. Raif Geha (Βοστώνη, ΗΠΑ)                  | 22. Theoklis Zaoutis (Φιλαδέλφεια, ΗΠΑ)            |
| 11. Donald Greydanus (Μίτσιγκαν, ΗΠΑ)         | 23. Stergios Zacharoulis (Σάτον, Ηνωμένο Βασίλειο) |
| 12. Stella Kourembanas (Ανόβερο, Γερμανία)    | 24. Mary Zupanc (Γουϊσκόνησι, ΗΠΑ)                 |

### ΙΔΡΥΤΗΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΧΩΡΕΜΗΣ

### ΔΙΕΥΘΥΝΤΕΣ ΣΥΝΤΑΞΗΣ

Κ. Χωρέμης (1954 - 1965)

Α. Μεταξωτού (1999 - 2000)

Ν. Μασσανιώτης (1966 - 1993)

Γ. Χρούσος (2001-2018)

Χ. Καττάμης (1994-1998)

Χ. Κανακά - Gantenbein (2019-)

Οι εργασίες που υποβάλλονται προς κρίση για δημοσίευση να αποστέλλονται στην ηλεκτρονική διεύθυνση [annalsofclinicalpediatrics@gmail.com](mailto:annalsofclinicalpediatrics@gmail.com)

**ΕΤΗΣΙΑ ΣΥΝΔΡΟΜΗ: ΓΙΑΤΡΟΙ 30€, ΦΟΙΤΗΤΕΣ 20€, ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΥΠΡΟ 30€**

Παρακαλούνται οι κ.κ. συνδρομητές να στέλνουν τη συνδρομή τους στη Διευθύντρια-Καθηγήτρια Χριστίνα Κανακά-Gantenbein - Α.Π.Κ.Π.Α. - Νοσοκομείο Παιδών «Η Αγία Σοφία», Γουδή, 11527 Αθήνα, τηλ. 210 7794023

20  
18

TOMOS 68,  
TEYXOS 2,  
APRIL,  
MAY,  
JUNE

# Annals

## of Clinical Pediatrics

## of the University of Athens

THREEMONTHLY NATIONAL CERTIFIED SCIENTIFIC JOURNAL  
GREEK OFFICIAL JOURNAL 19/16 - 1 - 1985, "AGHIA SOPHIA" CHILDREN'S HOSPITAL

### OWNER

FIRST DEPARTMENT  
OF PAEDIATRICS, ATHENS  
UNIVERSITY - «AGHIA  
SOPHIA» CHILDREN'S  
HOSPITAL, ATHENS,  
GREECE

### EDITOR-IN-CHIEF

**Christina Kanaka–Gantenbein**

### HONORARY EDITOR-IN-CHIEF

**George P. Chrousos**

### ASSOCIATE CHIEF EDITOR

**Maria Theodoridou**

### HONORARY EDITORS

Christos Kattamis  
Eleftheria Roma

Vasiliki Syriopoulou  
Chrysa Tzoumaka-Bakoula

### EDITORIAL BORD

Evagelia Charmandari	Panagiota Pervanidou	Alexandra Papadopoulou
Antonis Kattamis	Maria Moschovi	Evagelia Lykopoulou
Sultana Siahaniidou	Flora Bacopoulou	Theoni Petropoulou
Vasiliki Spoulou	Emmanouil Zoumakis	Antina Sandou
Athanasios Michos	Christos Yapijakis	Anna Skiathitou
Athanasios Kaditis	Adamandia Malliarou	Evanthia Botsa
Maria-Roze Pons Rodrigeth	Eirini Orfanou	Elisavet Georgiadou
Despina Briana	Athanasia Lourida	

### INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD FOR "ANNALES OF CLINICAL PAEDIATRICS"

- |  |   |
|--|---|
| 1. Stylianos Antonarakis (Geneva, Switzerland) | 13. Olga Kordonouri (Hannover, Germany)           |
| 2. Alexis Arzimanoglou (Lyon, France)          | 14. Hugo Lagercrantz (Stocholm, Sweden)           |
| 3. Peter Bader (Frankfurt, Main, Germany)      | 15. Maria New (New York, USA)                     |
| 4. Tadej Battelino (Ljubljana, Slovenia)       | 16. Constantine Stratakis (Bethesda, USA)         |
| 5. Margherita Bonamico (Rome, Italy)           | 17. Charalambos Pothoulakis (Los Angeles, USA)    |
| 6. Athos Busvaros (Boston, Massachusetst, USA) | 18. Manuel Roig (Barcelona, Spain)                |
| 7. Claudia Chiriboga (New York, USA)           | 19. Dimitrios Spentzos (Boston, USA)              |
| 8. George Coukos (Philadelphia, USA)           | 20. Thomas Walsh (Bethesda, USA)                  |
| 9. Basil Daras (Boston, USA)                   | 21. Michael Wessels (Boston, USA)                 |
| 10. Raif Geha (Boston, USA)                    | 22. Theoklis Zaoutis (Philadelphia, USA)          |
| 11. Donald Greydanus (Michigan, USA)           | 23. Stergios Zacharoulis (Sutton, United Kingdom) |
| 12. Stella Kourembanas (Hannover, Germany)     | 24. Mary Zupanc (Wisconsin, USA)                  |

### FOUNDER KONSTANTINOS CHOREMIS

### EDITORIAL DIRECTORS

K. Choremis (1954 – 1965)	A. Metaxotou (1999 – 2000)
N. Matsaniotis (1966 - 1993)	G. Chrousos (2001 – 2018)
Ch. Kattamis (1994 – 1998)	C. Kanaka – Gantenbein (2019 - )

### PUBLISHED BY:



### ZITA MEDICAL MANAGEMENT S.A.

Omirou 29, Peta Saronikou  
+30 22994 40962,  
E - mail: g.kouloumpis@  
zitamanagement.com

*Cover image: Greek ancient statue  
with title «Statue of a Child», Eastern  
Mediterranean, 200 - 300 A.D., Height  
13 in. (33.02 cm), current location in the  
Los Angeles County Museum of Art*

Manuscripts for publication should be submitted to the e-mail address:  
[annalsofclinicalpediatrics@gmail.com](mailto:annalsofclinicalpediatrics@gmail.com)

**ANNUAL SUBSCRIPTION: DOCTORS 30€ , STUDENTS 20€ , FOR CYPRUS 30€**

The subscribers are requested to send their subscription to Professor Christina Kanaka-Gantenbein, Chairwoman, First Department of Paediatrics, University of Athens - «Aghia Sophia» Children's Hospital, Goudi, 115 27 Athens, Greece, Tel. +30 210 7794023

# Οδηγίες προς τους συγγραφείς

Το ΔΕΛΤΙΟ Α' ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ εκδίδεται από την ομώνυμη κλινική και έχει ως στόχο την ενημέρωση και επιμόρφωση των παιδιάτρων, καθώς και την αποτύπωση του κλινικού και ερευνητικού έργου που επιτελείται στην κλινική ή σε άλλα κέντρα που ασχολούνται με την υγεία του παιδιού.

Για τον σκοπό αυτό δημοσιεύει:

- 1) Άρθρα σύνταξης.** Σύντομα ανασκοπικά ή ενημερωτικά άρθρα σχετικά με επίκαιρα θέματα, νέες εξελίξεις και σχόλια για εργασίες δημοσιεύμενες στον ελληνικό Τύπο.
- 2) Πρωτότυπες ερευνητικές εργασίες ή κλινικοεργαστηριακές μελέτες.** Έχουν ελληνική και αγγλική περίληψη και την απολύτως απαραίτητη βιβλιογραφία.
- 3) Ανασκοπήσεις.** Ολοκληρωμένες αναλύσεις παιδιατρικών θεμάτων. Γράφονται από το πολύ δύο συγγραφείς, δεν ξεπερνούν τις 15 - 25 δακτυλογραφημένες σελίδες, έχουν ελληνική και αγγλική περίληψη και οι βιβλιογραφικές παραπομπές δεν ξεπερνούν τις 70.
- 4) Ενδιαφέρουσες περιπτώσεις.** Αναφέρονται σε νέα ή σπάνια νοσήματα των οποίων η καταγραφή προσφέρει νέες πληροφορίες και γνώσεις. Έχουν ελληνική και αγγλική περίληψη, την απολύτως απαραίτητη βιβλιογραφία και υπογράφονται από το πολύ πέντε συγγραφείς.
- 5) Γενικά θέματα** που έχουν σχέση με την υγεία του παιδιού και της οικογένειας, όπως και θέματα πρακτικής εκπαίδευσης και οργάνωσης υπηρεσιών.
- 6) Επίκαιρα θέματα.** Σύντομη περιγραφή, ενημέρωση νέων απόψεων και τάσεων σε συγκεκριμένα θέματα, με βιβλιογραφία.

Οι υποβαλλόμενες εργασίες πρέπει να συνοδεύονται από επιστολή στην οποία όλοι οι συγγραφείς δηλώνουν ότι: α) συμφωνούν με τις παρούσες «οδηγίες προς τους συγγραφείς», β) συμφωνούν να υποβάλλουν το άρθρο αυτό στο Δελτίο Παιδιατρικής, γ) όλοι οι συγγραφείς συμμετείχαν σε όλες τις φάσεις της εργασίας αυτής κατά τρόπο ουσιαστικό, δ) το άρθρο δεν δημοσιεύτηκε, ούτε θα δημοσιευτεί εν όλω ή εν μέρει σε άλλο έντυπο, μέχρι να ολοκληρωθεί η κρίση του στο Δελτίο Παιδιατρικής, ε) δεν υπάρχει σύγκρουση συμφερόντων μεταξύ των συγγραφέων ή μεταξύ αυτών και άλλων ιδρυμάτων ή ινστιτούτων, στ) όλες οι κλινικές έρευνες θα πρέπει να συνοδεύονται από γραπτή δήλωση των συγγραφέων ότι δόθηκε πληροφορημένη συναίνεση των μετεχόντων, όπως

επιβάλλεται από τη διακήρυξη του Ελσίνκι του 1975, με την αναθεώρηση του 2000, καθώς και ότι η επιτροπή αρμόδια για θέματα Ιατρικής Ηθικής του Ιδρύματος όπου τελέστηκε η εργασία έλεγξε και ενέκρινε το σχετικό πρωτόκολλο εργασίας, ζ) για πειράματα σε ζώα πρέπει να αναφέρεται η λήψη σχετικής άδειας από τις αρμόδιες υπηρεσίες του νοσοκομείου, ιδρύματος ή άλλης αρμόδιας Αρχής και ότι τηρήθηκαν οι αρχές της φροντίδας των ζώων.

## ΣΥΝΤΑΞΗ ΤΩΝ ΧΕΙΡΟΓΡΑΦΩΝ

Το Δελτίο Α' Παιδιατρικής Κλινικής Πανεπιστημίου Αθηνών δέχεται προς δημοσίευση κείμενα ή άρθρα τα οποία συμμορφώνονται προς τις απαιτήσεις της International Committee of Medical Editors (ICMJE) για τα κείμενα ή άρθρα που υποβάλλονται για δημοσίευση σε βιοϊατρικά περιοδικά (Uniform Requirements for Manuscripts -URM - Submitted to Biomedical Journals), με την αναθεώρηση του Νοεμβρίου του 2003 ([www.icmje.org](http://www.icmje.org)).

Το κείμενο δακτυλογραφείται με διπλό διάστημα και περιθώριο 2,5 εκατ. στις δύο πλευρές. Περιλαμβάνει: Σελίδα τίτλου, περίληψη στα ελληνικά και αγγλικά, λέξεις ευρητηριασμού, κείμενο, ευχαριστίες/αναφορές σε επιδοτήσεις - χορηγίες, βιβλιογραφία, πίνακες και εικόνες με τους αντίστοιχους υπότιτλους. Καθένα από τα ανωτέρω αρχίζει σε χωριστή σελίδα και οι σελίδες αριθμούνται διαδοχικά αρχίζοντας από τη σελίδα του τίτλου.

### α) Σελίδα τίτλου

Περιλαμβάνει: Τον τίτλο του άρθρου, μέχρι 14 λέξεις, όνομα και επώνυμο των συγγραφέων, το επιστημονικό κέντρο από όπου προέρχεται η εργασία ή, ελλείψει συνεργασίας με συγκεκριμένα κέντρα, την ιδιότητα των συγγραφέων και τον τόπο διαμονής τους, διεύθυνση και τηλέφωνο του συγγραφέα με τον οποίο γίνεται η αλληλογραφία.

### β) Περίληψεις

Όλες οι εργασίες πρέπει να έχουν ελληνική και αγγλική περίληψη. Η περίληψη στα ελληνικά δεν πρέπει να ξεπερνά τις 250 λέξεις. Ανακεφαλαιώνει τους στόχους της εργασίας, τη μεθοδολογία, τα κυριότερα αποτελέσματα και τα συμπεράσματα της μελέτης. Στην περίληψη στα αγγλικά γράφονται ο τίτλος του κειμένου και τα ονόματα των συγγραφέων και αποδίδεται το περιεχόμενο της ελληνικής περίληψης. Η αγγλική περίληψη ακολουθεί το τέλος της ελληνικής περίληψης. Κάτω από την ελληνική και αγγλική περίληψη σημειώνονται τρεις έως πέντε λέξεις - κλειδιά (key words) που θα χρησιμοποιηθούν για το θεματικό ευρετήριο.

# Δελτίο

## Α' Παιδιατρικής Κλινικής Πανεπιστημίου Αθηνών

### γ) Κείμενο

Οι πρωτότυπες εργασίες αποτελούνται από την εισαγωγή, το υλικό, η μεθοδολογία, τα αποτελέσματα και τη συζήτηση. Η εισαγωγή θα πρέπει να περιγράφει τον σκοπό της μελέτης και τη σχέση με προηγούμενα δημοσιευμένες μελέτες στον κλάδο. Το υλικό και η μεθοδολογία θα πρέπει να είναι συνοπτικά αλλά αρκετά λεπτομερή ούτως ώστε να μπορούν να επαναληφθούν από άλλους ερευνητές. Η μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε για τη στατιστική ανάλυση των δεδομένων θα πρέπει επίσης να περιγράφεται. Τα αποτελέσματα θα πρέπει να περιλαμβάνουν τόσο τα θετικά όσο και τα ενδεχομένως αρνητικά ευρήματα της μελέτης, υποστηριζόμενα, όποτε απαιτείται, από πίνακες ή διαγράμματα. Η συζήτηση θα πρέπει να μεταφράζει τα αποτελέσματα της μελέτης, με έμφαση στη σχέση τους με την αρχική υπόθεση και τις προηγούμενες αντίστοιχες μελέτες. Οι συντομογραφίες επιτρέπονται με την προϋπόθεση ότι επαναλαμβάνονται με συνέπεια μετά τον αρχικό ορισμό, τόσο στο κυρίως κείμενο όσο και στην περίληψη. Όπου γίνεται αναφορά σε τιμές εργαστηριακών εξετάσεων, αυτές θα πρέπει να εκφράζονται στο Διεθνές Σύστημα Μονάδων (SI Units) και στο μετρικό (Conventional - Συμβατικό) Σύστημα μέσα σε παρένθεση. Πίνακες μετατροπής περιλαμβάνονται στις διευθύνσεις: <http://www.icmje.org> και <http://www.icmje.org/icmje.pdf>.

### δ) Ευχαριστίες

Απευθύνονται προς όσους έχουν ουσιαστικά συμβάλει στη διεξαγωγή της μελέτης.

### ε) Βιβλιογραφικές παραπομπές

Οι βιβλιογραφικές παραπομπές αναφέρονται στο κείμενο με αραβικούς αριθμούς, κατ' αύξοντα αριθμό με τη σειρά που εμφανίζονται. Στη βιβλιογραφία αναγράφονται οι παραπομπές με τη σειρά και αρίθμηση που εμφανίζονται στο κείμενο. Ακολουθούνται οι απαιτήσεις της International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) για τα χειρόγραφα που υποβάλλονται για δημοσίευση σε βιο-ιατρικά περιοδικά (Uniform Requirements for Manuscripts - URM - Submitted to Biomedical Journals) - πρώην σύστημα Vancouver.

### Παραδείγματα βιβλιογραφικών παραπομπών:

#### I. Περιοδικά

Αν οι συγγραφείς είναι έως 6 αναγράφονται όλοι, αν είναι επτά ή περισσότεροι αναγράφονται οι πρώτοι έξι και προστίθεται et al. (ή και συν.). Το όνομα του περιοδικού αναγράφεται συντεταγμένο, χωρίς να βάλουμε σημεία στίξεως στο κάθε συνθετικό (π.χ. J Pediatr 2003 ή N Engl J Med 2005). Η σύντμηση των περιοδικών γίνεται με βάση το πώς είναι επίσημα καταχωρημένο το περιοδικό στο Pubmed και όχι αυθαίρετα.

### • Τακτική έκδοση περιοδικού:

Kawabata T, Ogino T, Awai M. Protective effects of glutathione against lipid peroxidation in chronically iron loaded mice. *Biochim Biophys Acta* 1988;1004:89 - 94.

### □ Συμπληρωματικό τεύχος περιοδικού:

Llach F. Para - thyroidectomy in chronic renal failure: Indications, surgical approach and the use of calcitriol. *Kidney Int* 1990;38(29 suppl):S62 - S68.

### □ Χωρίς συγγραφέα:

Coffee drinking and cancer of the pancreas (editorial). *BMJ* 1981;283:628.

### □ Προσδιορισμός τύπου άρθρου:

Schreiner GF, Lange L. Ethanol modulation of macrophage influx in glomerulonephritis (abstract). *Am Soc Nephrol* 1991;2:562. Spargo PM, Manners JM. DDAVP and open heart surgery (letter). *Anaesthesia* 1989;44:363 - 364.

### II. Βιβλία

#### □ Κεφάλαιο σε βιβλίο:

Schuster V. Renal clearance. In: Seldin DW, Giebich G, editors. *The kidney: physiology and pathophysiology*. 2nd ed. New York: Raven Press; 1992. p. 943 - 978.

#### □ Σύγγραμμα ή μονογραφία:

Gorlin RJ, Cohen MM, Levin LS. *Syndromes of the head and neck*. 3rd ed. New York: Oxford University Press. 1990.

#### □ Δημοσίευση σε τόμο πρακτικών:

Bauer AW. The two definitions of bacterial resistance. In: Smith AJ, Rogers CA, editors. *Proceedings of the Third International Congress of Chemotherapy*; 1962 May 29 - 31; New York: International Society of Chemotherapy; 1963. p. 484 - 500.

#### □ Διδακτορική διατριβή:

Vourssef NM. *School adjustment of children with congenital heart disease (dissertation)*. Pittsburg (PA) Univ of Pittsburg, 1998.

### III. Ηλεκτρονικές πηγές

#### □ Έγγραφο από ιστοσελίδα:

Royal College of General Practitioners. The primary health care team. RCGP website 2003 [cited 2004 Sep 22]; Available from: URL: [http://www.rcgp.org.uk/information/publications/information/PDFInfo/21\\_OCT\\_03.pdf](http://www.rcgp.org.uk/information/publications/information/PDFInfo/21_OCT_03.pdf)

#### □ Έγγραφο σε ηλεκτρονική μορφή:

Drasin, Todd, Dutson, Erik and Gracia, Carlos. Use of a robotic system as surgical first assistant in advanced laparoscopic surgery. *Journal of the American College of Surgeons*, 199(3) [online]. Available from:

# Οδηγίες προς τους συγγραφείς

<http://www.sciencedirect.com/science/article/B6T91-4D4JGYH-3/2/325a8fdeache909ee940a8f4c429104b> [accessed 2004 Sep 22].

## στ) Πίνακες και εικόνες

Οι πίνακες δακτυλογραφούνται με διπλό διάστημα σε χωριστή σελίδα και αριθμούνται με αραβικούς αριθμούς με τη σειρά που εμφανίζονται στο κείμενο. Περιλαμβάνουν βραχύ τίτλο, καθώς και επεξήγηση όλων των συντμήσεων στο κάτω μέρος (π.χ., αρτηριακή πίεση και όχι ΑΠ). Να αποφεύγονται οι κάθετες γραμμές. Τα σχήματα, τα διαγράμματα, οι φωτογραφίες, οι χάρτες κι οποιοδήποτε άλλο απεικονιστικό υλικό χαρακτηρίζονται ως εικόνες. Θα πρέπει να είναι άριστης ποιότητας, με μορφή φωτογραφιών ή και πρωτοτύπων. Στο πίσω μέρος των εικόνων θα πρέπει να σημειώνεται με μολύβι ο αριθμός της εικόνας και το όνομα του πρώτου συγγραφέα, καθώς και ένα βέλος το οποίο να δείχνει το πάνω μέρος της εικόνας. Οι πίνακες και οι εικόνες θα πρέπει να είναι σε διαστάσεις ίσες με το πλάτος του μονό-

στηλου (8,0 cm) ή με το πλάτος όλης της σελίδας (16,8 cm). Το μέγιστο μήκος τους μαζί με τις λεζάντες δεν πρέπει να είναι μεγαλύτερο από 22 cm.

## ΥΠΟΒΟΛΗ ΕΡΓΑΣΙΩΝ

Το Δελτίο Α΄ Παιδιατρικής Κλινικής Πανεπιστημίου Αθηνών αξιολογεί προς δημοσίευση εργασίες, θα σκεφτεί την πιθανότητα δημοσίευσης κάθε εργασίας, με την προϋπόθεση ότι το υποβαλλόμενο υλικό ανταποκρίνεται στις προαναφερθείσες απαιτήσεις διασφάλισης ποιότητας και οδηγίες προς συγγραφείς, αφού υποβληθεί προς κρίση σε δύο εξωτερικούς κριτές, οι οποίοι επιλέγονται από τη Συντακτική Επιτροπή. Η ομάδα Σύνταξης διατηρεί το δικαίωμα παρέμβασης και βελτίωσης των εργασιών σε θέματα γραμματικής και μορφοποίησης.

Οι εργασίες που υποβάλλονται προς κρίση για δημοσίευση να αποστέλλονται στην ηλεκτρονική διεύθυνση [annalsofclinicalpediatrics@gmail.com](mailto:annalsofclinicalpediatrics@gmail.com)

# Annals

## of Clinical Pediatrics of the University of Athens

The Annals of Clinical Pediatrics of the University of Athens is the official journal of the First Pediatric Department of Medical School of Athens University. Its primary goal is to publish a number of original articles related to clinical and basic research being held by the First Pediatric Department of Medical School of Athens University or by other Pediatric Centers in order to provide constant information and training to pediatricians and to those interested in child's health. For this reason, the Annals of Clinical Pediatrics of the University of Athens will accept and publish articles related to:

**1) Editorial Comments.** Short review or informative articles concerning scientific progress, news or commentaries on already published articles.

**2) Original Research Findings.** These articles should always include a short summary both in English and Greek, as well as the appropriate references.

**3) Review Articles.** Review articles include complete comprehensive contemporary articles, updated information or articles devoted to innovative new areas of development. They should be written by no more than two authors, the number of pages shouldn't exceed 15 - 20 and a short summary in both Greek and English should be included. References should be limited to a maximum of 70.

**4) Puzzling Cases.** Rare or undiagnosed cases or cases in which the final diagnosis was unexpected. A short summary should be included in both Greek and English and the appropriate references and should be signed by no more than 5 authors.

**5) General topics** concerning child and family health. The Editorial Committee also attaches great importance to subjects relating to continuing medical education, the implementation of guidelines and cost effectiveness in pediatrics.

**6) Up to date issues.** Short descriptions on new techniques. References should be included.

All submitted articles should be accompanied by a letter stating that: a) All authors agree with the aforementioned "instructions to authors", b) All authors agree to submit the article to The Annals of Clinical Pediatrics of the University of Athens, c) The contribution of each author to the submitted study was equally significant, d) Neither the article nor part of the article has been or will be published elsewhere until the completion of its evaluation for the The Annals of Clinical Pediatrics of the University of Athens, e) The authors disclose at the time of submission any financial arrangement they may have with a company whose product figures prominently in the manuscript or with a company making a competing product. There should

be no conflict of interest among the authors or between the authors and other institutions, f) Manuscripts describing human research must clearly indicate the accordance of all experimental procedures with the ethical standards of the responsible institutional committee for human experimentation and with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 2000 and a written informed consent of the participants should be provided by the authors, g) When reporting on animal research, the authors should also indicate that procedures followed the institutional and national guides for the care and use of laboratory animals.

### PREPARATION OF THE MANUSCRIPT

The Annals of Clinical Pediatrics of the University of Athens accepts manuscripts prepared in accordance with the requirements of the International Committee of Medical Journal Editors, as updated in November 2003 (<http://www.icmje.org>). The manuscript should be typed double - spaced throughout its entirety on single sided, 21x29 cm opaque white paper with 2,5 cm margins all around. Title page, abstract in both Greek and English, key words, text, references, tables and pictures, should each be included on a different page.

#### a) Title page

The title page should include the following information: the title of the manuscript (up to 14 words), the names of the authors (first name, middle initial and family name) with an indication of the author's hospital affiliations, the name and the address of the institution from which the work originated, the full postal address with post code, telephone, fax and e - mail address of the author responsible for editorial correspondence.

#### b) Abstracts

Each article should include an abstract of no more than 250 words, in both Greek and English. The abstract should consist of four paragraphs: Introduction, Methods, Results and Conclusions. The English abstract should include the article's title as well as the author's name in English and should be an exact translation of the Greek Abstract. Finally, a list of up to four key words or phrases, not appearing in the title, should be included to be used for indexing purposes.

#### c) The text

The text should be organized as follows: Introduction, Methods, Results and Discussion. The introduction should describe the purpose of the study and its relation to previous work in the field. Methods should be concise, but sufficiently detailed to permit repetitions by other researchers. Methods used for statistical analysis should be described. Results should present positive and relevant negative findings of the study,

# Instructions to authors

supported when necessary by reference to tables and figures. The discussion should interpret the results of the study, with emphasis on their relation to the original hypothesis and to previous studies. Abbreviations are permitted but must be used consistently throughout the manuscript after they are initially defined, in both abstract and main text. References of laboratory analyses results should be expressed in the Systeme International (SI) units and in the metric (Conventional) system in parentheses. See conversion tables on the websites <http://www.icmje.org> and <http://www.icmje.org/icmje.pdf>.

## d) Acknowledgements

Addressed to all having significantly contributed to the study.

## e) References

Citations for the reference section of submitted works should be in numerical sequence according to the formats below. They should follow the standard form described in the Uniform Requirements for manuscripts -URM - Submitted to Biomedical Journals of the International Committee of Medical Journal Editors ([www.icmje.org](http://www.icmje.org)).

## Examples of reference citations:

### I. Journals

If the number of authors exceeds 6, only the first 6 are listed and "et al." is added. Journals' abbreviations should go according to the journal's indexing in Pubmed.

#### □ Regular journal publication:

Kawabata T, Ogino T, Awai M. Protective effects of glutathione against lipid peroxidation in chronically iron loaded mice. *Biochim Biophys Acta* 1988; 1004:89 - 94.

#### □ Supplement:

Llach F. Para - thyroidectomy in chronic renal failure: Indications, surgical approach and the use of calcitriol. *Kidney Int* 1990; 38(29 suppl):S62 - S68.

#### □ No author's name available:

Coffee drinking and cancer of the pancreas (editorial). *BMJ* 1981; 283:628.

#### • Definition of the type of the article:

Schreiner GF, Lange L. Ethanol modulation of macrophage influx in glomerulonephritis (abstract). *Am Soc Nephrol* 1991; 2:562. Spargo PM, Manners JM. DDAVP and open heart surgery (letter). *Anaesthesia* 1989; 44:363 - 364.

### II. Books

#### □ Book chapter:

Schuster V. Renal clearance. In: Seldin DW, Giebich G, editors. *The kidney: physiology and pathophysiology*. 2nd ed. New York: Raven Press; 1992. p. 943 - 978.

#### □ Monograph:

Gorlin RJ, Cohen MM, Levin LS. *Syndromes of the head and neck*. 3rd ed. New York: Oxford University Press. 1990.

#### □ Proceedings record:

Bauer AW. The two definitions of bacterial resistance. In: Smith AJ, Rogers CA, editors. *Proceedings of the Third International Congress of Chemotherapy*; 1962 May; New York: International Society of Chemotherapy; 1963. p. 484 - 500.

#### □ Dissertation:

Vourssef NM. School adjustment o children with congenital heart disease (dissertation). Pittsburg (PA) Univ of Pittsburg, 1998.

#### III. Digital or electronic sources

#### □ Internet obtained material:

Royal College of General Practitioners. The primary health care team. RCGP website 2003 [cited 2004 Sep 22]; Available from: URL: [http://www.rcgp.org.uk/information/publications/information/PDFInfo/21\\_OCT\\_03.pdf](http://www.rcgp.org.uk/information/publications/information/PDFInfo/21_OCT_03.pdf)

#### □ Article in digital form:

Drasin, Todd, Dutson, Erik and Garcia, Carlos. Use of a robotic system as a surgical first assistant in advanced laparoscopic surgery. *Journal of the American College of Surgeons*, 199(3) [online]. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/B6T91-4D4JGYH-3/2/325a8fdeacbe909ee940a8f4c429104b> [accessed 2004 Sep 22].

## f) Tables and figures

Tables should be typed double - spaced, each on a separate page, numbered with Arabic numerals in the order appearing in the manuscript. They should include a short title as well as an explanation of the abbreviations used. The number and top side of each figure must be indicated on the reverse side. All figures (whether photographs or graphs) should be clear, high contrast, glossy prints of the size they are to appear in the journal: 8,0 cm for a single column or 16,8 cm for a double column. Maximum height, including the titles, shouldn't exceed 22 cm.

## SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

The Annals of Clinical Pediatrics of the University of Athens will consider the publication of any manuscript provided that the material submitted fulfills the aforementioned quality requirements and instructions of the journal, following the regular review process by two suitable outside reviewers selected by the Editorial Board. The Editors reserve the right to improve the manuscripts on grammar and style.

Papers for publication should be submitted to the e-mail address: [annalsofclinicalpediatrics@gmail.com](mailto:annalsofclinicalpediatrics@gmail.com)

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

## ΑΡΘΡΟ ΕΙΔΙΚΟΥ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ

*Έλεγχος του στρες και επικούρεια φιλοσοφία*

Γ.Π. Χρούσος

1

## ΑΡΘΡΟ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗΣ

*Aspergillus fumigatus και κυστική ίνωση*

Μ. Νόνη, Α. Κατελάρη, ΣΕ Ντουντουνάκης, Β. Σπούλου

12

## ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

*Χαρτογράφηση και χαρακτηρισμός των ανοσοκυρίαρχων Β-λεμφοκυτταρικών επιτόπων εντός πρωτεϊνών της επιφάνειας του streptococcus pneumoniae*

Θ. Λαγκούση, Ι. Ρούτσιος, Π. Μπασδέκη, Χ. Πιπέρη, Α. Τσακρής, Γ. Χρούσος, Μ. Θεοδωρίδου, Β. Σπούλου

21

## ΚΛΙΝΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

*Δερματοφυτία τριχωτού κεφαλής στα παιδιά. Αναδρομική μελέτη τεσσάρων ετών*

Μ. Δακουτρού, Α. Στάθη, Κ. Αντωνιάδου, Ε. Κηρύκου, Λ. Ζαχαριάδου, Χ. Κανακά-Gantenbein,

Α. Αλεξόπουλος, Τ. Τσιβιτανίδου-Κάκουρου

34

## ΑΠΟ ΤΗΝ ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΗΣ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗΣ

*Θεραπεία της αμυγδαλίτιδας από τον Γαληνό με χυμό φλοιού καρυδιών*

Δ. Καραμπερόπουλος

40

# CONTENTS

## ARTICLE OF SPECIAL INTEREST

*Stress Management and Epicurean Philosophy*

Chrousos GP

1

## REVIEWS

*Aspergillus fumigatus and cystic fibrosis*

Noni M, Katelari A, Doudounakis SE, Spoulou V

12

## RESEARCH STUDY

*Discovery of Immunodominant B Cell Epitopes within Surface Pneumococcal Virulence Proteins in Pediatric Patients with Invasive Pneumococcal Disease*

Lagousi T, Routsias J, Basdeki P, Piperi C, Tsakris A, Chrousos G, Theodoridou M, Spoulou V

21

## CLINICAL STUDY

*Tinea capitis in children. A four-year retrospective study*

Dakoutrou M, Stathi A, Antoniadou K, Kirikou E, Zahariadou L,

Kanaka-Gantenbein C, Alexopoulos A, Tsivitanidou- Kakourou T

34

## ARCHIVES OF PEDIATRICS

*Treatment of tonsillitis by Galen using the juice of nut peels*

Karamperopoulos D

40

# Έλεγχος του στρες και Επικούρεια φιλοσοφία

**Γ. Π. Χρούσος**

Ομότιμος Καθηγητής Παιδιατρικής και Ενδοκρινολογίας, Επικεφαλής,  
Έδρα UNESCO Εφηβικής Υγείας και Ιατρικής

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η επικούρεια φιλοσοφία ταιριάζει στην εποχή μας καλύτερα από οποιαδήποτε άλλη. Ο θαυμαστός Επίκουρος δεν έκανε λάθη σε αυτά που είπε, ενώ όλοι οι άλλοι μεγάλοι διανοητές, ακόμα και ο Πλάτωνας και ο Αριστοτέλης, έχουν γράψει και ανεπιστημονικές ανοησίες. Συνεπώς, κατά κάποιον τρόπο, συμφωνώ γενικά με τον Νίτσε, ο οποίος έγραψε ότι «μετά τον Επίκουρο, η φιλοσοφία δεν έχει προχωρήσει ούτε ένα βήμα». Δεν είναι τυχαίο ότι η ανακάλυψη του μακρού ποιήματος του Λουκρητίου «Για τα Πράγματα της Φύσης», με την περιγραφή της επικούρειας φιλοσοφίας, σήμανε και επιτάχυνε την έναρξη της εποχής του Ευρωπαϊκού Διαφωτισμού.

Η έρευνά μου είναι κυρίως γύρω από το στρες, τη φυσιολογία του, την παθολογία του και το πώς μπορεί κάποιος να το διαχειριστεί ώστε να ζήσει όσο γίνεται πιο ευδαιμονικά. Υπάρχουν πολύ ενδιαφέρουσες επικούρειες έννοιες που έχουν άμεση σχέση με το στρες και τη διαχείρισή του. Κατ' αρχάς, η «ευστάθεια», που αντιστοιχεί στην «ισο-

νομία» του Αλκμαίωνα και την «ομοιόσταση» του Walter Cannon, και, κατά δεύτερον, η «ευδαιμονία», όπως τη σκέφτηκαν ο Ιπποκράτης και ο Αριστοτέλης. Η τρίτη επικούρεια έννοια είναι ότι η αναζήτηση της ευστάθειας και της «ευδαιμονίας» αποτελεί αυτοσκοπό για τον άνθρωπο, και η εφαρμογή των επικουρείων αρετών το μέσον για να την αποκτήσουν. Επίσης, ο φιλόσοφος, αντίθετα από άλλους μεγάλους φιλοσόφους, υποστήριξε ότι η ευδαιμονία μπορεί να αποκτηθεί από όλους τους ανθρώπους, πλούσιους και φτωχούς, άνδρες και γυναίκες, ελεύθερους και δούλους, μια άκρα δημοκρατική προσέγγιση, μοναδική για την εποχή του Επίκουρου. Ο Επίκουρος πρότεινε την πιο αποτελεσματική θεραπεία της ψυχής, τη «γνωστική και συμπεριφορική ψυχοθεραπεία», όπως αυτή γίνεται σήμερα. Ο Επικουρισμός, συνεπώς, αποτελεί την κατεξοχήν φιλοσοφία της διαχείρισης του στρες και της αναζήτησης της ευδαιμονίας. Η τετραφάρμακος του φιλοσόφου ακριβώς εκεί αποβλέπει.

**ΛΕΞΕΙΣ ΕΥΡΕΤΗΡΙΟΥ: Στρες, Φιλοσοφία, Επίκουρος, Διαχείριση άγχους, Ομοιόσταση, Ευρωπαϊκό ζήτημα, Γνωστική συμπεριφορική θεραπεία, Ευδαιμονία, Πολυπλοκότητα, Σύστημα Αμοιβής, Σύστημα άγχους**

*Διάλεξη στο 8ο Πανελλήνιο Συνέδριο Επικούρειας Φιλοσοφίας, Παλλήνη Αττικής, 2018*

## Υπεύθυνος επικοινωνίας

Γεώργιος Π. Χρούσος

E-mail: chrousos@gmail.com

### Εισαγωγή

Χαίρομαι ιδιαίτερα που είμαι μαζί σας. Μελετώντας το στρες από τη δεκαετία του 1980, έχω καταλήξει ότι η επικούρεια φιλοσοφία ταιριάζει στην εποχή μας καλύτερα από οποιαδήποτε άλλη. Ο Επίκουρος γενικά δεν έκανε λάθη σε αυτά που είπε, ενώ όλοι οι άλλοι αρχαίοι φιλόσοφοι, ακόμα και ο Πλάτωνας και ο Αριστοτέλης, έχουν γράψει και ανεπισημονικές ανοησίες. Συνεπώς, κατά κάποιον τρόπο συμφωνώ με τον Νίτσε, ο οποίος έγραψε ότι «μετά τον Επίκουρο η φιλοσοφία δεν έχει προχωρήσει ούτε ένα βήμα».

Η έρευνα μου είναι κυρίως γύρω από το στρες, τη φυσιολογία του, την παθολογία του και το πώς μπορεί κάποιος να το διαχειριστεί έτσι, ώστε να ζήσει όσο γίνεται πιο ευδαιμονικά. Είναι ενδιαφέρον ότι ο όρος «ευδαιμονία» έχει εισέλθει και στη σύγχρονη Βιολογία. Πριν από λίγα χρόνια, στο περιοδικό «Proceedings of the National Academy of Sciences USA» («Πρακτικά της Εθνικής Ακαδημίας Επιστημών των ΗΠΑ») δημοσιεύθηκε μια εξαιρετική εργασία με τον όρο «ευδαιμονία» στην περιληψη, η οποία παρουσίαζε τη σύγκριση μεταξύ ευδαιμονίας και ηδονής, όσον αφορά τις δράσεις των στον οργανισμό. Όπως θα σας εξηγήσω παρακάτω, το σύστημα της ηδονής που έχουμε στον εγκέφαλο, το λεγόμενο «Σύστημα της Αμοιβής», είναι το ίδιο που χρησιμοποιείται για οποιαδήποτε απόλαυση, από το φαγητό και το σεξ μέχρι την αριστοτελική και επικούρεια ευδαιμονία. Προφανώς, με την πάροδο των χρόνων, ο άνθρωπος έχει εξελιχθεί και αναπτύξει τρόπους με τους οποίους μπορεί να ξεχωρίσει συνειδητά ή ασυνείδητα την απλή ηδονή από την ευδαιμονία. Επίσης, όσον αφορά την υγεία, φαίνεται ότι, ενώ η ευδαιμονία έχει θετική επίδραση, η απλή ηδονή έχει αρνητική. Δηλαδή, η επίδραση του «Συστήματος της Αμοιβής» στην υγεία είναι θέμα πλαισίου (context) μέσα στο οποίο αυτό διεγείρεται.

Τα τελευταία χρόνια, η έννοια του στρες έχει δημοσιοποιηθεί και κατανοηθεί καλύτερα. Για παράδειγμα, το περιοδικό «Science News» («Επιστημονικά Νέα») είχε αναφερθεί στην κατάσταση του ακραία στρεσαρισμένου ανθρώπου ("stressed-out"), όπου συμπέρανε ότι το χρόνιο στρες «αναστατώνει τα πάντα» στον οργανισμό.

### Η έννοια της πολυπλοκότητας

Επειδή δεν μπορεί κάποιος να μιλάει για στρες χωρίς να αναφερθεί στην πολυπλοκότητα του σύμπαντος και τη

μοναδική πολυπλοκότητα του ανθρώπου, θα μιλήσω για την πολυπλοκότητα συνοπτικά. Εν συνεχεία, θα αναφερθώ στην «ομοιόσταση» και το στρες, καθώς και στους μηχανισμούς και τις δράσεις του δεύτερου στον οργανισμό -που είναι πολύ κοινές και πολύ σημαντικές-, και θα τελειώσω με το πώς μπορεί κάποιος να διαχειριστεί το στρες.

Ο Σοφοκλής είχε γράψει ότι είναι «πολλά τα δεινά», δηλαδή τα θαυμαστά, «και ουδέν ανθρώπου δεινότερον πέλλει». Θα μπορούσε κάποιος να πει ότι είναι «πολλά τα πολύπλοκα και τίποτα πολύπλοκότερο του ανθρώπου». Απ' όσο γνωρίζουμε, ο άνθρωπος είναι ένα φοβερά πολύπλοκο και η ανθρώπινη κοινωνία, ο άνθρωπος πολιτισμός, τον έχουν καταστήσει ακόμα πολυπλοκότερο. Το γονιδίωμά μας αποτελείται από έξι δισεκατομμύρια βάσεις DNA, ενώ έχουμε γύρω στις 60.000 γονίδια, τα οποία ρυθμίζονται με πολύ πολύπλοκο τρόπο, π.χ. μέσα στο γονιδίωμα του ανθρώπου υπάρχουν τουλάχιστον 1.000.000 περιοχές του DNA που ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων. Τα τελευταία χρόνια, ασχολούμεθα επιπλέον και με την «επιγενετική», μια αρχικά αριστοτελική επιστημονική έννοια που αφορά την επίδραση του περιβάλλοντος στον οργανισμό, και όπως γνωρίζουμε σήμερα, εν πολλοίς μέσω της ρύθμισης της λειτουργίας του γονιδιώματος.

Από την άλλη πλευρά, έχουμε και έναν πολύ πολύπλοκο εγκέφαλο με εκατό δισεκατομμύρια νευρώνες στο φλοιό μόνο, με πάνω από  $10^{18}$  συνάψεις, έναν αριθμό που είναι μεγαλύτερος από τον αριθμό των άστρων του γαλαξία μας. Και, βέβαια, τα τελευταία χρόνια αρχίζουμε να μαθαίνουμε περισσότερα για την πλαστικότητα του εγκεφάλου, που σημαίνει ότι ένας νευρώνας μπορεί να αλλάξει λειτουργία και να αντικαταστήσει έναν άλλο που έχει καταστραφεί, αυξάνοντας την πολυπλοκότητα του εγκεφάλου μας ακόμα περισσότερο.

Εάν κάποιος λάβει υπόψη του όλες αυτές τις πολυπλοκότητες του ενός ατόμου και τις πολλαπλασιάσει επί επτά δισεκατομμύρια, όσο είναι περίπου ο πληθυσμός μας, και, εν συνεχεία, προσθέσει όλες τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ανθρώπων και τα δημιουργήματά των, καταλαβαίνει τι μεγέθους πολυπλοκότητα έχουμε.

Υπάρχει ένα πολύ ενδιαφέρον γράφημα που δείχνει πώς αυξήθηκε έως σήμερα η πολυπλοκότητα από την απαρχή του σύμπαντος μας μετά την Μεγάλη Έκρηξη, πριν από περίπου 14 δισεκατομμύρια χρόνια. Στην αρχή, η πολυπλοκότητα εκπεφρασμένη σαν πυκνότητα ισχύος,

δηλαδή πληροφορίας, ήταν πολύ χαμηλή, ενώ προοδευτικά αυξήθηκε με το σχηματισμό των γαλαξιών, αστέρων και πλανητών. Μετά την αυτοποίηση της ζώσας ύλης, η πολυπλοκότητα αυξήθηκε δραματικά με την εξέλιξη της ζωής στον πλανήτη μας, με τον άνθρωπο και την ανθρωπινή κοινωνία στο σημερινό ύψιστο σημείο. Υπάρχει, συνεπώς, εξέλιξη στην πολυπλοκότητα, και αυτή τη στιγμή, από όσο ξέρουμε, η αιχμή του δόρατος είναι ο άνθρωπος.

Ο άνθρωπος, συνεπώς, είναι μοναδικός και βρίσκεται σε μια συνεχή δυναμική ισορροπία, η οποία χρειάζεται ενέργεια για να διατηρηθεί, όπως συμβαίνει με όλα τα πολύπλοκα συστήματα. Είναι ενδιαφέρον ότι η λειτουργία των τελευταίων, συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου, διέπονται από αρχές και μαθηματικούς κανόνες που είναι κατανοησιμες/οι. Τα τελευταία χρόνια, μιλάμε για Βιολογία και Ιατρική Συστημάτων (Systems Biology and Medicine), ενώ στην Αμερική έχει γίνει πολύ της μόδας ο όρος "Narrative and Precision Medicine", δηλαδή η σύγχρονη «Αφηγηματική (ολιστική) Ιατρική και Ιατρική Ακριβείας», δεδομένου ότι πλέον μπορούμε σε πολλές περιπτώσεις να ταυτοποιήσουμε τις νοσογόνες βλάβες που υπάρχουν στο επίπεδο των κυττάρων και μορίων.

### Η ισορροπία των πολύπλοκων συστημάτων και το στρες

Ο πρώτος στον δυτικό πολιτισμό που μίλησε για πολύπλοκα συστήματα ήταν ο Πυθαγόρας, ο οποίος αναφέρθηκε στην ισορροπία του σύμπαντος σαν «αρμονία». Ο ίδιος μάλιστα ονόμασε το σύμπαν «κόσμο», δηλαδή κόσμημα. Αυτή η αρμονία συνεχώς διαταράσσεται από διαταρακτικές δυνάμεις και επαναφέρεται από δυνάμεις προσαρμογής. Ο Πυθαγόρας είχε έναν μαθητή γιατρό, τον Αλκμαίωνα, ο οποίος πρώτος είπε ότι οι διανοητικές λειτουργίες εδράζονται στον εγκέφαλο και, επιπλέον, ότι ο κανόνας της αρμονίας ή δυναμικής ισορροπίας του σύμπαντος ισχύει και για τον άνθρωπο. Κατά συνέπεια, ο Αλκμαίων μίλησε για μια δυναμική ισορροπία του ανθρώπου, την οποία ονόμασε «ισονομία». Αυτός ο όρος, δυστυχώς, δεν διατηρήθηκε, καθώς πολλές σημαντικές έννοιες χάθηκαν κατά τη διάρκεια του Μεσαίωνα, ενώ ξαναγεννήθηκε η έννοια της ισονομίας με τον όρο «ομοιόσταση» από τον Ουόλτερ Κάνον στη σύγχρονη εποχή. Τι είναι λοιπόν η ομοιόσταση για όλους μας; Είναι η ισορροπία μας, η οποία για να διατηρηθεί χρειάζεται ενέργεια. Από τη μια μεριά έχουμε στρεσογόνα ερεθίσματα, που

προσπαθούν να τη διαταράξουν, και από την άλλη μεριά έχουμε προσαρμοστικές δυνάμεις, που προσπαθούν να την επαναφέρουν. Και, προφανώς, όσο πιο καλή και ανθεκτική ισορροπία έχουμε τόσο καλύτερα είναι για την επιβίωσή μας και αναπαραγωγή μας. Συνεπώς, το στρες είναι η κατάσταση στην οποία απειλείται ή διαταράσσεται η ομοιόσταση, ή για εμάς τους ανθρώπους, ακόμα και όταν απλώς την αντιλαμβανόμεθα ότι απειλείται ως δυσφορία.

Ο Αντισθένης είχε γράψει ότι «αρχή της επιστήμης είναι η των ονομάτων επίσκεψις». Δυο λόγια για τη λέξη «στρες», που είναι ινδοευρωπαϊκής προέλευσης. Το «str» έχει πάντα μια αρνητική χροιά, όπως στα αρχαία και στα νέα ελληνικά, με παράγωγα τις λέξεις «στραγγαλίζω», «καταστροφή» και «στραβισμός» κ.λπ., και στα λατινικά και τις λατινογενείς γλώσσες η λέξη «stringere» που σημαίνει πιέζω ή σφίγγω. Εάν θέλετε, και στα κοινά νέα ελληνικά ισοδυναμεί με την τουρκική λέξη «ζόρι», καθώς όταν κάποιος «ζορίζεται», «στρεσάρεται».

Αν δούμε την ιστορία της εξέλιξης της έννοιας του στρες και πώς αναπτύχθηκαν οι άλλες σχετικές έννοιες, θα αντιληφθούμε ότι έπαιξε πολύ μεγάλο ρόλο ο Επίκουρος. Κατ' αρχάς, μετά τον Πυθαγόρα έλαβαν χώρα διαδοχικές αλλαγές στον τρόπο σκέψης. Ο Ιπποκράτης ήταν οπαδός της θεωρίας της ισονομίας, δηλαδή της ομοιόστασης, και έλεγε ότι η υγεία είναι καλή ομοιόσταση, ενώ η νόσος είναι στρες, δηλαδή κακή ομοιόσταση. Μάλιστα, είχε προτείνει ότι «η φύση είναι ο ιατρός των νόσων», δηλαδή μίλησε για την προσαρμοστική αντίδραση του οργανισμού που επαναφέρει την υγιή ομοιόσταση. Αργότερα, ο Αριστοτέλης αναφέρθηκε στην ενότητα μεταξύ του πνεύματος και του σώματος, ενώ είναι ο πρώτος που εξέφρασε ξεκάθαρα τι σημαίνει «ευδαιμονία». Αυτή είναι η γαλήνια κατάσταση, κατά την οποία αισθάνεται κάποιος ευχαριστημένος με τον εαυτό σου και με τους άλλους, και κατά την οποία είναι ήρεμος και ικανοποιημένος, δεν ταραζείται εύκολα από στρεσογόνα ερεθίσματα και αντιδρά σωστά, ανάλογα με την κάθε περίπτωση.

Εν συνεχεία, υπήρξαν τρία φιλοσοφικά ρεύματα, οι Στωϊκοί, οι Σκεπτικιστές και οι Επικουρείοι, που είχαν ως ζητούμενο αγαθό την «αταραξία», δηλαδή την ψυχική ανθεκτικότητα στο στρες. Ο Επίκουρος πρόσθεσε επίσης ως ζητούμενα την «απονία», δηλαδή την απουσία πόνου, και την «ηδονή», αλλά υπό την έννοια της ευδαιμονίας. Αυτό προφανώς παρεξηγήθηκε και υπάρχουν σήμερα εστιάτορια που ονομάζονται «Επίκουρος», μια προσβολή στη

μνήμη του φιλοσόφου. Ο Επίκουρος μίλησε για «ευστάθεια» («σαρκός και ψυχής ευσταθές κατάστημα»), δηλαδή για σταθερή ισορροπία, σωματική και ψυχική. Ευστάθεια για τους Επικούρειους σήμαινε υγεία του σώματος και της ψυχής. Το όνομα «Ευστάθιος» έχει επικύρωση προέλευση.

### Το βιολογικό «Σύστημα του Στρες»

Δεν θα υπήρχαμε εάν δεν είχαμε το «Σύστημα της Αμοιβής», το οποίο μας ανταμείβει όταν κάνουμε κάτι θετικό και μας τιμωρεί όταν κάνουμε κάτι αρνητικό, με τελεολογία την επιβίωση και αναπαραγωγή του ατόμου και του είδους. Δεν θα είχαμε βγει από τα νερά, δεν θα είχαμε σηκωθεί από το έδαφος, δεν θα είχαμε γίνει εξελικτικά αυτό που είμαστε, εάν δεν χρησιμοποιούσαμε αυτό το σύστημα από την πιο πρωτόγονη μορφή του μέχρι σήμερα. Από την άλλη μεριά, δεν θα επιβιώναμε σαν άτομα και σαν είδος, αν δεν διαθέταμε ένα σύστημα αρωγής για την αντιμετώπιση του στρες και την επαναφορά της ομοιόστασης σε δύσκολες καταστάσεις, το «Σύστημα του Στρες».

Ο Τόμας Σίντενχαμ, περισσότερα από χίλια χρόνια μετά τους Επικούρειους, έγραψε ότι δεν είναι μόνο η νόσος που ταλαιπωρεί τον οργανισμό, είναι και η αντίδραση του οργανισμού κατά της νόσου. Φαίνεται, λοιπόν, ότι το «Σύστημα του Στρες», που ενεργοποιείται με τη νόσο, προκαλεί βλάβες με τους δικούς του μεσολαβητές, τις ορμόνες του, όπως η νορεπινεφρίνη, η επινεφρίνη και η κορτιζόλη. Η ζημιά βέβαια κυρίως γίνεται όταν η αντίδραση του στρες είναι είτε εξαιρετικά υπερβολική ή πολύ παρατεταμένη. Κυρίως, όμως, είναι το παρατεταμένο ή χρόνιο στρες που βλάπτει τον οργανισμό και όχι το οξύ. Στην ουσία, η αντίδραση του «Συστήματος του Στρες» είναι μια φυσιολογική λειτουργία, η οποία μας βοηθά να αντεπεξέλθουμε σε δύσκολες καταστάσεις μέσα σε περιορισμένο χρόνο. Αυτή η αντίδραση μπορεί να κρατήσει ώρες, ημέρες, έως δυο-τρεις εβδομάδες. Από εκεί και πέρα πλέον, αν το «Σύστημα του Στρες» εξακολουθήσει να είναι διεγερμένο, αρχίζει προοδευτικά να προκαλεί βλάβες στον οργανισμό. Ο Κλοντ Μπερνάρντ μίλησε για τη σταθερότητα του εσωτερικού περιβάλλοντος του οργανισμού, που είναι και αυτή μέρος της ομοιόστασης. Ο Ουόλτερ Κάνον, στις αρχές του 20ού αιώνα, πρώτος μίλησε για ομοιόσταση και στρες, ενώ περιέγραψε τη λεγόμενη «αντίδραση μάχης ή φυγής» (“fight or flight reaction”).

Αργότερα, ένας Σουηδός επιστήμονας προσέθεσε μια τρίτη αντίδραση, το πάγωμα (freeze). Συνεπώς, αυτές είναι οι τρεις φυσιολογικές αντιδράσεις στο στρες: μάχη, φυγή, πάγωμα (fight, flight, freeze).

Τέλος, ο Ουγγροκαναδός Χανς Σέλιε μίλησε για το «Σύνδρομο της Γενικής Προσαρμογής» και για τις «Νόσους της Προσαρμογής». Παρεξηγήθηκε, όμως, καθώς ήταν πολύ μπροστά από την εποχή του, και γι' αυτό και δεν τιμήθηκε με το βραβείο Νόμπελ για την τεράστια συνεισφορά του στην επιστήμη και την ανθρωπότητα. Είπε πράγματα που δεν μπορούσαν να τα καταλάβουν στην εποχή του, τα οποία διαπιστώθηκαν αργότερα με την πρόοδο της τεχνολογίας. Ο ίδιος μίλησε για «κακό στρες» (distress) και «καλό στρες» (eustress). Ότι θα πω παρακάτω και ότι αφορά τις συμβουλές του Επίκουρου είναι για την αντιμετώπιση του κακού στρες. Το καλό στρες δεν το υπολογίζουμε τόσο πολύ, επειδή γενικά, δυστυχώς, δεν διαρκεί πολύ. Δηλαδή, δεν παντρεύεσαι καθημερινά, δεν τρως πάντοτε νόστιμο φαγητό, το καλό στρες δεν κρατάει πολύ. Στρεσάρεται οξέως ο οργανισμός και στο καλό στρες, αλλά ταυτόχρονα έχει και κάτι το θετικό στο «Σύστημα της Αμοιβής», που δρα αντιπροροιστικά. Φυσικά, τελειώνει γρήγορα και στη συντριπτική πλειονότητα δεν προκαλεί βλάβες στον οργανισμό.

### Το χρόνιο ψυχοκοινωνικό στρες

Οι άνθρωποι είμαστε συνδεδεμένοι ο ένας με τον άλλον, αλλά και με όλη την περιρρέουσα κοινωνία, μέσω του φαινομένου της «ενσυναίσθησης». Η ενσυναίσθηση είναι ένα πολύ βασικό εσωτερικό σύστημα που έχουμε στον εγκέφαλό μας, το οποίο ανά πάσα στιγμή, κυρίως ασυνείδητα, προσπαθεί να αντιληφθεί τι σκέφτεται και πώς αισθάνεται ο άλλος. Είναι η βάση της ανθρώπινης ηθικής και δικαιοσύνης. Ένας από τους λόγους που είμαστε αυτοί που είμαστε σαν άκρως κοινωνικό και επιτυχές είδος είναι επειδή έχουμε αυτή την ισχυρή ενσυναίσθηση. Αυτή η ανθρώπινη ιδιότητα αντικατοπτρίζεται στον κλάδο της «Συγκινησιακής Επιδημιολογίας», δηλαδή όταν συμβαίνει κάτι καλό ή κακό σε μια κοινωνία, επηρεάζονται ανάλογα όλοι όσοι έχουν φυσιολογικό εγκέφαλο. Υπάρχει ένα περίπου 6% του πληθυσμού που υπολείπεται σε συναισθηματική ενσυναίσθηση, είναι οι λεγόμενοι «ψυχοπαθητικοί» άνθρωποι, και αυτούς δυστυχώς δύσκολα θα τους βοηθήσει η επικύρωση φιλοσοφία. Στους ανθρώπους με ψυχοπάθεια, ο εγκέφαλος δεν είναι φυσιολογικός και

χαρακτηρίζεται όχι μόνο από έλλειψη συναισθηματικής ενσυναίσθησης, αλλά και από ένδεια του παραγώγου της νευρωνικού «δικτύου της συμπόνιας».

Μια σύγχρονη γυναίκα ή άνδρας συχνά περνάει ένα μεγάλο μέρος της ημέρας σε ένα γραφείο, είναι υπό συνεχή πίεση και έχει πολλά να κάνει σε περιορισμένο χρόνο, εμφανίζει δηλαδή το σημερινό πρόβλημα του χρόνιου ψυχοκοινωνικού στρες. Πράγματι, είναι το ψυχοκοινωνικό στρες από το οποίο υποφέρει η ανθρωπότητα σήμερα, και αυτό συμπεριλαμβάνει το κοινωνικό, ψυχολογικό, οικονομικό, επαγγελματικό, εργασιακό, σχολικό, οικογενειακό κ.λπ. στρες.

Υπάρχουν πολλά και διάφορα ανθρώπινα στρεσογόνα ερεθίσματα, αλλά θα αναφέρω δυο-τρία που αφορούν τον σύγχρονο άνθρωπο. Το ένα είναι η κοινωνικο-οικονομική κατάσταση: όσο φτωχότερος είναι κάποιος τόσο πιο πολύ στρεσαρισμένος και δυσφορικός είναι, ενώ έχει και ελαττωμένο προσδόκιμο επιβίωσης. Άλλοι στρεσογόνοι παράγοντες είναι το να ανήκει κάποιος σε μια μειονότητα, το να αισθάνεται μοναξιά, το να δουλεύει και να αισθάνεται ότι δεν έχει αρκετή απολαβή από τη δουλειά του, το να αισθάνεται ότι χάνει τη θέση του, ότι είναι άνεργος. Όλα αυτά έχουν να κάνουν με την ανθρώπινη αξιοπρέπεια. Όταν ένας άνθρωπος νιώθει ότι η αξιοπρέπεια του βάλλεται, τότε αυτός είναι χρόνια στρεσαρισμένος. Και στον έλεγχο και την εξουδετέρωση όλων αυτών των ψυχοκοινωνικών στρεσογόνων ερεθισμάτων μπορεί ο Επικουρισμός να δράσει θεραπευτικά.

### **Η σημαντική σχέση μεταξύ των «Συστημάτων της Αμοιβής και του Στρες και του Ιπποκάμπου»**

Η σημερινή ζωή δεν χαρακτηρίζεται μόνο από ένα, αλλά πολλούς στρεσογόνους παράγοντες μαζί. Και αυτοί έχουν είτε αθροιστικότητα είτε συνέργεια στις αρνητικές τους δράσεις. Τα κέντρα του «Συστήματος Στρες» είναι στον υποθάλαμο, που ρυθμίζει τη λειτουργία του υποφυσιακού-επινεφριδικού άξονα και, πιο πίσω, στο στέλεχος του εγκεφάλου, που ρυθμίζει την εγρήγορση και το αυτόνομο νευρικό σύστημα, κυρίως το συμπαθητικό του στέλεχος. Όταν στρεσαριζόμαστε, διεγείρουμε αυτά τα κέντρα. Για πολλά χρόνια, πιστεύαμε ότι αυτά λειτουργούσαν σχετικά ανεξάρτητα το ένα από το άλλο. Υπήρχαν, π.χ., εργαστήρια στα Εθνικά Ινστιτούτα Υγείας των ΗΠΑ (NIH) όπου εργαζόμουν, που άλλοι ερευνητές μελετούσαν τις κατεχολαμίνες και άλλοι την κορτιζόλη, χωρίς διάλογο μεταξύ

τους. Τελικά αποδείχθηκε ότι αυτά τα κέντρα είναι βασικά το ίδιο σύστημα και λειτουργούν σε συγχρονισμό μέσα στον εγκέφαλο. Το πολύπλοκο αυτό κεντρικό «Σύστημα του Στρες» ρυθμίζεται από πάρα πολλούς μηχανισμούς αρνητικής ανάδρασης, δεδομένου ότι αυτό το Σύστημα πρέπει να επανέρχεται γρήγορα στο φυσιολογικό ευστατικό επίπεδο, ώστε να μην προκαλέσει βλάβες στον οργανισμό.

Τα κέντρα του ανθρώπινου εγκεφάλου που αφορούν το συναίσθημα είναι στον μετωπιαίο λοβό, στις αμυγδαλές του εγκεφάλου (φόβος, θυμός, πάγωμα) και στο ντοπαμινεργικό «Σύστημα της Αμοιβής», το οποίο βέβαια αφορά και την αμοιβή και την τιμωρία. Ένα τμήμα του μετωπιαίου λοβού ρυθμίζει το συναίσθημα, ενώ ένα άλλο ρυθμίζει τη μετάπτωση του συναίσθηματος από θετικό σε αρνητικό και τ' ανάπαλιν.

Το «Σύστημα της Αμοιβής» έχει νευρώνες που παράγουν ντοπαμίνη, την οποία αποστέλλουν ταυτόχρονα σε δύο μεγάλα κέντρα του εγκεφάλου. Το ένα είναι ο επικλινής πυρήνας, όπου ρυθμίζεται το θετικό ή αρνητικό συναίσθημα, και το άλλο είναι ο μετωπιαίος φλοιός, που ελέγχει και τις ανώτερες εκτελεστικές λειτουργίες του οργανισμού και ασκεί τη συναισθηματική αυτορρύθμιση. Τελευταία, ένα τμήμα του στελέχους του εγκεφάλου που λέγεται habenula βρέθηκε να καταστέλλει την παραγωγή ντοπαμίνης στο «Σύστημα της Αμοιβής», συμμετέχοντας στο αρνητικό συναίσθημα μιας τιμωρίας.

Αν δούμε όλα αυτά τα κέντρα του εγκεφάλου μαζί, και με τον Ιππόκαμπο, ένα σημαντικό ρυθμιστή των λειτουργιών του «Συστήματος Στρες» και των αμυγδαλών, βλέπουμε ότι αλληλοεξαρτώνται. Όλα λειτουργούν μαζί έτσι ώστε εάν στρεσαριστούμε να υπερπαραγάγουμε στον εγκέφαλο CRH, νορεπινεφρίνη και ντοπαμίνη, και στην περιφέρεια νορεπινεφρίνη και επινεφρίνη, κορτιζόλη, και μια φλεγμονώδη κυτοκίνη που λέγεται ιντερλευκίνη-6. Είναι αξιοσημείωτο ότι εάν διεγείρεις το «Σύστημα του Στρες» οξέως, για οποιονδήποτε λόγο, ταυτόχρονα θα στείλει σήμα στο «Σύστημα της Αμοιβής» να παράξει ντοπαμίνη, με προφανή σκοπό τη διέγερση της αισιοδοξίας, έτσι ώστε να αντιδράσει κάποιος ανάλογα με το στρεσογόνο ερέθισμα. Προφανώς, είτε πάμε για μάχη είτε για φυγή, χρειαζόμαστε να έχουμε αισιοδοξία, δηλαδή υψηλή ντοπαμίνη. Από την άλλη μεριά, το «Σύστημα της Αμοιβής», μέσω του σκέλους του που απολήγει στον μετωπιαίο λοβό, συνεισφέρει στην κατα-

στολή του «Συστήματος του Στρες», ενώ ο Ιππόκαμπος καταστέλλει τονικά τη λειτουργία του «Συστήματος του Στρες» και των αμυγδαλών.

Είναι ενδιαφέρον ότι εάν η διέγερση του «Συστήματος του Στρες» διαρκέσει πέρα από κάποιο χρονικό διάστημα, το οποίο διαφέρει από άνθρωπο σε άνθρωπο, αυτό σε χρόνια βάση, αντί να διεγείρει, καταστέλλει το «Σύστημα της Αμοιβής» και, συνεπώς, προκαλεί δυσφορία. Γι' αυτό, όταν για ιατρικούς λόγους δοθεί κορτιζόλη, τις πρώτες δυο-τρεις εβδομάδες, συνήθως ο θεραπευόμενος αισθάνεται υπέροχα, αλλά μετά πέφτει σε κατάθλιψη. Αυτή είναι η κλασική διφασική στο χρόνο λειτουργία της κορτιζόλης και του «Συστήματος του Στρες». Αυτή η γνώση είναι σημαντική, διότι εάν με διάφορους τρόπους διεγείρουμε τη λειτουργία του «Συστήματος της Αμοιβής», θα καταστήσουμε το «Σύστημα του Στρες», θα αισθανόμαστε θετικά και θα λειτουργούμε καλύτερα. Δηλαδή, η διέγερση της ευχαρίστησης στον εγκέφαλο καταστέλλει τη δυσφορία που χαρακτηρίζει το χρόνιο στρες. Πολλοί ειδικοί σήμερα στην Αμερική και διεθνώς μιλάνε και γράφουν για την υιοθέτηση «θετικής σκέψης». Αυτή η συμβουλή είναι αποτελεσματική γιατί βασίζεται στην αμφίδρομη σχέση του «Συστήματος του Στρες» και του «Συστήματος της Αμοιβής».

### Η αντίδραση του ανθρώπου στο στρες

Θα αναφερθώ συνοπτικά στην αντίδραση στο στρες: Π.χ., εάν μας απειλεί ένα άγριο ζώο, μπαίνει το αισθητηριακό σήμα στον εγκέφαλό μας μέσω της οπτικής οδού, προχωράει στο θάλαμο, ένα σταθμό των διαφόρων αισθητικών οδών, και διεγείρει τις αμυγδαλές και το στέλεχος του εγκεφάλου, δημιουργώντας φόβο, οπότε ξεκινάει η αντίδραση της φυγής. Παλιά νομίζαμε ότι τα σπλάχνα πρωτογενώς συμμετέχουν στην αντίδραση στο στρες. Αυτά όντως συμμετέχουν, αλλά σε δεύτερη φάση, αφού το ερέθισμα έχει ήδη φτάσει στις αμυγδαλές και έχει προωθηθεί σε κατώτερα κέντρα του στρες στο στέλεχος του εγκεφάλου. Πράγματι, όταν έχουμε στρες, πολλές φορές έχουμε δυσάρεστες συμπαρομαρτούσες εκδηλώσεις από τον γαστρεντερικό σωλήνα ή το καρδιαγγειακό σύστημα.

Πλέον του προηγμένου νεοφλοιού μας, όλοι μας έχουμε και τον παλαιοεγκέφαλο των φυλογενετικά πιο πρωτογόνων ζώων. Εκεί εδράζεται το κέντρο της βασικής λειτουργίας της φυγής, της πάλης ή του παγώματος (fight or flight or freeze). Συνεπώς, δεν είναι μόνο οι αμυγδαλές

που εμπλέκονται στην αντίδραση στο στρες, αλλά υπάρχει και πιο αρχέγονος σχηματισμός στον προμήκη του στελέχους. Στο σχηματισμό αυτό υπάρχει ένα κέντρο για την πάλη, το οποίο συμμετέχει στη γένεση του θυμού ή της οργής, ένα κέντρο για τη φυγή (flight), που συμμετέχει στη γένεση του φόβου ή του άγχους, και, τέλος, μια περιοχή που ακινητοποιεί τελείως το ζώο (freeze), που αντιστοιχεί στην απόσυρση και την κατάθλιψη. Επιπλέον, στην ίδια περιοχή υπάρχει ένα τέταρτο κέντρο που για περιορισμένο χρόνο «εκμηδενίζει» το συναίσθημα και είναι υπεύθυνο για να εξυπηρετεί τη θήρευση, όταν ένας θηρευτής ετοιμάζεται να επιτεθεί σε ένα θήραμα. Πράγματι, όταν οι θηρευτές είναι έτοιμοι να επιτεθούν στο θήραμα, δεν έχουν ούτε θυμό ούτε φόβο, αλλά εστιάζουν την προσοχή τους στο θήραμα χωρίς καθόλου συναίσθημα και επιτίθενται.

Το ενδιαφέρον είναι ότι το κέντρο της αντίδρασης στο στρες στον προμήκη, δηλαδή το κέντρο της μάχης, φυγής ή παγώματος και θήρευσης, ειδοποιείται πολύ γρήγορα από τις αμυγδαλές, περίπου μέσα σε 30 χιλιοστά του δευτερολέπτου, ενώ το ίδιο σήμα μέσω του θαλάμου πηγαίνει, μέσα σε 350 χιλιοστά του δευτερολέπτου, στον μετωπιαίο λοβό και στη νησίδα του Reil, περιοχές που είναι αντίστοιχα υπεύθυνες για την ανάπτυξη στρατηγικής αντιμετώπισης του στρες και τη συμμετοχή των σπλάχνων. Δηλαδή, υπάρχει ένα πρωτόγονο, πολύ βασικό κέντρο αντίδρασης στο στρες στον προμήκη, αλλά εν συνεχεία, σε δεύτερη φάση, ο μετωπιαίος λοβός, που διαχειρίζεται τις εκτελεστικές λειτουργίες, ειδοποιείται να ρυθμίσει τη συναισθηματική αντίδραση του οργανισμού. Η σύνδεση και η δράση αυτή του φλοιού των ανώτερων διεργασιών με και προς τα κατώτερα κέντρα της αντίδρασης στο στρες είναι μία από τις κύριες ιδιότητες που μας κάνουν ανθρώπους.

Η καλύτερη αντίδραση στο στρες είναι ή μάχη ή η φυγή, ανάλογα με την κατάσταση. Αντίθετα, μια καταθλιπτική απάντηση στο στρες αντιστοιχεί στο πάγωμα, δηλαδή τη χαμηλή έκκριση ντοπαμίνης, και την αδράνεια. Βλέπουμε συνεπώς ότι τα συναισθήματα θυμός, φόβος, κατάθλιψη και έλλειψη συναισθήματος αντιστοιχούν στην πάλη, στη φυγή, στο πάγωμα και στη θήρευση. Οι ψυχοπαθητικοί ασθενείς δυστυχώς είναι πολλές φορές κολλημένοι στη θήρευση, δηλαδή δεν διαθέτουν το κατάλληλο συναίσθημα της ενσυναίσθησης και του παραγώγου, της συμπόνιας, και γι' αυτό μπορούν να επιτελέσουν πράξεις

που θα ήταν αποκρουστικές από την πλειονότητα των φυσιολογικών ανθρώπων.

### Στρες και παθήσεις της ψυχής και του σώματος

Υπάρχει παθολογία του οξέος στρες, όπου το στρες πυροδοτεί χρονικά περιορισμένες αρνητικές καταστάσεις, όπως π.χ. ένα επεισόδιο άσθματος, έναν πονοκέφαλο ή ημικρανία ή μια ψυχωσική αντίδραση. Η παθολογία του χρονίου στρες, όμως, είναι εκείνη που είναι υπεύθυνη για όλα τα «χρόνια μη-μεταδιδόμενα νοσήματα», τα οποία ταλανίζουν τις κοινωνίες μας σήμερα. Αυτά τα νοσήματα περιλαμβάνουν το άγχος και την κατάθλιψη, την παχυσαρκία, το μεταβολικό σύνδρομο, την αρτηριακή υπέρταση, τη δυσλιπιδαιμία, την αντίσταση στην ινσουλίνη, τον σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, την άπνοια του ύπνου, το σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών στις γυναίκες, καθώς και τη σαρκωπενία, την οστεοπενία ή την οστεοπόρωση. Τέλος, το χρόνιο στρες προκαλεί αλλαγές στο ανοσιακό σύστημα, που επηρεάζουν τα αυτοάνοσα φλεγμονώδη νοσήματα και καθιστούν τον οργανισμό ευάλωτο σε ορισμένους καρκίνους και ορισμένες λοιμώξεις. Συμπερασματικά, όλα τα χρόνια μη-μεταδιδόμενα νοσήματα έχουν ως κύριο κοινό συστατικό τους το χρόνιο στρες.

Με τη χρήση της λειτουργικής μαγνητικής τομογραφίας βλέπουμε συχνά τη λεγόμενη αποσύνδεση του φλοιού από τα κατώτερα κέντρα. Ασθενείς με παθολογικό άγχος, κατάθλιψη, κ.λπ. χάνουν συνδεσιμότητα (connectivity) μεταξύ του φλοιού του μετωπιαίου λοβού, που μας κάνει ανθρώπους, και των κατωτέρων κέντρων του εγκεφάλου.

Το στρες έχει επίσης σημαντικές επιγενετικές δράσεις στον αναπτυσσόμενο ανθρώπινο εγκέφαλο. Υπάρχουν κρίσιμες χρονικές περιόδους στη ζωή μας, όπως η εμβρυϊκή περίοδος, τα πρώτα πέντε χρόνια της ζωής και η εφηβεία, στις οποίες έχουμε μεγάλη ευαλωτότητα στο στρες. Το στρες μέσω επιγενετικών μηχανισμών μπορεί να μας αλλάξει τελείως τη συμπεριφορά και το συναίσθημα, κυρίως προς το κακό παρά προς το καλό, για όλη την υπόλοιπη ζωή μας.

Αξίζει να σημειωθεί ότι ο ανθρώπινος εγκέφαλος έχει τον ύψιστο αριθμό των νευρωνικών κυκλωμάτων του στην ηλικία των δύο ετών. Εάν κοιτάξει κάποιος τα κυκλώματα στον εγκέφαλο που ασχολούνται με τις λειτουργίες της όρασης, της ακοής, της γλώσσας και των ανώτερων διανοητικών λειτουργιών, θα δει ότι η όραση και η ακοή ωριμάζουν μέσα στον πρώτο χρόνο της ζωής, η γλώσσα

περιέργως έχει οροφή στους εννέα μήνες, όταν το παιδί δεν έχει αρχίσει να μιλάει, ενώ οι εκτελεστικές ανώτερες λειτουργίες έχουν οροφή γύρω στα δύο με τρία χρόνια. Γι' αυτό και το πρώιμο στρες, ξεκινώντας από την εμβρυϊκή ηλικία μέχρι τα πέντε χρόνια της ζωής, έχει δηλητηριώδεις επιδράσεις επάνω στον ανθρώπινο εγκέφαλο. Δυστυχώς, άνθρωποι που εκτέθηκαν νωρίς στο στρες μπορεί να έχουν πρόβλημα με τις υψηλές διανοητικές λειτουργίες τους, που σημαίνει ότι δεν μπορούν να προσαρμοστούν σωστά σε ένα κοινωνικό σύνολο. Δηλαδή, στρες στην εγκυμοσύνη και στο προσχολικό παιδί μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρότατα προβλήματα συμπεριφοράς και συναισθήματος, που αργότερα θα αποτελούν, πιθανόν, ένα μεγάλο ψυχοκοινωνικό και οικονομικό βάρος για την κοινωνία. Ας σημειωθεί ότι οι αμερικανικές φυλακές είναι γεμάτες με ανθρώπους που έχουν κακοποιηθεί στα πέντε πρώτα χρόνια της ζωής τους.

Τα παραπάνω άτομα δεν αναπτύσσουν σωστές εκτελεστικές λειτουργίες, δεν μπορούν να αναλύσουν σωστά το περιβάλλον, ιδίως τα κοινωνικά ερεθίσματα. Συνεπώς, δεν μπορούν να συνδεθούν σωστά με τους συνανθρώπους τους, καθώς, κατά πρώτον, η ενσυναίσθηση είναι πλημμελής, δεύτερον, δεν μπορούν εύκολα να λύσουν προβλήματα, τρίτον, δεν μπορούν να σχεδιάσουν για το μέλλον και, τέταρτον, δεν έχουν την απαραίτητη αυτορρύθμιση του συναισθήματος. Δηλαδή, πολλές φορές δεν λειτουργεί, όπως θα έπρεπε, ο μετωπιαίος λοβός, αλλά μάλλον υπερισχύουν κατώτερα πρωτόγονα κέντρα του παλαιοεγκεφάλου.

Φαίνεται ότι κυρίως η επιγενετική δράση στον εγκέφαλο και στο σώμα ασκείται από τις ορμόνες του στρες, τις ορμόνες του φύλου και τις ορμόνες του ανοσιακού συστήματος (κυτοκίνες). Όλες αυτές οι ουσίες, όταν αυξηθούν πολύ και για μακρό χρονικό διάστημα, μπορούν, κυρίως νωρίς στη ζωή, αλλά και αργότερα, να δράσουν στο γονιδίωμά μας, τροποποιώντας τη λειτουργία του επιγενετικά, και να μας κάνουν διαφορετικούς από ό,τι θα ήμασταν εάν δεν είχαν ασκηθεί αυτές οι δράσεις στον αναπτυσσόμενο οργανισμό μας.

Σε αυτή την επίδραση οφείλονται εν μέρει οι χρόνιες δράσεις του στρες και της φλεγμονής στα χρόνια μη-μεταδιδόμενα νοσήματα. Συνεπώς, ο οργανισμός μας αναπτύσσεται ανάλογα με τη γενετική μας, την αναπτυξιακή μας ιστορία, το χρόνιο στρες που υφίστάμεθα, τη διατροφή μας, αλλά και την ηλικία στην οποία μπορεί να έχουμε

σημαντικές επιγενετικές δράσεις στρεσογόνων ερεθισμάτων πάνω στο «Σύστημα του Στρες». Το αποτέλεσμα είναι να συσσωρεύσουμε σπλαχνικό λίπος, να χάσουμε μυϊκή μάζα και να έχουμε όλα τα παρεπόμενα, που είναι η παχυσαρκία, το μεταβολικό σύνδρομο, η δυσλιπιδαιμία, η υπέρταση, η άπνοια του ύπνου, η οστεοπόρωση, η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, η καρδιαγγειακή νόσος κ.λπ.

### **Ο νευροενδοκρινικός μηχανισμός του στρες και η διαχείρισή του**

Είναι σημαντικό να δούμε πώς δρα στην υγεία η σωστή διαχείριση του στρες, κυρίως μέσω ομαλοποίησης της έκκρισης της κορτιζόλης. Φυσιολογικά, το πρωί περίπου στις 3.00 π.μ., ο οργανισμός μας αρχίζει να παράγει κορτιζόλη για να μας προετοιμάσει για τις δυσκολίες της επόμενης ημέρας, εάν κατά μέσο όρο ξυπνάμε γύρω στις 8.00 π.μ. Δηλαδή, η παραγωγή κορτιζόλης εκκρίνεται «προβλεπόμενα» το στρες της επόμενης ημέρας, το οποίο προϋποθέτει ότι θα λάβει χώρα κυρίως τις πρωινές ώρες. Όμως, τις βραδινές ώρες, και μέχρι τις 3.00 το επόμενο πρωί, η έκκριση της κορτιζόλης είναι φυσιολογικά πολύ χαμηλή, έτσι ώστε να επιτρέπει την επιδιόρθωση των ιστών από τις βλάβες στο καρδιαγγειακό και άλλα συστήματα που δημιουργήθηκαν τις πρωινές ώρες.

Η ευαισθησία των ιστών μας στην κορτιζόλη είναι υψηλή το βράδυ, όταν η κορτιζόλη είναι φυσιολογικά χαμηλή. Εάν δεν κατέβει αρκετά η κορτιζόλη, ή έστω και εάν είναι λίγο ανεβασμένη τις βραδινές και τις πρώτες νυκτερινές ώρες, μπορεί να εμποδίσει την επιδιόρθωση των ιστών και να επιτρέψει τη χρόνια συσσώρευση βλαβών. Αυτό ισχύει όχι μόνο για την καρδιά και τα αγγεία μας, αλλά για όλους τους ιστούς, συμπεριλαμβανομένου του εγκεφάλου και του «Συστήματος της Αμοιβής». Είναι ο βασικός τρόπος με τον οποίο το χρόνιο στρες μάς βλάπτει. Τα στρεσαρισμένα άτομα έχουν αρκετά ανεβασμένη κορτιζόλη στην κυκλοφορία τους, που τις απογευματινές και βραδινές ώρες δεν κατεβαίνει στα φυσιολογικά όρια. Εάν κάποιος εργάζεται εναλλακτικά ημέρες και νύχτες ή ακόμα και εάν αλλάζει το ωράριό του κάθε μέρα, γίνεται αποσύζευξη του κερκάρδιου ρυθμού της έκκρισης κορτιζόλης και της ιστικής της δράσης, εκθέτοντας τους ιστούς σε συνολικά αυξημένη δράση κορτιζόλης. Αυτό ισοδυναμεί με υπερευαισθησία των ιστών στα γλυκοκορτικοειδή, με αποτέλεσμα τις αναμενόμενες παθολογικές δυσλειτουργίες του υπερκορτιζολισμού.

### **Στρες και ευδαιμονία**

Κατά τον Αριστοτέλη, ο άνθρωπος αποτελείται από τη Φύση, το Έθος και το Λόγο. Δηλαδή, η Φύση αντιστοιχεί στη γενετική, το Έθος στο περιβάλλον και την επιγενετική επίδρασή του, και ο Λόγος στη λογική. Εάν δεν μπορούμε να απομακρύνουμε τον στρεσογόνο παράγοντα, π.χ. κάτι που ειδικά μας στρεσάρει, θα πρέπει να διαχειριστούμε το στρες μας, κι εδώ είναι που υπεισέρχεται η λογική.

Γνωρίζουμε ότι για να είναι κάποιος ευτυχής χρειάζονται ορισμένα βασικά κοινωνικά προαπαιτούμενα (vide infra), καθώς και σωστή διατροφή, άσκηση, σωστό ύπνο και κανονικότητα των γευμάτων και του ύπνου. Επίσης, σημαντικό είναι να έχει κάποιος την εμπειρία που λέγεται «ροή» (flow) στη γλώσσα της Ψυχολογίας, δηλαδή το να περνάει χρόνο με κάποια ασχολία για την οποία παθιάζεται τόσο, που να ξεχνάει το πέρασμα του χρόνου. Πράγματι, όσο πιο πολύ ροή έχει κάποιος/α μέσα σε μια εβδομάδα τόσο αυξάνει ο θετικός συναισθηματικός του/της τόνος, ενώ ελαττώνεται η δυσφορία του στρες. Επίσης, υπάρχουν μέθοδοι παιδείας του εγκεφάλου με διάφορες διαδικασίες, όπως ο διαλογισμός, η χαλάρωση, η γιόγκα κ.λπ. Αλλά το πιο σημαντικό για την απόκτηση ευδαιμονίας είναι η ύπαρξη νοήματος ζωής, δηλαδή το να ζει κάποιος με αριστοτελική εντελέχεια.

Τα κοινωνικά προαπαιτούμενα είναι η ασφάλεια, η κοινωνική ενσωμάτωση, το να αισθάνεται κάποιος περήφανος για αυτό που κάνει -να ξέρει ότι το κάνει καλά, ασχέτως του τι είναι αυτό-, να είναι αυθεντικός και αυτόνομος. Αυτά τα κοινωνικά προαπαιτούμενα είναι πολύ σημαντικά, μαζί με τα άλλα βασικά προαπαιτούμενα, όπως η διατροφή, η άσκηση κ.λπ., που αναφέρθηκαν παραπάνω.

Εν πολλοίς, είναι πιθανόν ο μηχανισμός του φαινομένου placebo (ανακούφιση της δυσφορίας ψυχολογικής αιτιολογίας καθώς και πόνου) να περιλαμβάνει διέγερση του «Συστήματος της Αμοιβής» στον εγκέφαλο και, κατά τη γνώμη μου, να αντιστοιχεί στον κεντρικό μηχανισμό ελέγχου του ψυχικού και σωματικού στρες που επιτυγχάνεται με διάφορες μεθόδους. Μέσω του «Συστήματος της Αμοιβής», απενεργοποιείται το «Σύστημα του Στρες» και τα χρόνια στρεσαρισμένα, δυσφορικά άτομα αισθάνονται καλύτερα. Δηλαδή, μπορούμε οι ίδιοι υποσυνείδητα να επηρεάσουμε το πώς αισθανόμαστε τον ψυχικό και τον σωματικό πόνο. Επιπλέον, αισθανόμεθα καλά με τις θετικές σκέψεις, τον θετικό λόγο και τις ενάρετες πράξεις, σύμφωνα με τις αρχαίες ελληνικές αρετές και τις παναν-

θρώπινες αξίες. Τα βασικά προαπαιτούμενα που ανέφερα παραπάνω, το φαινόμενο της ροής, οι νοητικές ασκήσεις και, τέλος, η εύρεσις νοήματος ζωής, όλα αυτά αυξάνουν τη λειτουργία του «Συστήματος της Αμοιβής» και καταστέλλουν το «Σύστημα του Στρες».

Αντίστροφα, υπάρχει το φαινόμενο nocebo, με μηχανισμό αντίθετο από αυτόν του placebo. Οι αρνητικές σκέψεις, ο αρνητικός λόγος και οι βλαβερές πράξεις, καθώς και η έλλειψη νοήματος στη ζωή, έχουν ακριβώς την αντίθετη δράση, δηλαδή την καταστολή του «Συστήματος της Αμοιβής» και την πρόκληση διέγερσης του «Συστήματος του Στρες» και της δυσφορίας που τη συνοδεύει. Τα άτομα που διεγείρουν το φαινόμενο nocebo είναι δυσφορικά, με πιθανόν σημαντική αποσύνδεση του εγκεφαλικού φλοιού τους από τον κατώτερο εγκέφαλο, έχουν καταστροφικά συναισθήματα και εκφράζουν συμπεριφορές που δεν θα έπρεπε να έχουν.

Και για εμάς τους φροντιστές ανθρώπων, είναι σημαντικό το να έχουμε σωστή σχέση με τον φυσιολογικά στρεσορισμένο, δυσφορικό ασθενή, έτσι ώστε αυτός/ή να αισθάνεται ανακουφιστική εμπιστοσύνη, με ενεργοποίηση του μηχανισμού placebo και του «Συστήματος της Αμοιβής», και απενεργοποίηση του «Συστήματος του Στρες». Εάν δηλαδή κάποιος με ένα ψυχοσωματικό νόσημα -που είναι και η πλειονότητα των σύγχρονων νοσημάτων- πάει σε έναν «καλό» γιατρό, που τον ακούει υπομονετικά και τον εμπυχώνει ή σε έναν «κακό» γιατρό που του δίνει μια συνταγή και τον αποπέμπει, το αποτέλεσμα στη θεραπεία και την έκβαση της νόσου μπορεί να είναι διαμετρικά αντίθετο.

### Η φιλοσοφική αντιμετώπιση του στρες

Η τετραφάρμακος του Επίκουρου αντιμετωπίζει το στρες φιλοσοφικά. Οι άνθρωποι στο παρελθόν ήταν πολύ δεισιδαίμονες, φοβούνταν θεϊκές τιμωρίες κ.λπ., όμως αυτά κατά τον Επίκουρο δεν ισχύουν. Ο Θεός, πίστευε, αν υπάρχει, είναι σε κατάσταση ευδαιμονίας και δεν ασχολείται με τις καθ' ημέραν πράξεις των ανθρώπων. Ο Επίκουρος, επίσης, όπως ο Αριστοτέλης πίστευε ότι δεν υπάρχει ζωή μετά θάνατον, δεδομένου ότι η ψυχή διαλύεται μαζί με το σώμα. Επιπλέον, υποστήριζε ότι είναι εύκολο να αποκτήσουμε αυτό που μας κάνει ευτυχείς και εύκολο να υπομείνουμε αυτό που μας κάνει να υποφέρουμε: «Άφοβον ο θεός, ανύποπτον ο θάνατος, το μεν αγαθόν εύκτητον, το δε δεινόν ευεκαρτέρητον». Αλλά και ο πλατωνικός Πλού-

ταρχος αργότερα έγραψε «κράτιστον δη προς αλυπίαν φάρμακον ο λόγος και η διά τούτου παρασκευή προς πάσας του βίου μεταβολάς».

Ο Πλάτων είχε γράψει ότι η «Επιστήμη είναι ποιητική ευδαιμονίας». Πράγματι, όταν αποκτάς νέα γνώση, όταν μαθαίνεις κάτι καλά, ιδιαίτερα όταν σπουδάζεις τη φύση, αυτή η διαδικασία φέρνει ευχαρίστηση. Ο Μάρκος Αυρήλιος, ως Στωικός φιλόσοφος ο ίδιος, είχε γράψει στους Διαλογισμούς του ότι «εάν είσαι στρεσορισμένος από κάτι εσωτερικό ή εξωτερικό, ο πόνος δεν οφείλεται σε αυτό που σε απασχολεί, αλλά στο πώς εσύ το αξιολογείς. Και αυτό έχεις τη δύναμη να το αναστείλεις ανά πάσα στιγμή». Οι Στωικοί και αυτοί είχαν πολλές σωστές σκέψεις και συμβουλές για την ανθρωπότητα. Ο Χριστιανισμός έχει πάρει επιλεκτικά έννοιες και από τους Στωικούς και από τους Επικούρειους. Στην Αλεξάνδρεια της Αιγύπτου, στους ελληνιστικούς χρόνους, όπου έγινε η περίφημη μετάφραση της Παλαιάς Διαθήκης από τα εβραϊκά στα ελληνικά από τους «Εβδομήκοντα», η απόλυτα λογική φιλοσοφία του Επίκουρου διατάραξε τόσο πολύ την πίστη των Ιουδαίων, που επέσυρε την μίση των Φαρισαίων κατά του φιλοσόφου. Ακόμη και σήμερα, ο όρος «επίκουρο» στα εβραϊκά σημαίνει «άθλιος».

Η επιστήμη παραδέχεται ότι ο διαλογισμός και άλλες νοοπαιδείες, συμπεριλαμβανομένης της προσευχής, ανακουφίζουν από το στρες. Το πρόβλημα με αυτές τις μεθόδους όμως είναι ότι η δράση τους δεν διαρκεί πολύ, γι' αυτό πρέπει να λαμβάνουν χώρα τουλάχιστον δύο φορές την ημέρα. Οι αρχαίοι μας φιλόσοφοι επίσης έκαναν διαλογισμό, αλλά αναφερόντουσαν σε αυτόν με άλλους όρους, όπως η «έκσταση» του Πλωτίνου.

### Η αναζήτηση της ευδαιμονίας

Οι αρχαίοι Έλληνες έλεγαν «ευτυχίαν εύχον», δηλαδή «ευχήσου να είσαι ευτυχής, αναζήτησε την ευτυχία». Ο Επικουρισμός εκφράζει αυτό ακριβώς αυτή την ιδέα. Η Αμερική ήταν καλότυχη που ο Τζέφερσον έγραψε τη Διακήρυξη της Ανεξαρτησίας της, δεδομένου ότι ο Τζέφερσον ήταν καθαρά Επικούρειος. Η αναζήτηση της ευτυχίας προφανώς δεν αφορά το λεγόμενο κυνήγι του επόμενου στόχου (chasing the next high), δηλαδή το να αποκτήσεις κάποιο υλικό αγαθό που επιθυμείς, δεδομένου ότι μετά από λίγες ημέρες χάνεται το συναίσθημα της «ευτυχίας» και πρέπει να προχωρήσεις στην επόμενη απόκτηση. Στην ουσία, κάποιος πρέπει να κάνει κάτι που να τον/τη

γερμίζει. Το πάθος για κάποια απασχόληση, η ροή, διαρκεί πιο πολύ, αλλά όχι αρκετά. Είναι η υπέρβαση του εαυτού, ένα υψηλό νόημα ζωής, που προσφέρει ευδαιμονία. Πιστεύω ότι ο Επίκουρος το είχε πάρα πολύ αυτό το συναίσθημα, και ήταν ευδαιμονικός ακριβώς επειδή μπορούσε να βοηθάει τους συνανθρώπους του. Είχε γράψει πολλούς τόμους, καθώς παρήγαγε τον έναν τόμο μετά τον άλλον. Είναι κρίμα που χάθηκαν τα έργα του Επίκουρου και ευτυχώς που βρέθηκε το βιβλίο του Λουκρήτιου "De Res Natura" με όλη τη φιλοσοφία του Επίκουρου γραμμένη στα λατινικά σε έμμετρο λόγο, που σήμανε την απαρχή του Ευρωπαϊκού Διαφωτισμού.

Ο Επίκουρος θεωρούσε ότι «όταν κατέχουμε την ευδαιμονία έχουμε τα πάντα, ενώ όταν αυτή λείπει, κάνουμε τα πάντα για να την αποκτήσουμε». Όπως ο ίδιος διευκρίνισε, η ηδονή, αλλά, κατά βάση, η ενάρτη ευδαιμονία είναι ο σκοπός της ζωής.

Μια πρόσφατη μελέτη στις ΗΠΑ εξέτασε εθελοντές

σχετικά με την ηδονή και την ευδαιμονία τους, και βρήκε θετική συσχέτιση μεταξύ των δύο. Δηλαδή, όσο πιο καλά λειτουργεί το «Σύστημα Αμοιβής» τόσο καλύτερη ηδονή και ευδαιμονία θα νιώσει κάποιος. Όμως, εάν βάλεις και τα δύο μαζί, αυτό που υπερτερεί είναι η ευδαιμονία, η οποία υπερκαλύπτει την αίσθηση της ηδονής. Όταν οι ερευνητές έλεγξαν την έκφραση γονιδίων του στρες και της φλεγμονής στους εθελοντές αυτούς, οι άνθρωποι που είχαν κυρίως ηδονή είχαν αυξημένη έκφραση των γονιδίων του στρες και της φλεγμονής, ενώ οι άνθρωποι που ήταν ευδαιμονες είχαν ελαττωμένη έκφραση αυτών των γονιδίων. Σήμερα γνωρίζουμε ότι περιορισμένο στρες και χαμηλή φλεγμονή συνεπάγονται όχι μόνο καλή υγεία, αλλά και μακροβιότητα, δεδομένου ότι δεν καταπονείται ο οργανισμός από τα καθημερινά στρεσογόνα ερεθίσματα, αλλά, αντίθετα, έχει την ικανότητα να επιδιορθώνει τις όποιες βλάβες δημιουργήθηκαν κατά τη διάρκεια της ημέρας. ■

### Stress Management and Epicurean Philosophy

**Chrousos GP**

Emeritus professor of Pediatrics and endocrinology, Head of UNESCO Office of Adolescent Health and Medicine

At modern times, Epicurean philosophy fits life better than any other. Epicurus made no mistakes in what he wrote, while other intellectuals of his time, even Plato and Aristotle, had promoted some clearly unscientific ideas. Therefore, in some way, I agree with Nietzsche, who wrote that "after Epicurus philosophy has not advanced a single step". It is not random that the discovery of the long poem of Lucretius "de Rerum Natura", with the full description of Epicurean philosophy, not only served as the signal of the beginning of European Enlightenment, but also accelerated its pace.

My research has mainly focused on stress, its physiology and pathophysiology and on how can one cope with it, so as to live in the

most eudaimonic fashion. There are important Epicurean concepts that have a direct relation to stress and stress management. To start with, the Epicurean "eustatheia" corresponds to the "isonomia" of Alkmaeon and to the "homeostasis" of Walter Cannon. Then, eudaimonia was thought as conceived by Hippocrates and Aristotle but further enhanced by Epicurus. The third Epicurean concept is that the search for eustatheia and eudaimonia are a purpose in life and that the practice of the virtues is the means to obtain them. Epicurus, in contrast to all other philosophers of his time, believed that eudaimonia could be acquired by all people, rich and poor, men and women, free and slaves,

a totally democratic approach. Epicurus also proposed the therapy of the soul, which today is most effective as "cognitive and behavioral therapy". Epicureanism, therefore, represents the main philosophic current of stress management and search for eudaimonia. The tetrapharmacos of the philosopher is but the beginning of this search.

**KEY WORDS: Stress, philosophy, Epicurus, Stress management, Homeostasis, European Enlightenment, Cognitive behavioral therapy, eudaimonia, Complexity, Reward system, Stress system**

ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Gold PW, FK Goodwin, GP Chrousos. Clinical and biochemical manifestations of depression. *New England Journal of Medicine* 319 (7), 413-420, 1988.
2. Chrousos GP, PW Gold. The concepts of stress and stress system disorders: overview of physical and behavioral homeostasis. *Jama* 267 (9), 1244-1252, 1992.
3. Chrousos GP. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation. *New England Journal of Medicine* 332 (20), 1351-1363, 1995.
4. Papanicolaou D, RL Wilder, SC Manolagas, GP Chrousos. The pathophysiologic roles of interleukin-6 in human disease. *Annals of Internal medicine* 128 (2), 127-137, 1998.
5. Tsigos C, Chrousos GP. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *Journal of psychosomatic research* 53 (4), 865-871, 2002.
6. Charmandari E, CTsigos, G Chrousos. Endocrinology of the stress response. *Annu. Rev. Physiol.* 67, 259-284, 2005.
7. Chrousos GP. Stress and disorders of the stress system. *Nature reviews endocrinology* 5 (7), 374, 2009.
8. Fredrickson BL, KM Grewen, KA Coffey, SB Algoe, AM Firestone, JMG Arevalo, J Ma, and SW Cole. A functional genomic perspective on human well-being. *PNAS* 110: 13684-13689, 2013.
9. Χρούσος Γ. Στρες: Από τον Πυθαγόρα στη Βιολογία Συστημάτων και τη Σύγχρονη Ιατρική. *Δελτίο Α' Παιδιατρικής Κλινικής Πανεπιστημίου Αθηνών* 66 (1): 13-16, 2016.
10. Chrousos GP. Hellenistic Medicine and the Library of Alexandria: Its Influence in the West and the East. In: *Hellenistic Alexandria: Celebrating 24 Centuries*. Eds. C.S. Zerefos, M. V. Vardinoyannis. Archaeopress, Oxford. P 277-280, 2018.

# Aspergillus fumigatus και κυστική ίνωση

Μ. Νόνη<sup>1</sup>, Α. Κατελάρη<sup>2</sup>, ΣΕ Ντουντουνάκης<sup>2</sup>, Β. Σπούλου<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Α' Παιδιατρική Κλινική ΕΚΠΑ, Τμήμα Λοιμώξεων, Νοσοκομείο Παιδών «Η Αγία Σοφία»

<sup>2</sup>Ινστιτούτο Υγείας του Παιδιού

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η κυστική ίνωση είναι το συχνότερο γενετικό νόσημα της λευκής φυλής με περιοριστικό για τη ζωή χαρακτήρα. Οι ασθενείς παρουσιάζουν υποτροπιάζουσες λοιμώξεις του αναπνευστικού που οδηγούν σε έκπτωση της αναπνευστικής λειτουργίας. Βακτήρια όπως *Staphylococcus aureus* και *Pseudomonas aeruginosa* θεωρούνται μεταξύ των συχνότερων

παθογόνων μικροοργανισμών και ο ρόλος τους έχει μελετηθεί εκτενώς. Τελευταία, το ενδιαφέρον έχει στραφεί στην κλινική σημασία της απομόνωσης μυκήτων στις βρογχικές εκκρίσεις των ασθενών, όπως τα είδη του γένους *Aspergillus*. Η παρούσα ανασκόπηση περιγράφει το κλινικό φάσμα των νοσημάτων από *A. fumigatus* στην κυστική ίνωση.

**ΛΕΞΕΙΣ ΚΥΡΗΤΗΡΙΟΥ:** κυστική ίνωση, μύκητες, *Aspergillus fumigatus*, αποικισμός, ευαισθητοποίηση, αλλεργική βρογχοπνευμονική ασπεργίλλωση

## Εισαγωγή

Η κυστική ίνωση είναι το συχνότερο γενετικό νόσημα της λευκής φυλής, με περιοριστικό για τη ζωή χαρακτήρα, και οφείλεται σε μεταλλάξεις στο γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη ρυθμιστή της διαμεμβρανικής αγωγιμότητας (CFTR, Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator). Τα τελευταία 30 χρόνια το προσδόκιμο επιβίωσης αυξάνεται διαρκώς χάρη στην πρώιμη διάγνωση μέσω του νεογνικού screening και την αποτελεσματικότερη υποστηρικτική θεραπεία και αγγίζει πλέον τα 45,2 έτη<sup>1</sup>.

Η κυστική ίνωση είναι μια πολυσυστηματική νόσος και οι ασθενείς εκδηλώνουν μια ποικιλομορφία συμπτωμάτων ανάλογα με το βαθμό προσβολής των διαφόρων οργάνων. Η πλειονότητα των ασθενών παρουσιάζει επαναλαμβανόμενες λοιμώξεις του αναπνευστικού συστήματος, οι οποίες οδηγούν στην έκπτωση της αναπνευστικής λειτουργίας. Μέχρι σήμερα, η έρευνα για τους υπεύθυνους παθογόνους μικροοργανισμούς είχε επικεντρωθεί στα παθογόνα βακτήρια, όπως ο *Staphylococcus aureus*, η

*Pseudomonas aeruginosa*, ο *Haemophilus influenzae*, το σύμπλεγμα *Burkholderia cepacia* κ.ά. Τελευταία, το ενδιαφέρον έχει στραφεί στην κλινική σημασία της απομόνωσης μυκήτων στις βρογχικές εκκρίσεις των ασθενών, όπως τα είδη *Aspergillus* και *Candida*<sup>2,3</sup>. Μεταξύ των ειδών του γένους *Aspergillus*, ο *Aspergillus fumigatus* θεωρείται ο υφομύκητας με τη μεγαλύτερη συχνότητα απομόνωσης.

Η παρούσα ανασκόπηση περιγράφει το κλινικό φάσμα των νοσημάτων από *A. fumigatus* στην κυστική ίνωση.

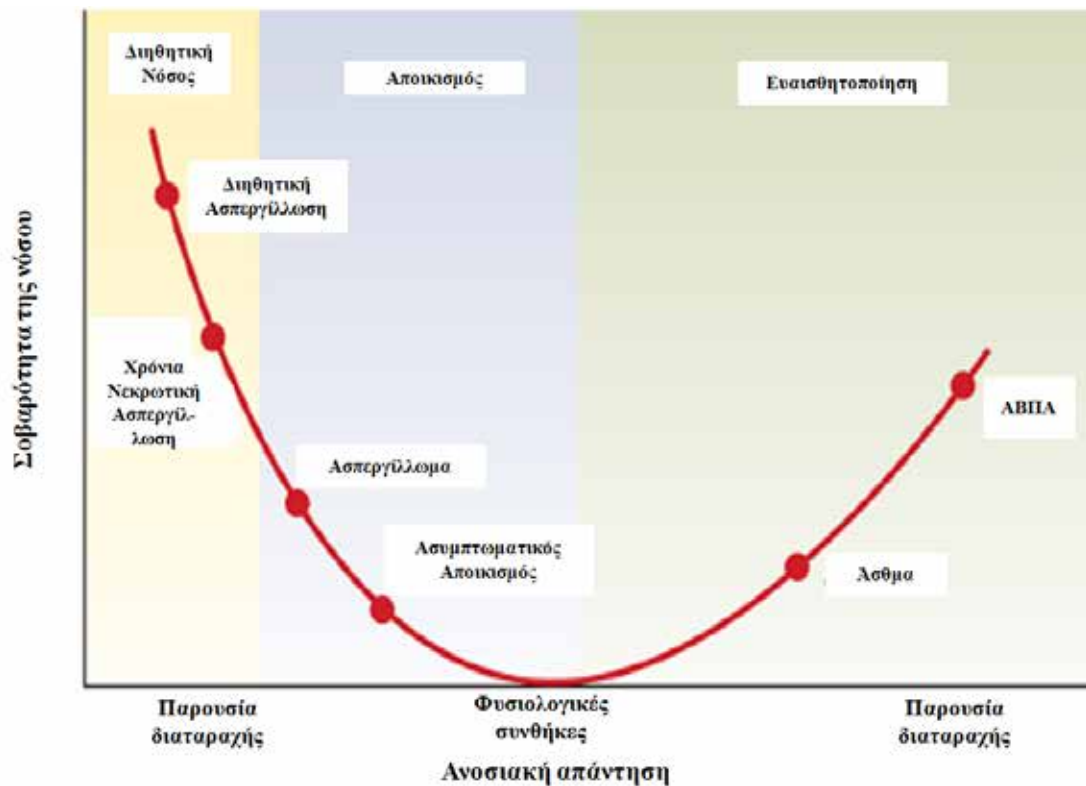
## Το γένος *Aspergillus*

Οι μυκηλιακοί μύκητες του γένους *Aspergillus* εντοπίζονται συνήθως στο έδαφος, στη σκόνη και σε οργανική ύλη που βρίσκεται σε αποσύνθεση. Οι μύκητες αυτοί καλούνται και υφομύκητες διότι σχηματίζουν υφές με διαφράγματα και χαρακτηριστικές διχοτόμες διακλαδώσεις.

Οι σπόροι αναπαραγωγής αποκαλούνται κονίδια, παράγονται σε μεγάλες ποσότητες και παραμένουν στην ατμόσφαιρα για ώρες, χάρη στο μικρό μέγεθός τους το οποίο δεν ξεπερνά τα 3-5μm. Ανάλογα με τις διάφορες

## Υπεύθυνος επικοινωνίας

Νόνη Μαρία, Παιδίατρος, Εξειδικευόμενη Λοιμωξιολογίας, Α' Παιδιατρική Κλινική ΕΚΠΑ E-mail: marianoni21@gmail.com



**Εικόνα 1.** Διαγραμματική παρουσίαση των νοσημάτων που προκαλούνται από τα είδη *Aspergillus*.

μελέτες, η μέση συγκέντρωση των κονιδίων στην ατμόσφαιρα είναι περίπου 0,2 με 15 κονίδια/m<sup>3</sup>, και φτάνει τα 10<sup>6</sup> κονίδια/m<sup>3</sup> σε αγροτικές εγκαταστάσεις. Μέχρι σήμερα, έχουν αναγνωριστεί περισσότερα από 250 είδη *Aspergillus*, εκ των οποίων ο *A. fumigatus* θεωρείται υπεύθυνος για τα περισσότερα νοσήματα. Από τα υπόλοιπα είδη, οι *A. flavus*, *A. niger*, *A. nidulans*, *A. terreus* απαντώνται με μικρότερη συχνότητα<sup>4</sup>.

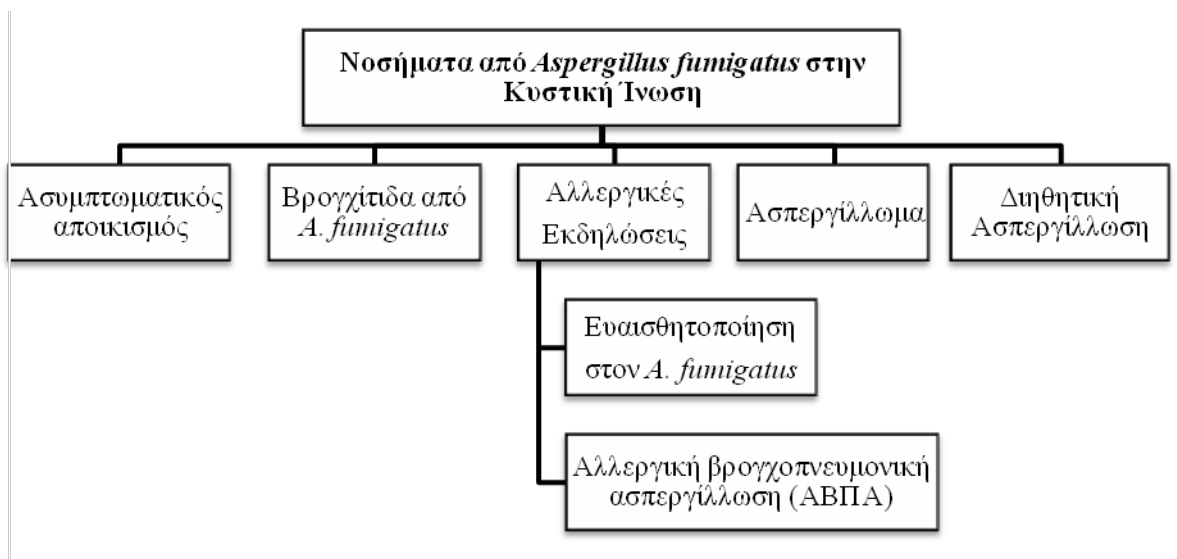
Καθημερινά εισπνέουμε εκατοντάδες κονίδια. Στα υγιή άτομα, ο μύκητας απομακρύνεται γρήγορα από τον οργανισμό χωρίς επακόλουθες παθολογικές συνέπειες. Αντίθετα, τα άτομα με υποκείμενα νοσήματα παρουσιάζουν αυξημένες πιθανότητες να εκδηλώσουν κάποιο νόσημα εξαιτίας της προβληματικής διαχείρισης των κονιδίων<sup>5,6</sup>. Τα νοσήματα που προκαλεί το γένος *Aspergillus* ξεκινούν συνήθως από το αναπνευστικό σύστημα και ομαδοποιούνται σε τρεις κύριες κατηγορίες: α) λοιμώξεις οι οποίες εκδηλώνονται έπειτα από τον αποικισμό βλεννογονικών επιφανειών χωρίς να παρατηρείται διήθηση των ιστών, β) νοσήματα υπερευαισθησίας, τα οποία προκαλούνται από

την απάντηση του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή στην παρουσία του μύκητα, και γ) διηθητικές λοιμώξεις, οι οποίες χαρακτηρίζονται από την ανάπτυξη υφών εντός των ιστών (**Εικόνα 1**)<sup>7</sup>.

**Το κλινικό φάσμα των νοσημάτων από *Aspergillus fumigatus* στην κυστική ίνωση**

Η εισπνοή των κονιδίων του *A. fumigatus* από τους ασθενείς με κυστική ίνωση μπορεί να οδηγήσει σε ένα συγκεκριμένο φάσμα πνευμονικών εκδηλώσεων. Η απάντηση, όμως, του κάθε ασθενούς στο μύκητα μπορεί να είναι εντελώς διαφορετική, για λόγους οι οποίοι δεν έχουν διευκρινιστεί πλήρως<sup>8</sup>. Τα τελευταία χρόνια, η ταξινόμηση των πνευμονικών νοσημάτων διευρύνεται σε μια προσπάθεια να διευκολυνθούν οι μελλοντικές ερευνητικές προσπάθειες στον τομέα της παθογένειας των νοσημάτων και των αποτελεσματικότερων θεραπευτικών παρεμβάσεων<sup>9</sup>.

Σε γενικές γραμμές, μετά την εισπνοή των κονιδίων, οι ασθενείς δύναται: α) να αποικιστούν με *A. fumigatus* για



**Εικόνα 2.** Κλινικό φάσμα των νοσημάτων από *Aspergillus fumigatus* στην κυστική ίνωση.

μικρό χρονικό διάστημα (παροδικοί φορείς) ή για μεγάλο χρονικό διάστημα (χρονίως αποικισμένοι), β] να παρουσιάσουν βρογχίτιδα από *A. fumigatus*, γ] να παρουσιάσουν ευαισθητοποίηση στον *A. fumigatus*, δ] να αναπτύξουν αλλεργική βρογχοπνευμονική ασπεργίλλωση (ΑΒΠΑ). Εξαιρετικά σπάνια και μόνο σε μεμονωμένες περιγραφές περιπτώσεων αναφέρεται η εμφάνιση ασπεργίλλωματος<sup>10</sup> και, ακόμα πιο σπάνια, η εμφάνιση διθητικής ασπεργίλλωσης<sup>11,12</sup>.

### α) Ασυμπτωματικός αποικισμός

Η συχνότητα απομόνωσης του *A. fumigatus* στις βρογχικές εκκρίσεις των ασθενών με κυστική ίνωση κυμαίνεται στη διεθνή βιβλιογραφία από 6 έως 58%. Οι μεγάλες διακυμάνσεις στη συχνότητα απομόνωσης εντοπίζονται τόσο μεταξύ των παιδιατρικών όσο και ενηλίκων ασθενών, αλλά και μεταξύ των γεωγραφικών περιοχών της Ευρώπης και της Βορείου Αμερικής<sup>13</sup>.

Η μεγάλη διακύμανση στα ποσοστά απομόνωσης έχει αρκετές ερμηνείες. Κατά κύριο λόγο οφείλεται στα διαφορετικά πρωτόκολλα καλλιέργειας των μυκήτων τα οποία εφαρμόζονται στα μικροβιολογικά εργαστήρια. Οι διαφορές αυτές εντοπίζονται κυρίως στη θερμοκρασία, στο χρόνο επώασης, στα καλλιεργητικά υλικά και στη χρήση συμβατικών ή μοριακών τεχνικών ανίχνευσης. Οι διαφορετικές τεχνικές δειγματοληψίας όπως το φαρυγγικό επίχρισμα, τα πτυέλα και

το βρογχοκυψελιδικό έκπλυμα (BAL, Bronchoalveolar Lavage) διαφοροποιούν, επίσης, τα ποσοστά απομόνωσης. Έχει, μάλιστα, διαπιστωθεί έπειτα από σύγκριση καλλιεργειών πτυέλων με καλλιέργειες BAL ότι οι πρώτες οδηγούν σε υποεκτίμηση της παρουσίας του *A. fumigatus*<sup>14</sup>.

Η σύγκριση των επιδημιολογικών στοιχείων μεταξύ διαφόρων κέντρων κυστικής ίνωσης παρουσιάζει δυσκολίες λόγω των σημαντικών διαφορών οι οποίες εντοπίζονται τόσο στις μικροβιολογικές πρακτικές όσο και στη συχνότητα παρακολούθησης των ασθενών. Χαρακτηριστικά αναφέρουμε ότι σε μια αναδρομική έρευνα που πραγματοποιήθηκε στο Ηνωμένο Βασίλειο για την περίοδο 1985 με 2005, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της απομόνωσης *A. fumigatus* από 18% σε 9%. Αντίθετα αποτελέσματα όμως, προέκυψαν, σε μια παρόμοια μελέτη από τον Καναδά, σύμφωνα με την οποία η απομόνωση του μύκητα παρουσίασε αύξηση από 13% σε 20%<sup>13,15</sup>.

Οι μοριακές ανιχνευτικές μέθοδοι που έχουν εφαρμοστεί για τον *A. fumigatus* σε περιπτώσεις ασθενών με κυστική ίνωση καταδεικνύουν ότι διαφορετικοί γονότυποι δύναται να είναι ταυτόχρονα παρόντες στο ίδιο δείγμα πτυέλων, αλλά ένας γονότυπος θα επικρατήσει τελικώς κατά τον χρόνιο αποικισμό<sup>16</sup>. Η απομόνωση διαφορετικών γονοτύπων σε ξεχωριστά δείγματα πτυέλων πιθανότητα να αποδεικνύει την ικανότητα του ατόμου να απο-

**Πίνακας 1. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΑΣΥΜΠΤΩΜΑΤΙΚΟΥ ΑΠΟΙΚΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΒΡΟΓΧΙΤΙΔΑΣ ΑΠΟ ASPERGILLUS FUMIGATUS**

Ασυμπτωματικός αποικισμός	Βρογχίτιδα
Απουσία νέας συμπτωματολογίας	Νέα συμπτωματολογία από το αναπνευστικό σύστημα η οποία δεν ανταποκρίνεται στην αντιμικροβιακή αγωγή
Απομόνωση <i>A. fumigatus</i> σε ποσοστό >50% των καλλιιεργειών ενός έτους	Απομόνωση <i>A. fumigatus</i> σε ποσοστό >50% των καλλιιεργειών ενός έτους
Απουσία απότομης επιδείνωσης της αναπνευστικής λειτουργίας	Απότομη επιδείνωση της αναπνευστικής λειτουργίας
Δεν πληρούνται τα κριτήρια της ΑΒΠΑ	Δεν πληρούνται τα κριτήρια της ΑΒΠΑ
Άγνωστη ανταπόκριση στην αντιμυκητιασική αγωγή	Καλή ανταπόκριση στην αντιμυκητιασική αγωγή
Τιμή ειδικής έναντι του <i>A. fumigatus</i> IgG αξιολογούμενη ως αρνητική	Αυξημένη τιμή ειδικής έναντι του <i>A. fumigatus</i> IgG
Τιμή ειδικής έναντι του <i>A. fumigatus</i> IgE αξιολογούμενη ως αρνητική	Τιμή ειδικής έναντι του <i>A. fumigatus</i> IgE αξιολογούμενη ως αρνητική
Θετική/Αρνητική PCR για <i>A. fumigatus</i>	Θετική PCR για <i>A. fumigatus</i>
Απουσία γαλακτομαννάνης στα πτύελα	Παρουσία γαλακτομαννάνης στα πτύελα

ΑΒΠΑ: Αλλεργική βρογχοπνευμονική ασπεργίλλωση

μακρύνει κάποια στελέχη και παράλληλα να αποικίζεται από άλλα. Η επαναλαμβανόμενη απομόνωση, όμως, του ίδιου γονοτύπου είναι περισσότερο ανησυχητική, διότι υποδηλώνει την αδυναμία του ασθενούς να απομακρύνει το μύκητα από το αναπνευστικό του σύστημα, κάτι το οποίο μπορεί να έχει αρνητικό αντίκτυπο στην πνευμονοπάθειά του<sup>17</sup>.

Πεδίο ιδιαίτερου ενδιαφέροντος αποτελεί τελευταία ο χρόνιος ασυμπτωματικός αποικισμός με *A. fumigatus*, δηλαδή οι επανειλημμένες απομονώσεις του μύκητα στις καλλιέργειες βρογχικών εκκρίσεων των ασθενών χωρίς την εκδήλωση κλινικής συμπτωματολογίας. Προς το παρόν, δεν υπάρχει ενιαίος τρόπος ορισμού του χρόνιου αποικισμού. Παλαιότερα είχε θεωρηθεί ως η παρουσία *A. fumigatus* στις βρογχικές εκκρίσεις<sup>18,19</sup>, ενώ κατά άλλους ως η απομόνωση *A. fumigatus* σε τουλάχιστον δύο από τις τέσσερις καλλιέργειες βρογχικών εκκρίσεων του έτους<sup>20</sup>. Σε μελέτη των Amin και συν., ως χρόνιος αποικισμός ορίστηκε η παρουσία του μύκητα σε δύο ή περισσότερες καλλιέργειες κατά τη διάρκεια ενός έτους<sup>21</sup>, ενώ σε μελέτη των de Vankrijker και συν., ορίστηκε ως η απομόνωσή του σε ποσοστό άνω του 50% των καλλιιεργειών ενός έτους<sup>22</sup>.

### β) Βρογχίτιδα από *Aspergillus fumigatus*

Ο όρος βρογχίτιδα από *A. fumigatus* σε ασθενείς με κυστική ίνωση προτάθηκε από τη Shoseyon και συν. το 2006. Οι ερευνητές περιέγραψαν μια ομάδα έξι ασθενών οι οποίοι παρουσίαζαν παρόξυνση των συμπτωμάτων από το αναπνευστικό σύστημα, είχαν επανειλημμένως θετικές για τον *A. fumigatus* καλλιέργειες πτυέλων και δεν πληρούνταν τα κριτήρια διάγνωσης της ΑΒΠΑ. Οι συγκεκριμένοι ασθενείς δεν είχαν ανταποκριθεί αρχικά στην αντιμικροβιακή αγωγή και παρουσίασαν βελτίωση της κλινικής τους εικόνας έπειτα από τη χορήγηση αντιμυκητιασικής αγωγής. Οι Shoseyon και συν. πρότειναν να αντιμετωπίζεται ως ξεχωριστή κλινική οντότητα, διαφορετική από τις άλλες εκδηλώσεις του *A. fumigatus* στην κυστική ίνωση, και συνέστησαν τη χορήγηση αντιμυκητιασικής αγωγής στις περιπτώσεις ασθενών με καλλιέργειες πτυέλων θετικές για *A. fumigatus* και επιδείνωση της αναπνευστικής λειτουργίας που δεν ανταποκρίνεται στην αντιμικροβιακή αγωγή<sup>23</sup>.

Η βρογχίτιδα από *A. fumigatus* περιγράφηκε ως ξεχωριστή κλινική εκδήλωση και από τους Chrdle και συν., σε μελέτη η οποία διενεργήθηκε σε ανοσοεπαρκείς ασθενείς με δομικές βλάβες στον πνεύμονα. Τα κριτήριά τους για

τον προσδιορισμό της νόσου περιελάμβαναν: α) την παρουσία συμπτωματολογίας από το αναπνευστικό, β) την απομόνωση *A. fumigatus* σε δείγμα πτυέλων ή BAL, ή τη θετική δοκιμασία PCR για *A. fumigatus* και γ) την ανίχνευση ειδικής έναντι του *A. fumigatus* IgG. Σύμφωνα με τους ερευνητές, παρόμοια περιστατικά πρέπει να αντιμετωπίζονται ως ξεχωριστή οντότητα από τον ασυμπτωματικό αποικισμό και τις άλλες μορφές απεργίλλωσης και μπορούν να ανταποκριθούν στην αντιμυκητιασική αγωγή<sup>24</sup>.

Πρόσφατα, οι Baxter και συν., μελετώντας 146 ενήλικους ασθενείς με κυστική ίνωση, πρότειναν την προσθήκη νέων βιολογικών δεικτών ανίχνευσης *A. fumigatus* στα πτύελα, όπως η γαλακτομαννάνη πτυέλων, σε μια προσπάθεια να δημιουργήσουν ένα νέο διαγνωστικό αλγόριθμο ταξινόμησης των νοσημάτων από *A. fumigatus* στην κυστική ίνωση. Διέκριναν, λοιπόν, μια ομάδα 39 ασθενών οι οποίοι παρουσίαζαν αυξημένη ειδική έναντι του *A. fumigatus* IgG, θετική δοκιμασία PCR για τον *A. fumigatus* και παρουσία γαλακτομαννάνης στα πτύελα και ονόμασαν αυτή την κατηγορία λοίμωξη/βρογχίτιδα από *A. fumigatus*<sup>9</sup>. Στον **Πίνακα 1** παρουσιάζονται συνοπτικά τα διαφορετικά χαρακτηριστικά του ασυμπτωματικού αποικισμού και της βρογχίτιδας από *A. fumigatus*.

## γ) Ευαισθητοποίηση στον *Aspergillus fumigatus*

Η ευαισθητοποίηση στον *A. fumigatus* μπορεί να θεωρηθεί το πρώτο βήμα στην πορεία προς την ΑΒΠΑ. Όμως, μόνο ένας μικρός αριθμός των ευαισθητοποιημένων ασθενών τελικά θα εμφανίσει ΑΒΠΑ<sup>25</sup>.

Σύμφωνα με μια πρόσφατη ανασκόπηση, η ευαισθητοποίηση στον *A. fumigatus* σε ασθενείς με κυστική ίνωση κυμαίνεται από 20% έως 65%. Η μεγάλη διακύμανση που παρατηρήθηκε αποδόθηκε στη χρήση διαφορετικών μεθόδων καθορισμού της ευαισθητοποίησης (δερματικές δοκιμασίες ή/και επίπεδα ειδικής έναντι του *A. fumigatus* IgE), στον διαφορετικό τύπο δερματικών δοκιμασιών (ενδοεπιδερμική ή/και ενδοδερμική), στα διαφορετικά κατώφλια (cut-off) καθορισμού της αυξημένης τιμής της IgE, στις διαφορετικές ηλικιακές ομάδες και στις εθνικότητες του εξεταζόμενου πληθυσμού. Διαπιστώθηκε, επίσης, ότι δεν υπήρχαν διαφορές στα ποσοστά ευαισθητοποίησης μεταξύ παιδιών και ενηλίκων, ενώ τα ποσοστά ευαισθητοποίησης που προσδιορίστηκαν με τη διενέργεια δερματικών δοκιμασιών διέφεραν από εκείνα που προσδιορίστηκαν με τη μέτρηση της ειδικής

IgE στον ορό<sup>26</sup>. Αυτό ενδεχομένως να οφείλεται στην παρουσία IgE αντισωμάτων στον ορό τα οποία αντιδρούν με μη ειδικά αντιγόνα που περιέχονται στα διαλύματα των δερματικών δοκιμασιών<sup>27</sup>. Ασυμφωνία μεταξύ των αποτελεσμάτων των δερματικών δοκιμασιών και της ειδικής IgE στον ορό διαπιστώθηκε και σε άλλες μελέτες<sup>27,28</sup>. Λόγω έλλειψης προτύπων αναφοράς, δεν είναι ξεκάθαρο ποια από τις δύο μεθόδους υπερέχει, όπως επίσης δεν γνωρίζουμε αν για τη διαπίστωση της ευαισθητοποίησης πρέπει να χρησιμοποιούνται και οι δύο μέθοδοι<sup>29</sup>.

Σύμφωνα με ορισμένες έρευνες, η ευαισθητοποίηση στον *A. fumigatus* συσχετίζεται τόσο με πτώση της αναπνευστικής λειτουργίας όσο και με ταχύτερο ρυθμό μείωσής της<sup>30,31</sup>. Όμως, άλλες μελέτες δεν κατάφεραν να αποδείξουν μία τέτοια συσχέτιση<sup>32,33</sup>. Τα αντικρουόμενα αποτελέσματα οφείλονται πιθανότατα στον διαφορετικό τρόπο διατύπωσης των κριτηρίων ορισμού της ευαισθητοποίησης στον *A. fumigatus*. Συγκεκριμένα, ο Ritz και οι συνεργάτες του όρισαν την ευαισθητοποίηση ως: α) τη θετικοποίηση στον ορό της ειδικής έναντι του *A. fumigatus* IgE (τάξη  $\geq 2$ ) και/ή την αύξηση στον ορό της ειδικής έναντι του ανασυνδυασμένου αντιγόνου του *Aspergillus*-f1 (rAsp-f1, recombinant *Aspergillus* antigen-f1) rAsp-f1-IgE  $>9,6$  EU/ml, με φυσιολογικές τις τιμές της ειδικής έναντι του rAsp-f4-IgE ( $\leq 8,4$  EU/ml) και στο rAsp-f6-IgE ( $\leq 7,2$  EU/ml) και β) τη μη πλήρωση των κριτηρίων διάγνωσης της ΑΒΠΑ<sup>34</sup>. Από την άλλη μεριά, οι Kanthan και συν. όρισαν ως κριτήρια ευαισθητοποίησης τα επίπεδα της ειδικής έναντι του *A. fumigatus* IgE  $\geq 17,5$  IU/ml (τάξη  $\geq 3$ ) και ταυτόχρονα τα επίπεδα της ολικής IgE στον ορό  $\geq 150$  IU/ml<sup>31</sup>.

Ως πιθανοί παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ευαισθητοποίησης έχουν θεωρηθεί η μακροχρόνια χορήγηση υψηλών δόσεων εισπνεόμενων κορτικοστεροειδών και ο χρόνιος αποικισμός από *P. aeruginosa*<sup>34</sup>, ενώ μέχρι στιγμής δεν έχει διευκρινιστεί εάν απαιτείται και σε ποιες περιπτώσεις η χορήγηση θεραπείας<sup>35</sup>.

Δυσκολίες παρουσιάζονται συχνά στη διάκριση των ασθενών με ΑΒΠΑ από εκείνους με ευαισθητοποίηση στον *A. fumigatus*. Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες, η δοκιμασία διέγερσης των βασεοφίλων (BAT, Basophil Activation Test) θα μπορούσε να αποτελέσει έναν βοηθητικό βιοδείκτη για τη διάκριση των δύο κλινικών περιπτώσεων<sup>36</sup>.

### δ) Αλλεργική βρογχοπνευμονική ασπεργίλλωση

Η αλλεργική βρογχοπνευμονική ασπεργίλλωση (ΑΒΠΑ) είναι πνευμονική νόσος η οποία οφείλεται σε έντονη αντίδραση υπερευαισθησίας στα αντιγόνα του *Aspergillus*, κυρίως του *A. fumigatus*<sup>37</sup>. Σύμφωνα με τις τελευταίες αναλύσεις, η συχνότητα της ΑΒΠΑ κυμαίνεται μεταξύ 3-25% στους ασθενείς με κυστική ίνωση<sup>26,37</sup>. Η διακύμανση οφείλεται στην έλλειψη ενιαίων κριτηρίων για τη διάγνωση της ασθένειας, στις διαφορετικές εργαστηριακές τεχνικές, αλλά και στην περιορισμένη κλινική της αναγνώριση από τους ιατρούς<sup>38</sup>.

Βασικό στοιχείο της παθογένειας της ΑΒΠΑ στην κυστική ίνωση είναι η αναποτελεσματική κάθαρση των κονιδίων από το αναπνευστικό σύστημα, γεγονός που επιτρέπει στα κονίδια να βλασταίνουν και να δημιουργούν υφές. Σε ορισμένους ασθενείς υπάρχει προδιάθεση για την εκδήλωση ΑΒΠΑ<sup>39</sup>. Ως προδιαθεσικοί παράγοντες έχουν προσδιοριστεί διάφοροι γενετικοί παράγοντες [προυσία των HLA-DR και HLA-DQ αλληλίων, πολυμορφισμοί της επιφανειοδραστικής πρωτεΐνης A2 (SP-A2) κ.ά.], η περιβαλλοντική έκθεση, η αποπία, ο αποικισμός του αναπνευστικού από *S. maltophilia* και η χρόνια λοίμωξη από *P. aeruginosa*.

Η νόσος μπορεί να προσβάλει τόσο παιδιά όσο και ενήλικες<sup>40</sup>. Χαρακτηρίζεται από υφέσεις και εξάρσεις, ενώ δεν υπάρχουν ειδικά για τη νόσο κλινικά σημεία ή ευρήματα κατά τη φυσική εξέταση. Ο ασθενής μπορεί να αρχίσει να παρουσιάζει βήχα ή επιδείνωση του ήδη υπάρχοντος βήχα, αύξηση των πτυέλων, συριγμό ή δύσπνοια<sup>41</sup>. Σε κάποιες περιπτώσεις, όμως, οι ασθενείς είναι τελείως ασυμπτωματικοί ακόμα και όταν εντοπίζονται πνευμονικές διηθήσεις στον απεικονιστικό έλεγχο<sup>42</sup>.

Η διάγνωση της ΑΒΠΑ βασίζεται σε συνδυασμό κριτηρίων τα οποία περιλαμβάνουν κλινικά, ακτινολογικά και ορολογικά ευρήματα<sup>43</sup>. Η διάγνωση συχνά παρουσιάζει δυσκολίες διότι πολλά από τα χαρακτηριστικά της κυστικής ίνωσης περιλαμβάνονται στα κλασικά διαγνωστικά κριτήρια της ΑΒΠΑ. Τα χαρακτηριστικά αυτά είναι οι βρογχεκτασίες, οι διηθήσεις, η μερικώς αναστρέψιμη αποφρακτική πνευμονοπάθεια και άλλα συμπτώματα από το αναπνευστικό<sup>44</sup>. Επίσης, ανοσολογικά χαρακτηριστικά της ΑΒΠΑ όπως η αύξηση της ολικής IgE στον ορό, η αύξηση των ειδικών έναντι του *A. fumigatus* IgE και IgG, καθώς και η παρουσία ιζηματινών και οι θετικές δερματικές δοκιμασίες στον *A. fumigatus* παρου-

σιάζονται και σε ασθενείς με κυστική ίνωση χωρίς ΑΒΠΑ<sup>30,45</sup>. Σε μια προσπάθεια να απλοποιηθεί η διάγνωση της ΑΒΠΑ και να ενισχυθούν τα υπάρχοντα διαγνωστικά κριτήρια, αρκετές μελέτες έχουν διερευνήσει τη διαγνωστική αξία των ανασυνδυασμένων αντιγόνων του *Aspergillus* (rAsp, recombinant *Aspergillus* antigens), της χημειοκίνης CCL17 και της δοκιμασίας BAT<sup>36</sup>. Ειδικότερα για τη δοκιμασία BAT, διαπιστώθηκε σε πρόσφατη έρευνά μας ότι συμβάλλει σημαντικά τόσο στη διάγνωση της ΑΒΠΑ όσο και στην παρακολούθηση των ευαισθητοποιημένων ασθενών στον *A. fumigatus*, οι οποίοι διατρέχουν υψηλό κίνδυνο να εκδηλώσουν ΑΒΠΑ<sup>46</sup>. Με τους νέους αυτούς δείκτες ανοίγει ο δρόμος για την ενίσχυση της διαγνωστικής προσπέλασης και την καλύτερη παρακολούθηση της πορείας της νόσου.

Η θεραπεία της ΑΒΠΑ στοχεύει τόσο στον έλεγχο των παροξύνσεων όσο και στον περιορισμό της δημιουργίας μόνιμων βλαβών στον πνεύμονα<sup>47</sup>. Τα κορτικοστεροειδή εξακολουθούν να παραμένουν ο ακρογωνιαίος λίθος της θεραπείας<sup>48</sup>. Αντιμυκητιασικοί παράγοντες, όπως ιτρακοναζόλη και βορικοναζόλη, χρησιμοποιούνται σαν επιπρόσθετη θεραπεία με σκοπό να ελαττωθεί η δόση των κορτικοστεροειδών, καθώς και το αντιγονικό φορτίο από την παρουσία του *A. fumigatus* στο βρογχικό δέντρο<sup>49</sup>. Σε ό,τι αφορά τη χορήγηση εξανθρωποποιημένου μονοκλωνικού αντίσωματος ενάντια στην IgE, omalizumab, τα μηνύματα από την επιστημονική κοινότητα είναι αρκετά ελπιδοφόρα<sup>50</sup>.

### Επίλογος

Ο *A. fumigatus* ανιχνεύεται συχνά στις αναπνευστικές εκκρίσεις τόσο των ενηλίκων όσο και των παιδιών με κυστική ίνωση. Ο συγκεκριμένος μύκητας έχει συσχετιστεί με επιδείνωση της χρόνιας πνευμονοπάθειας, την πρόκληση λοίμωξης, καθώς και με εκδηλώσεις υπερευαισθησίας. Το κλινικό φάσμα των νοσημάτων από *A. fumigatus* στην κυστική ίνωση τα τελευταία χρόνια διευρύνθηκε, αλλά η υποκείμενη παθοφυσιολογία δεν είναι πλήρως κατανοητή και συνεπώς δεν υπάρχουν ακόμα σαφείς στρατηγικές διαχείρισης. Ένα σημαντικό ζήτημα το οποίο αναμένεται να διευκρινιστεί στο μέλλον είναι ποιοι ασθενείς, στις καλλιέργειες των οποίων απομονώνεται ο μύκητας χωρίς να παρουσιάζουν κλινική συμπτωματολογία, δύνανται να ωφεληθούν από την αντιμυκητιασική θεραπεία. ■

## Aspergillus fumigatus and cystic fibrosis

**Noni M<sup>1</sup>, Katelari A<sup>2</sup>, Doudounakis SE<sup>2</sup>, Spoulou V<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>First Department of Pediatrics, National and Kapodistrian University of Athens, Division of Infectious Diseases, "Aghia Sophia" Children's Hospital

<sup>2</sup>Institute of Child Health

Cystic fibrosis is the most common genetic, life-limiting disease of the white race. Patients suffer mainly from chronic lung disease and recurrent infections that lead to respiratory failure. Bacteria such as *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* are considered among the predominant

pathogens and their role have been studied extensively. Recently, attention has been paid to the clinical significance of fungal isolation in patients' bronchial secretions, such as *Aspergillus* species. This review analyzes the clinical spectrum of *A. fumigatus* diseases in cystic fibrosis.

**KEY WORDS:** cystic fibrosis; fungi; *Aspergillus fumigatus*; colonization; sensitization; allergic bronchopulmonary aspergillosis

1. Cystic Fibrosis Foundation. Patient Registry: Annual Data Report 2015.
2. Foweraker, J. Recent advances in the microbiology of respiratory tract infection in cystic fibrosis. *Br Med Bull* 2009, 89, 93-110, doi:10.1093/bmb/ldn050.
3. Horré, R.; Symoens, F.; Delhaes, L.; Bouchara, J.-P. Fungal respiratory infections in cystic fibrosis: a growing problem. *Medical Mycology* 2010, 48, S1-S3, doi:10.3109/13693786.2010.529304.
4. Gugnani, H.C. Ecology and taxonomy of pathogenic aspergilli. *Front Biosci* 2003, 8, s346-357.
5. Kousha, M.; Tadi, R.; Soubani, A.O. Pulmonary aspergillosis: a clinical review. *Eur Respir Rev* 2011, 20, 156-174, doi:10.1183/09059180.00001011.
6. Kosmidis, C.; Denning, D.W. The clinical spectrum of pulmonary aspergillosis. *Thorax* 2015, 70, 270-277, doi:10.1136/thoraxjnl-2014-206291.
7. Park, S.J.; Mehrad, B. Innate immunity to *Aspergillus* species. *Clin Microbiol Rev* 2009, 22, 535-551, doi:10.1128/cmr.00014-09.
8. Jones, A.M.; Horsley, A.; Denning, D.W. What is the importance of classifying *Aspergillus* disease in cystic fibrosis patients? *Expert Rev Respir Med* 2014, 8, 389-392, doi:10.1586/17476348.2014.915751.
9. Baxter, C.G.; Dunn, G.; Jones, A.M.; Webb, K.; Gore, R.; Richardson, M.D.; Denning, D.W. Novel immunologic classification of aspergillosis in adult cystic fibrosis. *J Allergy Clin Immunol* 2013, 132, 560-566 e510, doi:10.1016/j.jaci.2013.04.007.
10. Maguire, C.P.; Hayes, J.P.; Hayes, M.; Masterson, J.; FitzGerald, M.X. Three cases of pulmonary aspergillosis in adult patients with cystic fibrosis. *Thorax* 1995, 50, 805-806.
11. Brown, K.; Rosenthal, M.; Bush, A. Fatal invasive aspergillosis in an adolescent with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 1999, 27, 130-133.
12. Massam, J.; Bitnun, A.; Solomon, M.; Somers, G.R.; Guerrierian, A.M.; van Wylick, R.; Waters, V. Invasive aspergillosis in cystic fibrosis: a fatal case in an adolescent and review of the literature. *Pediatr Infect Dis J* 2011, 30, 178-180, doi:10.1097/INF.0b013e3181f63c90.
13. Valenza, G.; Tappe, D.; Turnwald, D.; Frosch, M.; Konig, C.; Hebestreit, H.; Abele-Horn, M. Prevalence and antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from sputa of patients with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2008, 7, 123-127, doi:10.1016/j.jcf.2007.06.006.
14. Paugam, A.; Baixench, M.-T.; Demazes-Dufeu, N.; Burgel, P.-R.; Sauter, E.; Kanaan, R.; Dusser, D.; Dupouy-Camet, J.; Hubert, D. Characteristics and consequences of airway colonization by fila-

## REFERENCES

- mentous fungi in 201 adult patients with cystic fibrosis in France. *Medical Mycology* 2010, 48, S32-S36, doi:doi:10.3109/13693786.2010.503665.
15. Liu, J.C.; Modha, D.E.; Gaillard, E.A. What is the clinical significance of filamentous fungi positive sputum cultures in patients with cystic fibrosis? *J Cyst Fibros* 2013, 12, 187-193, doi:10.1016/j.jcf.2013.02.003.
  16. de Valk, H.A.; Klaassen, C.H.; Yntema, J.B.; Hebestreit, A.; Seidler, M.; Haase, G.; Muller, F.M.; Meis, J.F. Molecular typing and colonization patterns of *Aspergillus fumigatus* in patients with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2009, 8, 110-114, doi:10.1016/j.jcf.2008.10.003.
  17. Cimon, B.; Symoens, F.; Zouhair, R.; Chabasse, D.; Nollard, N.; Defontaine, A.; Bouchara, J.P. Molecular epidemiology of airway colonisation by *Aspergillus fumigatus* in cystic fibrosis patients. *J Med Microbiol* 2001, 50, 367-374.
  18. Milla, C.E.; Wielinski, C.L.; Regelman, W.E. Clinical significance of the recovery of *Aspergillus* species from the respiratory secretions of cystic fibrosis patients. *Pediatr Pulmonol* 1996, 21, 6-10, doi:10.1002/(sici)1099-0496(199601)21:1<6::aid-ppul1>3.0.co;2-r.
  19. Skov, M.; McKay, K.; Koch, C.; Cooper, P.J. Prevalence of allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis in an area with a high frequency of atopy. *Respir Med* 2005, 99, 887-893, doi:10.1016/j.rmed.2004.11.018.
  20. Bargon, J.; Dauletbaev, N.; Kohler, B.; Wolf, M.; Posselt, H.G.; Wagner, T.O. Prophylactic antibiotic therapy is associated with an increased prevalence of *Aspergillus* colonization in adult cystic fibrosis patients. *Respir Med* 1999, 93, 835-838.
  21. Amin, R.; Dupuis, A.; Aaron, S.D.; Ratjen, F. The effect of chronic infection with *Aspergillus fumigatus* on lung function and hospitalization in patients with cystic fibrosis. *Chest* 2010, 137, 171-176, doi:10.1378/chest.09-1103.
  22. de Vrankrijker, A.M.; van der Ent, C.K.; van Berkhout, F.T.; Stellato, R.K.; Willems, R.J.; Bonten, M.J.; Wolfs, T.F. *Aspergillus fumigatus* colonization in cystic fibrosis: implications for lung function? *Clin Microbiol Infect* 2011, 17, 1381-1386, doi:10.1111/j.1469-0691.2010.03429.x.
  23. Shoseyov, D.; Brownlee, K.G.; Conway, S.P.; Kerem, E. *Aspergillus* bronchitis in cystic fibrosis. *Chest* 2006, 130, 222-226, doi:10.1378/chest.130.1.222.
  24. Chrdle, A.; Mustakim, S.; Bright-Thomas, R.J.; Baxter, C.G.; Felton, T.; Denning, D.W. *Aspergillus* bronchitis without significant immunocompromise. *Ann N Y Acad Sci* 2012, 1272, 73-85, doi:10.1111/j.1749-6632.2012.06816.x.
  25. Bateman, E.D. A new look at the natural history of *Aspergillus* hypersensitivity in asthmatics. *Respir Med* 1994, 88, 325-327.
  26. Maturu, V.N.; Agarwal, R. Prevalence of *Aspergillus* sensitization and allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis: systematic review and meta-analysis. *Clin Exp Allergy* 2015, 45, 1765-1778, doi:10.1111/cea.12595.
  27. van der Zee, J.S.; de Groot, H.; van Swieten, P.; Jansen, H.M.; Aalberse, R.C. Discrepancies between the skin test and IgE antibody assays: study of histamine release, complement activation in vitro, and occurrence of allergen-specific IgG. *J Allergy Clin Immunol* 1988, 82, 270-281.
  28. Calabria, C.W.; Dietrich, J.; Hagan, L. Comparison of serum-specific IgE (ImmunoCAP) and skin-prick test results for 53 inhalant allergens in patients with chronic rhinitis. *Allergy Asthma Proc* 2009, 30, 386-396, doi:10.2500/aap.2009.30.3258.
  29. de Vos, G. Skin testing versus serum-specific IgE testing: which is better for diagnosing aeroallergen sensitization and predicting clinical allergy? *Curr Allergy Asthma Rep* 2014, 14, 430, doi:10.1007/s11882-014-0430-z.
  30. Wojnarowski, C.; Eichler, I.; Gartner, C.; Gotz, M.; Renner, S.; Koller, D.Y.; Frischer, T. Sensitization to *Aspergillus fumigatus* and lung function in children with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997, 155, 1902-1907.
  31. Kanthan, S.K.; Bush, A.; Kemp, M.; Buchdahl, R. Factors effecting impact of *Aspergillus fumigatus* sensitization in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2007, 42, 785-793, doi:10.1002/ppul.20656.
  32. Maiz, L.; Cuevas, M.; Quirce, S.; Canon, J.F.; Pacheco, A.; Sousa, A.; Escobar, H. Serologic IgE immune responses against *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans* in patients with cystic fibrosis. *Chest* 2002, 121, 782-788.

### REFERENCES

33. Brueton, M.J.; Ormerod, L.P.; Shah, K.J.; Anderson, C.M. Allergic bronchopulmonary aspergillosis complicating cystic fibrosis in childhood. *Arch Dis Child* 1980, 55, 348-353.
34. Ritz, N.; Ammann, R.A.; Casaulta Aebischer, C.; Schoeni-Affolter, F.; Schoeni, M.H. Risk factors for allergic bronchopulmonary aspergillosis and sensitisation to *Aspergillus fumigatus* in patients with cystic fibrosis. *Eur J Pediatr* 2005, 164, 577-582, doi:10.1007/s00431-005-1701-4.
35. Mastella, G.; Rainisio, M.; Harms, H.K.; Hodson, M.E.; Koch, C.; Navarro, J.; Strandvik, B.; McKenzie, S.G. Allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis. A European epidemiological study. *Epidemiologic Registry of Cystic Fibrosis. Eur Respir J* 2000, 16, 464-471.
36. Mirkovic, B.; Lavelle, G.M.; Azim, A.A.; Helma, K.; Gargoum, F.S.; Molloy, K.; Gernez, Y.; Dunne, K.; Renwick, J.; Murphy, P., et al. The basophil surface marker CD203c identifies *Aspergillus* species sensitization in patients with cystic fibrosis. *J Allergy Clin Immunol* 2015, doi:10.1016/j.jaci.2015.07.045.
37. Agarwal, R.; Aggarwal, A.N.; Gupta, D.; Jindal, S.K. *Aspergillus* hypersensitivity and allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with bronchial asthma: systematic review and meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2009, 13, 936-944.
38. de Almeida, M.B.; Bussamra, M.H.; Rodrigues, J.C. Allergic bronchopulmonary aspergillosis in paediatric cystic fibrosis patients. *Paediatr Respir Rev* 2006, 7, 67-72, doi:10.1016/j.prrv.2005.09.003.
39. Agarwal, R. Allergic bronchopulmonary aspergillosis: lessons learnt from genetics. *Indian J Chest Dis Allied Sci* 2011, 53, 137-140.
40. Agarwal, R. High attenuation mucoid impaction in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *World J Radiol* 2010, 2, 41-43, doi:10.4329/wjr.v2.i1.41.
41. Greenberger, P.A. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. *J Allergy Clin Immunol* 2002, 110, 685-692.
42. Patterson, K.; Streck, M.E. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Proc Am Thorac Soc* 2010, 7, 237-244, doi:10.1513/pats.200908-086AL.
43. Stevens, D.A.; Moss, R.B.; Kurup, V.P.; Knutsen, A.P.; Greenberger, P.; Judson, M.A.; Denning, D.W.; Cramer, R.; Brody, A.S.; Light, M., et al. Allergic bronchopulmonary aspergillosis in cystic fibrosis--state of the art: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Conference. *Clin Infect Dis* 2003, 37 Suppl 3, S225-264, doi:10.1086/376525.
44. Moss, R.B. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Clin Rev Allergy Immunol* 2002, 23, 87-104, doi:10.1385/craia:23:1:087.
45. Hemmann, S.; Nikolaizik, W.H.; Schoni, M.H.; Blaser, K.; Cramer, R. Differential IgE recognition of recombinant *Aspergillus fumigatus* allergens by cystic fibrosis patients with allergic bronchopulmonary aspergillosis or *Aspergillus* allergy. *Eur J Immunol* 1998, 28, 1155-1160, doi:10.1002/(sici)1521-4141(199804)28:04<1155::aid-immu1155>3.0.co;2-6.
46. Katelari, A.; Tzanoudaki, M.; Noni, M.; Kanariou, M.; Theodoridou, M.; Kanavakis, E.; Doudounakis, S.E.; Kanaoka-Gantenbein, C. The role of basophil activation test in allergic bronchopulmonary aspergillosis and *Aspergillus fumigatus* sensitization in cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros* 2016, 15, 587-596, doi:10.1016/j.jcf.2016.02.004.
47. Knutsen, A.P.; Slavin, R.G. Allergic bronchopulmonary aspergillosis in asthma and cystic fibrosis. *Clin Dev Immunol* 2011, 2011, 843763, doi:10.1155/2011/843763.
48. Moss, R.B. Treatment options in severe fungal asthma and allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Eur Respir J* 2014, 43, 1487-1500, doi:10.1183/09031936.00139513.
49. Agarwal, R. What is the current place of azoles in allergic bronchopulmonary aspergillosis and severe asthma with fungal sensitization. *Expert Rev Respir Med* 2012, 6, 363-371, doi:10.1586/ers.12.35.
50. Lehmann, S.; Pfannenstiel, C.; Friedrichs, F.; Kroger, K.; Wagner, N.; Tenbrock, K. Omalizumab: a new treatment option for allergic bronchopulmonary aspergillosis in patients with cystic fibrosis. *Ther Adv Respir Dis* 2014, 8, 141-149, doi:10.1177/1753465814547517.

# Χαρτογράφηση και χαρακτηρισμός των ανοσοκυρίαρχων Β-λεμφοκυτταρικών επιτόπων εντός πρωτεϊνών της επιφάνειας του streptococcus pneumoniae

**Θ. Λαγκούση<sup>1</sup>, Ι. Ρούτσιας<sup>2</sup>, Π. Μπασδέκη<sup>3</sup>, Χ. Πιπέρη<sup>3</sup>, Α. Τσακρής<sup>4</sup>, Γ. Χρούσος<sup>5</sup>, Μ. Θεοδωρίδου<sup>6</sup>, Β. Σπούλου<sup>7</sup>**

<sup>1</sup>MD, PhD, Ειδικευόμενη Παιδιάτρος, Επιστημονικός Συνεργάτης, Τμήμα Λοιμώξεων «ΜΑΚΚΑ», Α' Παιδιατρική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών

<sup>2</sup>MD, Msc, PhD, Ιατρός Βιοπαθολόγος, Επίκουρος Καθηγητής Μικροβιολογίας/Ανοσολογίας, Ιατρική Σχολή Αθηνών

<sup>3</sup>MD, Υποψήφια Διδάκτωρ, Τμήμα Λοιμώξεων «ΜΑΚΚΑ»,

Α' Παιδιατρική κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών

<sup>4</sup>Msc, PhD, Αναπλ. Καθηγήτρια Εργαστήριο Βιολογικής Χημείας, Ιατρική Σχολή Αθηνών

<sup>5</sup>MD, PhD, FRCPath, Ιατρός Βιοπαθολόγος, Διευθυντής Καθηγητής Εργαστηρίου Μικροβιολογίας, Ιατρική Σχολή Αθηνών

<sup>6</sup>Ομότιμος Καθηγητής Παιδιατρικής-Ενδοκρινολογίας, Α' Παιδιατρική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών

<sup>7</sup>Ομότιμη Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Λοιμωξιολογίας, Α' Παιδιατρική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών

<sup>8</sup>MD, MPhil, PhD, Παιδιάτρος Λοιμωξιολόγος, Αναπλ. Καθηγήτρια, Α' Παιδιατρική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο πνευμονιόκοκκος αποτελεί σημαντικό αίτιο νοσηρότητας και θνησιμότητας παγκόσμια. Τα κυκλοφορούντα εμβόλια μείωσαν σημαντικά την επίπτωση της διεισδυτικής πνευμονιοκοκκικής νόσου, όμως η χρήση τους ανέδειξε προβλήματα αναφορικά με την εμφάνιση νέων οροτύπων που δεν περιλαμβάνονταν σε αυτά, αλλά και την επίδρασή τους στην επίπτωση της πνευμονίας και της οξείας μέσης ωτίτιδας. Η παρούσα μελέτη στόχευσε στην ανίχνευση των ανοσοκυρίαρχων Β-λεμφοκυτταρικών επιτόπων εντός πρωτεϊνών της επι-

φάνειας του πνευμονιοκόκκου που συμμετέχουν στη λοιμογόνο δύναμη του βακτηρίου, για το σχεδιασμό νέων εμβολίων. Εξετάσαμε ορούς παιδιών με διεισδυτική πνευμονιοκοκκική νόσο αναφορικά με την αντιγονικότητά τους έναντι 141 20-μερών συνθετικών πεπτιδίων που κάλυπταν ολόκληρη την αλληλουχία των αντιγονικών τμημάτων εντός των πρωτεϊνών CbpD, PhtD, PhtE, PspA, PfbB και ZmpB, που είχαν προσδιοριστεί από προηγούμενη μελέτη. Ανιχνεύτηκαν 10 ανοσοκυρίαρχοι Β-λεμφοκυτταρικοί επίτοποι, κοινοί στην πλειονότητα

## Υπεύθυνος επικοινωνίας

Θεανώ Λαγκούση, E-mail: theanolagousi@hotmail.com

των πνευμονιοκοκκικών οροτύπων, ενώ τέσσερις από αυτούς εντοπίστηκαν εντός της λειτουργικής περιοχής σύνδεσης του Zn<sup>2+</sup> των αντίστοιχων πατρικών πρωτεϊνών. Τρεις επίτοποι αναγνωρίστηκαν από την πλειονότητα των ασθενών με διεισδυτική πνευμονιοκοκκική νόσο με ποσοστά 96,4%, 92,9% και 71,4% αντίστοιχα, ενώ οι οροί των μαρτύρων παρουσίασαν μικρού βαθμού αντιδραστικότητα με όλα τα πεπτίδια (<10,7%). Για τα πεπτίδια αυτά η ειδικότητα για τη διεισδυτική πνευμονιοκοκκική λοίμωξη ήταν 93,3%, 95% και 96,7%, ενώ η ευαισθησία ήταν 96,4%, 92,9% και 71,4% και η θετι-

κή προγνωστική αξία 14,5, 18,6 και 21,4 αντίστοιχα. Επιπλέον, κεκαθαρμένα αντισώματα έναντι αυτών συνδέθηκαν στην επιφάνεια ζώντων πνευμονιοκοκκικών διαφορετικών οροτύπων. Η ανίχνευση ανοσοκυρίαρχων Β-λεμφοκυτταρικών επιτόπων συμβάλλει στην καλύτερη κατανόηση της ανοσολογικής απόκρισης στη διεισδυτική πνευμονιοκοκκική λοίμωξη στα παιδιά. Επομένως, είναι απαραίτητη η περαιτέρω έρευνα της οψωνοφαγοκυτταρικής και προστατευτικής τους ικανότητας με σκοπό τη συμμετοχή τους στο σχεδιασμό νέων εμβολίων.

**ΛΕΞΕΙΣ ΕΥΡΕΤΗΡΙΟΥ: πρωτεϊνικά πνευμονιοκοκκικά εμβόλια, ανοσοκυρίαρχοι Β-λεμφοκυτταρικοί επίτοποι, ψευδαργυρικός δακτύλιος, αντιγονική χαρτογράφηση**

### Εισαγωγή

Ο πνευμονιόκοκκος προκαλεί διεισδυτικές και μη διεισδυτικές λοιμώξεις υψηλής νοσηρότητας και θνησιμότητας<sup>1,2</sup>. Τα κυκλοφορούντα εμβόλια ήταν αποτελεσματικά έναντι της πνευμονιοκοκκικής νόσου, και του αποικισμού του ρινοφάρυγγα από τους ορότυπους του εμβολίου<sup>3,4</sup>. Ωστόσο, η εμφάνιση νέων οροτύπων και η μειωμένη αποτελεσματικότητά τους έναντι της οξείας μέσης ωτίτιδας και της πνευμονίας της κοινότητας οδήγησε στην αναζήτηση νέων εμβολίων<sup>5,6</sup>.

Μια εναλλακτική αφορά στη χρήση λοιμογόνων πρωτεϊνών, κοινών μεταξύ των οροτύπων (Pneumococcal Virulence Proteins, PnVPs)<sup>7</sup>, ενώ πιο πρόσφατες μελέτες ανίχνευσαν αντιγονικά θραύσματα εντός αυτών<sup>8</sup>. Έτσι, οι Beghetto και συν εντόπισαν αντιγονικά τμήματα εντός πρωτεϊνών της επιφάνειας του πνευμονιοκόκκου με την Αντι-γενωμική μέθοδο (Antigenomics)<sup>9</sup>. Ωστόσο, το μεγάλο μέγεθος αυτών (1.702 αμινοξέα) καθιστούσε δύσκολη την παρασκευή σταθερών συνθετικών πεπτιδίων για τη χρήση τους ως αντιγόνα εμβολίων.

Σκοπός μας ήταν η λεπτομερής χαρτογράφηση των ανοσοκυρίαρχων Β-λεμφοκυτταρικών επιτόπων εντός των αντιγονικών αυτών τμημάτων<sup>9</sup>.

### Υλικά και Μέθοδοι Πληθυσμός μελέτης

Στη μελέτη συμμετείχαν είκοσι οκτώ ασθενείς (13 αγόρια)

ηλικίας 2-16 ετών (μέσης ηλικίας 7,5 ετών) με διεισδυτική πνευμονιοκοκκική νόσο, που νοσηλεύτηκαν στο Νοσοκομείο Παιδών «Η Αγία Σοφία». Ο πνευμονιόκοκκος απομονώθηκε στο αίμα ή το πλευριτικό υγρό. Οι οροί ελήφθησαν κατά τη διάρκεια της φάσης ανάρρωσης (21±7 ημέρες μετά την εισαγωγή στο νοσοκομείο). Ως μάρτυρες μελετήθηκαν 60 παιδιά ίδιας ηλικίας (27 αγόρια) χωρίς ενδείξεις οξείας λοίμωξης ή ιστορικό επιβεβαιωμένης διεισδυτικής πνευμονιοκοκκικής λοίμωξης. Η ερευνητική πρόταση εγκρίθηκε από την Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας του Νοσοκομείου και ελήφθη η συγκατάθεση των γονέων/κηδεμόνων των ασθενών.

### Σύνθεση πεπτιδίων

**Πεπτίδια ομοιοπολικά συνδεδεμένα σε ράβδους.** Χρησιμοποιήθηκαν 141 20-μερή συνθετικά πεπτίδια αλληλοεπικαλυπτόμενα από 6 κατάλοιπα αμινοξέων (aa) που αντιστοιχούσαν στα αντιγονικά θραύσματα τα οποία είχαν προηγουμένως ανιχνευθεί από τους Beghetto και συν, συνολικού μήκους 1702aa; CbpD [aa 248 - 338], PhtD [aa 38 - 316], PhtE [aa 55 - 178, aa 235 - 387], PspA [aa 90-195, aa 76-432], PfbB [aa 133-334, aa 443- 606, aa 851 - 1133] και ZmpB [aa 346-654] [9]. Τα συνθετικά πεπτίδια συντέθηκαν ομοιοπολικά σε ράβδους πολυστυρενίου οι οποίες αντιστοιχούσαν στο κλασικό μικροπλακίδιο ELISA των 96 θέσεων (MIMOTOPE, UK, Ltd).

**Διαλυτά πεπτίδια σε δομή δένδρων πολυλυσίνης.** Οι πιο αντιγονικοί επίτοποι συντέθηκαν εκ νέου σε ελεύθερη διαλυτή μορφή, σε τετραμερή δομή δένδρων πολυλυσίνης, χρησιμοποιώντας την αυτοματοποιημένη N-φθοροσυλομεθοξυ-καρβονυλο μέθοδο πεπτιδικής σύνθεσης στερεάς φάσης (Fmoc) (Biosynthesis Inc.).

#### **Πολλαπλή Χαρτογράφηση Επιτόπων (Multiplex Epitope Mapping Technology).**

Οι ράβδοι βυθίστηκαν σε μικροπλακίδια τιτλοποίησης 96-οπών από πολυστερίνη (Nunc) που περιείχαν διάλυμα φωσφορικού νατρίου (Phosphate buffer saline, PBS), Tween20 και αλβουμίνη (PBS-BSA). Προστέθηκαν οι οροί σε PBS-BSA και επώαστηκαν με τα πεπτίδια καθ' όλη τη διάρκεια της νύχτας στους 4°C. Στη συνέχεια, οι ράβδοι επώαστηκαν με αντι-ανθρώπινη IgG συζευγμένη με υπεροξειδάση (Jackson Immunoresearch Laboratories) για 1 ώρα στους 37°C. Η παρουσία αντισωμάτων ανιχνεύθηκε με διάλυμα υποστρώματος 2-2' αζινο cis-3-αιθυλβενζοθειαζολινο σουλφονικό οξύ (ABTS) (Sigma Chemicals), μετρήθηκε στα 405nm με το φωτόμετρο Awareness Technology. Τα δεσμευμένα αντισώματα απομακρύνθηκαν από τις ράβδους με εμβύθυνση σε υδατόλουτρο υπερήχων που περιείχε ρυθμιστικό διάλυμα PBS, SDS, 2-μερκαπτοαιθανόλη για 30min στους 60°C.

**ELISA διαλυτών πεπτιδίων.** Μικροπλακίδια τιτλοποίησης πολυστερίνης 96-οπών (Nunc) επώαστηκαν με πεπτίδια (3 ή 15 μg/ml) διαλυμένα σε PBS ή διάλυμα ανθρακικού οξέος (pH = 9,6) για 2 ώρες στους 4°C. Αρχικά τα πεπτίδια επώαστηκαν με PBS που περιείχε 2% w/v αλβουμίνη ορού βοός (PBS-BSA). Έπειτα, προστέθηκαν οι οροί και επώαστηκαν καθ' όλη τη διάρκεια της νύχτας στους 4°C. Τα πεπτίδια εκπλύθηκαν με PBS και επώαστηκαν με αντι-ανθρώπινη IgG αίγας συζευγμένη με αλκαλική φωσφατάση (Jackson Immunoresearch Laboratories). Η παρουσία αντισωμάτων ανιχνεύθηκε με διάλυμα υποστρώματος 4-Nitrophenyl phosphate disodium salt hexahydrate (Sigma Chemicals) στα 405 nm (Awareness Technology).

**Ομολογία αμινοξικής αλληλουχίας με προγράμματα πληροφορικής.** Οι αλληλουχίες των επιτόπων συγκρίθηκαν με τις αλληλουχίες πρωτεϊνών άλλων στρεπτοκόκκων και άλλων βακτηρίων με τη βάση δεδομένων

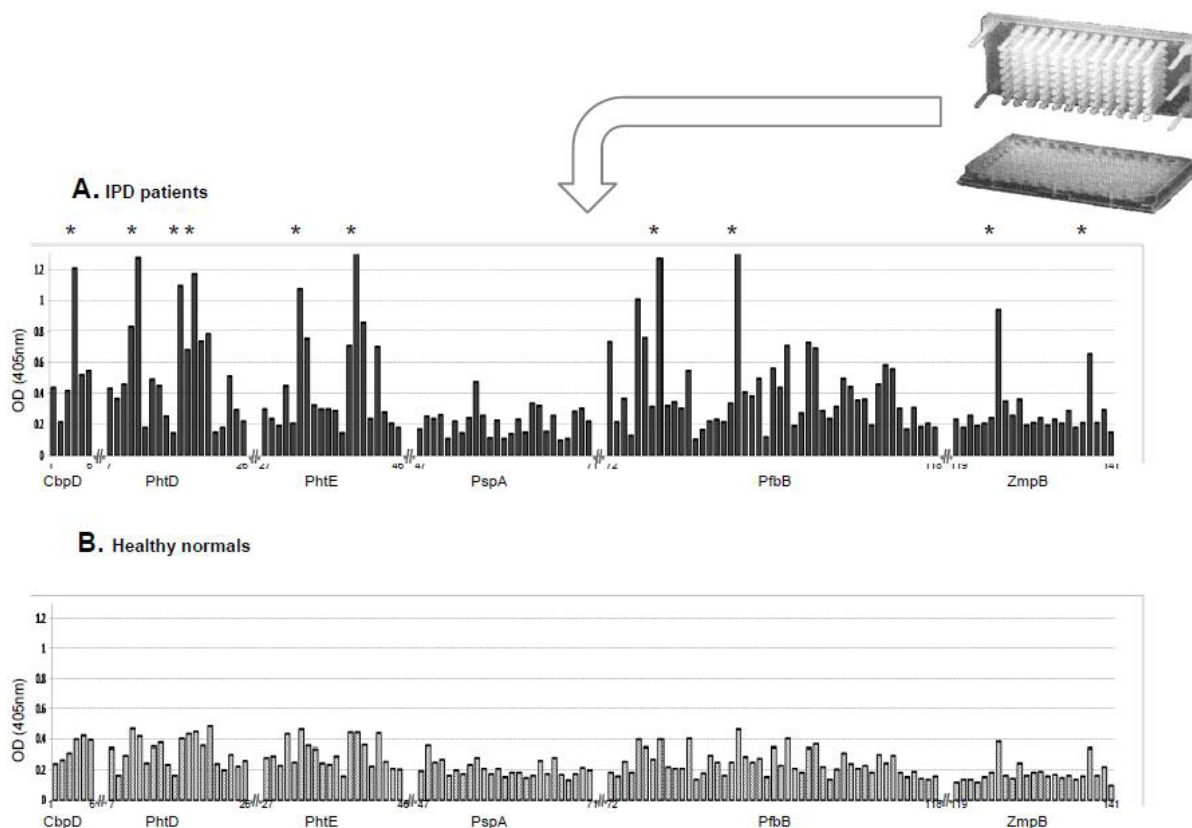
UniProtKB (έκδοση 2015\_01). Το ποσοστό ομολογίας στην αμινοξική αλληλουχία προσδιορίστηκε με τη διαδικτυακή πλατφόρμα Exrasy SIB Blast PAM30 matrix.

#### **Εκχύλιση πρωτεϊνικού πνευμονιοκοκκικού εκχυλίσματος και ανοσοαποτύπωση.**

**Βακτηριακά κύτταρα.** Πνευμονιοκοκκικά κύτταρα των οροτύπων 1, 3, 6B, 18C, 19A, 22F και 23B απομονωμένα από ασθενείς με επιβεβαιωμένη βακτηριαμία διατέθηκαν από το τμήμα Μικροβιολογίας του Νοσοκομείου Παιδών «Η Αγία Σοφία». Η ταυτοποίηση του οροτύπου έγινε με τη δοκιμασία συγκόλλησης latex και την αντίδραση Quellung.

**«Καθαρισμός» ειδικών αντι-πεπτιδικών αντισωμάτων.** Ειδικά αντισώματα έναντι των πιο αντιγονικών πεπτιδίων απομονώθηκαν από ορούς ασθενών με διεισδυτική πνευμονιοκοκκική λοίμωξη, χρησιμοποιώντας στήλες χρωματογραφίας ανοσοσυγγένειας. Για κάθε στήλη χρησιμοποιήθηκαν 7mg πεπτιδίου. Ολικός ορός ασθενών διαπέρασε τη στήλη επιτρέποντας στο ειδικό αντι-πεπτιδικό αντίσωμα να συνδεθεί με το πεπτίδιο, ενώ ο υπόλοιπος ορός διαπέρασε τη στήλη και αποθηκεύτηκε για περαιτέρω χρήση. Με τη βοήθεια του διαλύματος 0.1M HCl-glycine (pH 2.7) έγινε διάσπαση του δεσμού αντιγόνου-αντισώματος και συλλέχθηκε το έκλουμα με το κεκαθαρισμένο αντίσωμα.

**Ανοσοφθορισμός με κυτταρομετρία ροής.** Πνευμονιοκοκκικά κύτταρα ( $OD_{600} = 0.2-0.26$ ) συλλέχθηκαν μετά από φυγοκέντρηση και επώαστηκαν με PBS που περιείχε ορό εμβρύου μόσχου (Fetal calf serum), (PBS-FCS), για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου. Κεκαθαρισμένα αντισώματα σε PBS-FCS με συγκέντρωση 150-200μg/ml προστέθηκαν στα κύτταρα και αφήθηκαν να αντιδράσουν για 2h στους 37°C. Μετά την έκπλυση με PBS, τα κύτταρα επώαστηκαν με αντι-ανθρώπινη IgG αίγας συζευγμένη με ισοθειοκυανική φλουορεσκεΐνη (FITC, Jackson Immunoresearch Laboratories) για 30 min σε θερμοκρασία δωματίου. Τα δείγματα επαναωρήθηκαν σε PBS και αναλύθηκαν με διαλογέα κυττάρων ενεργοποιούμενο με φθορισμό (fluorescence-activated cell sorter-FACS, FACSCalibur, BD Biosciences), χρησιμοποιώντας το λογισμικό Cell Quest (BD Biosciences).



**Εικόνα 1.** (Α) Χαρτογράφηση των επιτόπων των αντιγονικών θραυσμάτων, *CbpD* [αα 248 - 338], *PhtD* [αα 38 - 316], *PhtE* [αα 55-178, αα 235-387], *PspA* [αα 90-195, αα 76-432], *PfbB* [αα 133-334, αα 443-606, αα 851-1133] και *ZmpB* [αα 346-654]. Τα πεπτίδια αριθμούνται στον x-άξονα. Ο y άξονας δείχνει τη μέση οπτική πυκνότητα (OD) στα 405 nm. Αστερίσκοι: τα πεπτίδια που αναγνωρίστηκαν από την πλειονότητα των ασθενών (B) Οι οροί των μαρτύρων παρουσίασαν χαμηλά επίπεδα αντιγονικότητας ( $p > 0.05$ )

### Μικροσκοπία ανοσοφθορισμού.

Τα κύτταρα του πνευμονιοκόκκου επώαστηκαν με αντι-ανθρώπινη IgG αίγας συζευγμένη με Alexa Fluor 488 και αναλύθηκαν με μικροσκόπιο ανοσοφθορισμού (Axiohot, Zeiss).

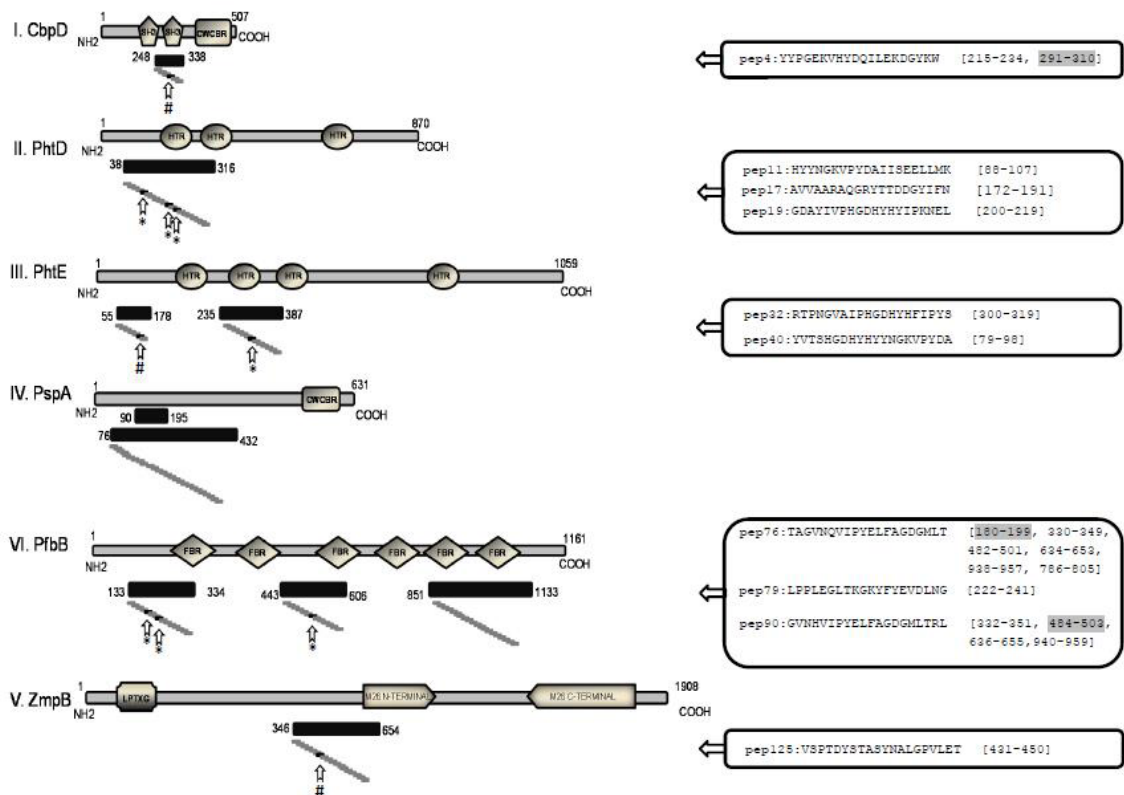
### Στατιστική ανάλυση.

Οι τιμές αντιγονικότητας αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας τη μέθοδο ANOVA, που ακολουθήθηκε από Tukey test post-hoc για την κατά ζεύγη σύγκριση των δειγμάτων. Στην ELISA, όπου τα αντιγόνα ήταν πεπτίδια σε διαλυτή μορφή, η ευαισθησία και η ειδικότητα των επιτόπων εκτιμήθηκαν με βάση την αντιγονικότητά τους στους ορούς ασθενών με διεισδυτική πνευμονι-

οκοκκική λοίμωξη και τους ορούς των μαρτύρων χρησιμοποιώντας τις καμπύλες ROC (receiver operating characteristic). Όλες οι τιμές p ήταν two-tailed. Η στατιστική σημαντικότητα ορίστηκε στο  $p < 0.05$  και οι αναλύσεις διεξήχθησαν με τη βοήθεια των λογισμικών Minitab v16.0 και GraphPad Prism v5.03.

### Αποτελέσματα

Ανιχνεύτηκαν 10 ανοσοκυρίαρχοι Β-λεμφοκυτταρικοί επίτοποι με αμινοξική αλληλουχία (αα): *CbpD*-per4 (αα 291-310), *PhtD*-per11 (αα 88-107), *PhtD*-per17 (αα 172-191), *PhtD*-per19 (αα 200-219), *PhtE*-per32 (αα 300-319), *PhtE*-per40 (αα 79-98), *PfbB*-per76 (αα 180-199), *PfbB*-per79 (αα 222-241), *PfbB*-per90 (αα 484-



**Εικόνα 2.** Σχηματική αναπαράσταση των 6 πρωτεϊνών της επιφάνειας του πνευμονιοκόκκου και των αντιγονικών τμημάτων εντός αυτών (μαύρες μπάρες κάτω από κάθε πρωτεΐνη). Μικρές μπάρες: συνθετικά 20-μερή πεπτίδια. Βέλη: 10 ανοσοκυρίαρχοι Β-λεμφοκυτταρικοί επίτοποι. Αστερίσκοι (\*): επίτοποι που αναγνωρίστηκαν από το 100% των ορών που εξετάστηκαν. Το σύμβολο (#): επίτοποι που αναγνωρίστηκαν από το 90% των ορών.

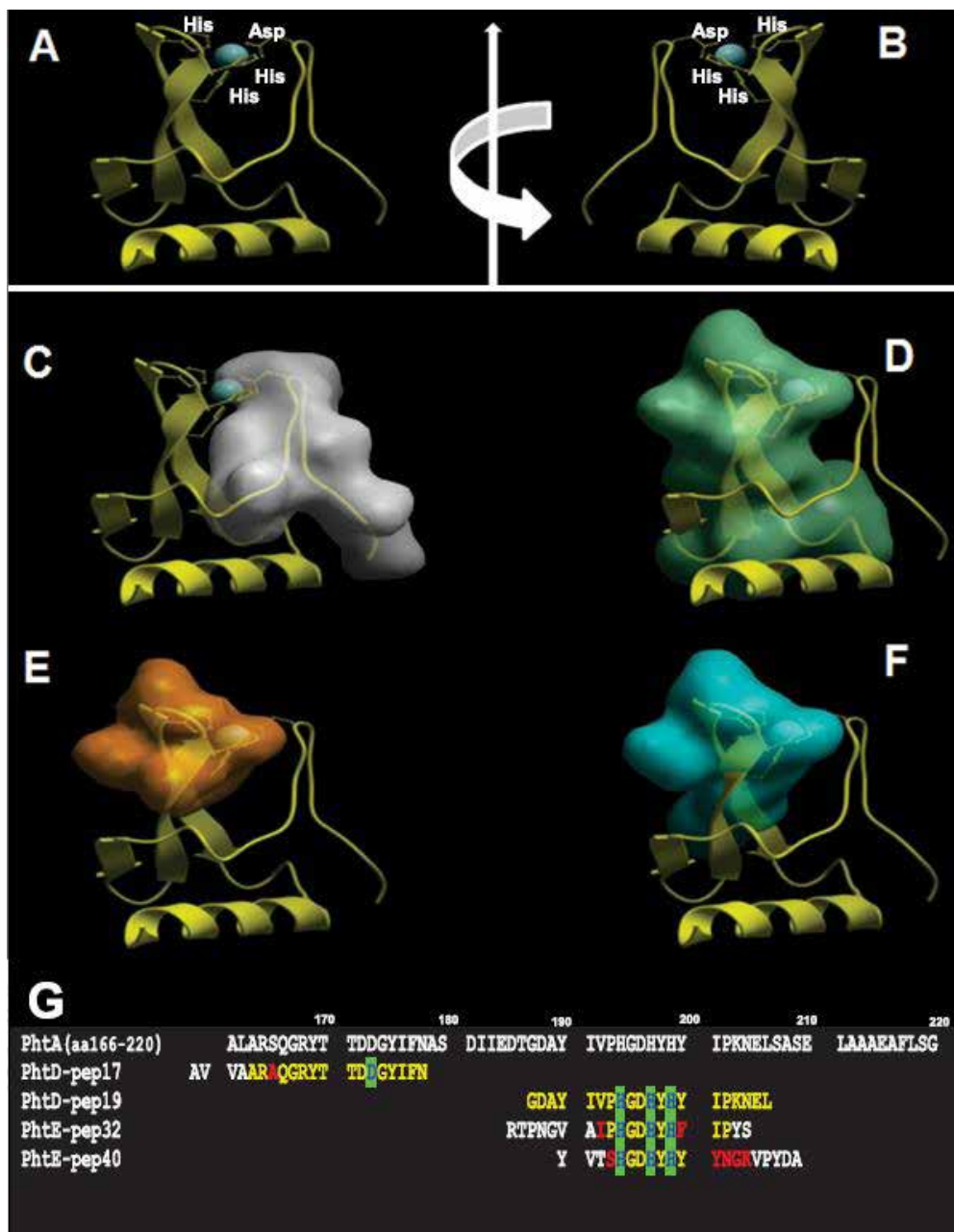
503) και ZmpB-pep125 (αα 431-450) (Εικόνες 1, 2).

Όλοι οι επίτοποι ήταν κοινói στην πλειονότητα των πνευμονιοκοκκικών οροτύπων, ενώ τέσσερις: PhtD-pep17, PhtD-pep19, PhtE-pep32 και PhtE-pep40, εντοπίστηκαν εντός της λειτουργικής περιοχής σύνδεσης του Zn<sup>2+</sup> των αντίστοιχων πρωτεϊνών (Εικόνα 3). Οι επίτοποι CbpD-pep4, PfbB-pep76 και PfbB-pep90 εντοπίζονται σε 2, 6 και 4 επαναλήψεις αντίστοιχα εντός της πατρικής τους πρωτεΐνης, ενώ οι επίτοποι PhtD-pep11, PhtD-pep17, PhtD-pep19, PhtE-pep32 και PhtE-pep40 εμφανίζονται με την ίδια (ή 90% ομολογή) αμινοξική αλληλουχία σε όλα τα μέλη των 4 πρωτεϊνών της οικογένειας των Phts.

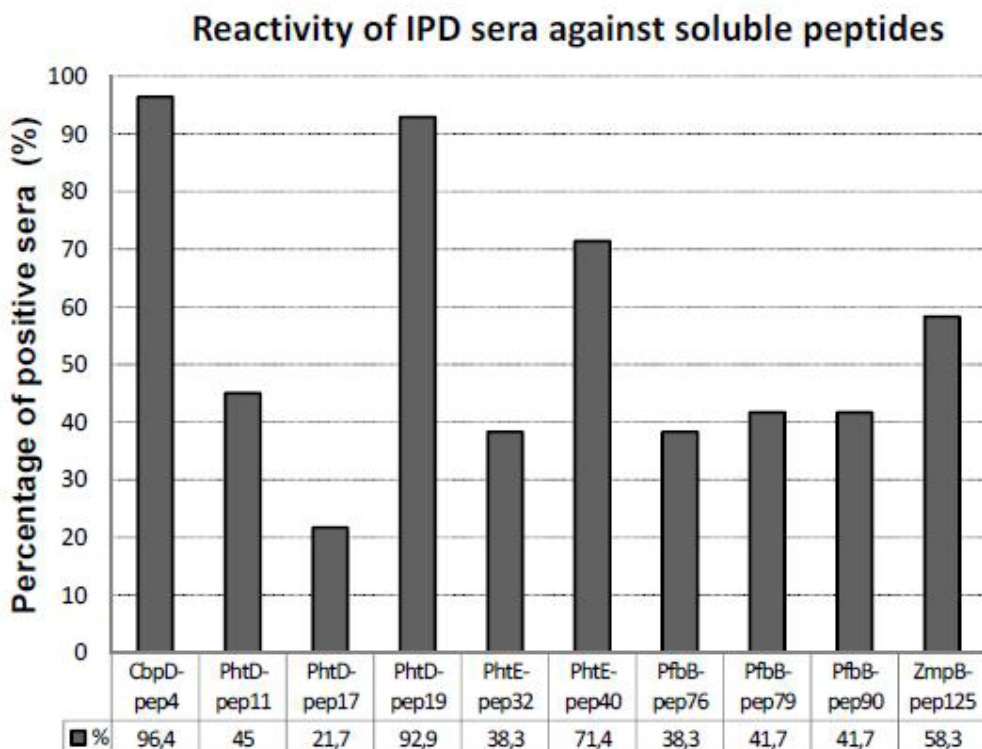
Οι επίτοποι CbpD-pep4, PhtD-pep19 και PhtE-pep40 αναγνωρίστηκαν από την πλειονότητα των ασθενών

με διεισδυτική πνευμονιοκοκκική νόσο με ποσοστά 96,4%, 92,9% και 71,4% αντίστοιχα, ενώ οι οροί των μαρτύρων παρουσίασαν μικρού βαθμού αντιδραστικότητα με όλα τα πεπτίδια (<10,7%) (Εικόνα 4). Για τα πεπτίδια αυτά η ειδικότητα για τη διεισδυτική πνευμονιοκοκκική λοίμωξη ήταν 93,3%, 95% και 96,7%, ενώ η ευαισθησία ήταν 96,4%, 92,9% και 71,4% και η θετική προγνωστική αξία 14,5, 18,6 και 21,4 αντίστοιχα (Εικόνα 5).

Κεκαθαρμένα αντισώματα έναντι των CbpD-pep4, PhtD-pep19 και PhtE-pep40 συνδέθηκαν στην επιφάνεια διαφορετικών ζώντων πνευμονιοκόκκων οροτύπων, όπως αποδείχτηκε με πειράματα κυτταρομετρίας ροής και μικροσκοπίας ανοσοφθορισμού (Εικόνες 6, 7).



**Εικόνα 3.** (A) Ανάλυση της δομής των 4 από τους 10 ανοσοκυρίαρχους επιτόπους. Δομή 3-διαστάσεων του μοτίβου HxxHxH που αντιστοιχεί στην αλληλουχία aa 166-220 της PhtA (PDB ID: 2CS7). (B) Η ίδια δομή παρουσιάζεται επίσης με περιστροφή 180°. (C, D, E, F) Θέση των επιτόπων PhtD-pep17, PhtD-pep19, PhtE-pep32 και PhtE-pep40 (με διαφορετικό χρώμα). Οι τελευταίοι 3 επίτοποι βρίσκονται εντός των 2 β-κλώνων που περιέχουν τα τρία κατάλοιπα ιστιδίνης του μοτίβου των Phts. (G) Πολλαπλή ευθύγραμμη αναπαράσταση της αλληλουχίας του τμήματος της PhtA [aa166-220] και των επιτόπων PhtD-pep17, PhtD-pep19, PhtE-pep32 και PhtE-pep40. Οι ταυτόσημες (identical) και οι συντηρητικές (conservative) αντικαταστάσεις καταλοίπων παρουσιάζονται με έντονους χαρακτήρες, ενώ επισημαίνονται τα κατάλοιπα ασπαρτικού οξέος και ιστιδίνης (D και H αντίστοιχα).

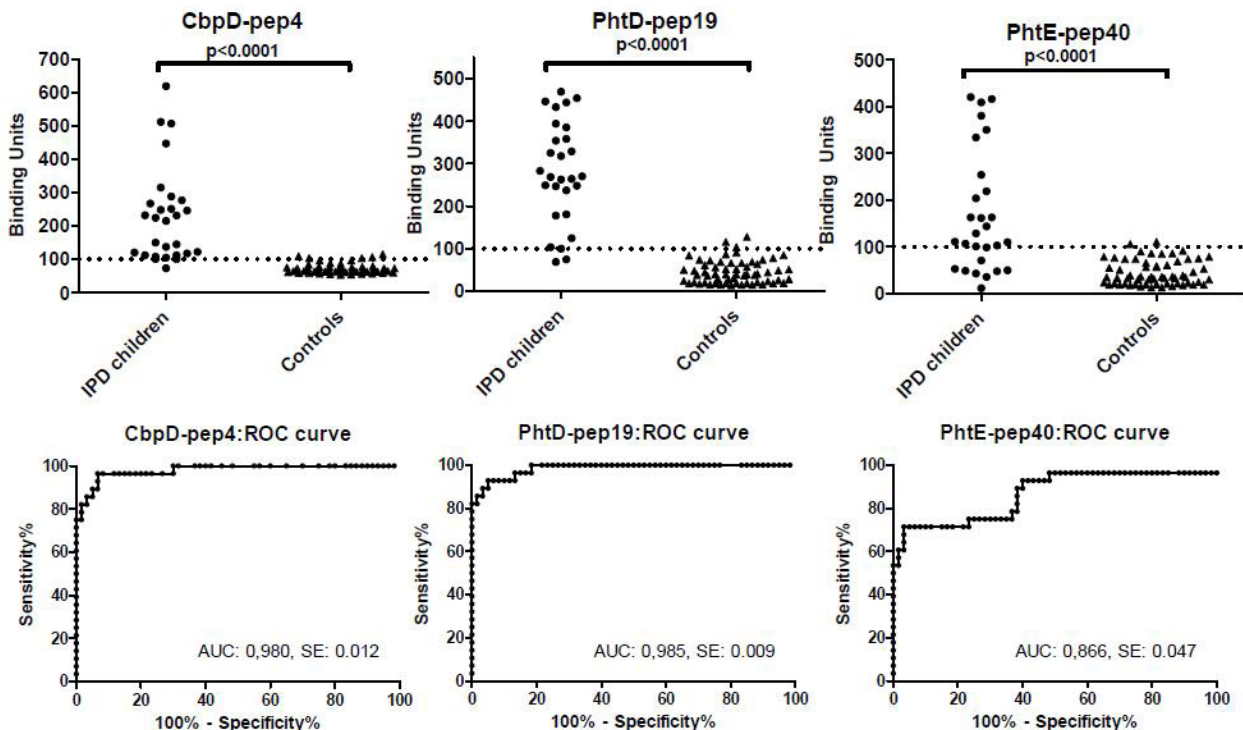


**Εικόνα 4.** Το ποσοστό των ασθενών με διεισδυτική πνευμονιοκοκκική λοίμωξη που αντέδρασαν θετικά έναντι των 10 πιο αντιγονικών επιτόπων που είχαν επιλεγεί με τη μέθοδο της πολλαπλής χαρτογράφησης με εφίπνευόμενα πεπτιδία.

### Συζήτηση

Στην παρούσα μελέτη ανιχνεύτηκαν για πρώτη φορά 10 ανοσοκυρίαρχοι Β-λεμφοκυτταρικοί επίτοποι, σε επίπεδο αμινοξέος, που αναγνωρίστηκαν από ορούς παιδιατρικών ασθενών με διεισδυτική πνευμονιοκοκκική λοίμωξη. Οι επίτοποι αυτοί εντοπίζονται εντός πρωτεϊνών της πνευμονιοκοκκικής επιφάνειας με σημαντικό ρόλο στη λοιμογόνο δράση του βακτηρίου. Συγκεκριμένα, ένας επίτοπος εντοπίστηκε εντός της πρωτεΐνης CbpD που συμμετέχει στην προσκόλληση του βακτηρίου στα επιθηλιακά κύτταρα, στην αναστολή της δράσης του συμπληρώματος και την αυτόλυση του βακτηρίου<sup>10</sup>. Δύο επίτοποι εντοπίστηκαν εντός της πρωτεΐνης PhtE και 3 επίτοποι εντός της PhtD. Οι πρωτεΐνες της οικογένειας των Phts αναστέλλουν την εναπόθεση του συμπληρώματος στην επιφάνεια του βακτηρίου, εμποδίζοντας την οψωνοφαγοκυττάρωσή του. Επίσης, οι Phts πρωτεΐνες συμμετέχουν στην προ-

σκόλληση των βακτηρίων στα επιθηλιακά κύτταρα, κυρίως μέσω της ρύθμισης της ομοιόστασης του  $Zn^{2+}$ <sup>11</sup>. Ακόμα, ένας επίτοπος εντοπίστηκε στην πρωτεΐνη ZmpB και 3 επίτοποι στην πρωτεΐνη PfbB. Οι δύο αυτές πρωτεΐνες συμμετέχουν στην προσκόλληση του βακτηρίου στα επιθηλιακά κύτταρα του ξενιστή<sup>12</sup>. Η εντόπιση των επιτόπων εντός πρωτεϊνών με σημαντικό ρόλο στη λοιμογόνο δράση του βακτηρίου μειώνει την πιθανότητα αρνητικής επιλογής ή μη έκφρασης του αντίστοιχου γονιδίου και τον αριθμό των πιθανών οριζόντιων γενετικών ανασυνδυασμών, μεθόδους που επιστρατεύει ο πνευμονιόκοκκος προκειμένου να διαφεύγει από το εύρος της οροτυπικής κάλυψης των κυκλοφορούντων εμβολίων<sup>13</sup>. Η θέση των επιτόπων υποδηλώνει ότι τα αντισώματα έναντι αυτών ίσως συνδέονται με ολόκληρη την αντίστοιχη πρωτεΐνη, αναστέλλοντας τη λειτουργία της και μειώνοντας τη διεισδυτική ικανότητα του βακτηρίου. Δεν ανιχνεύθηκε κα-



**Εικόνα 5.** (Α) Τίτλοι αντισωμάτων έναντι των 3 πιο αντιγονικών επιτόπων στους ορούς των 28 ασθενών με διεισδυτική πνευμονιοκοκκική νόσο και των 60 μαρτύρων. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν την τιμή cutoff για κάθε πεπτιδίδιο. (Β) Οι καμπύλες ROC δείχνουν την ευαισθησία και την ειδικότητα των τιμών της οπτικής πυκνότητας που καταγράφηκαν στην ELISA.

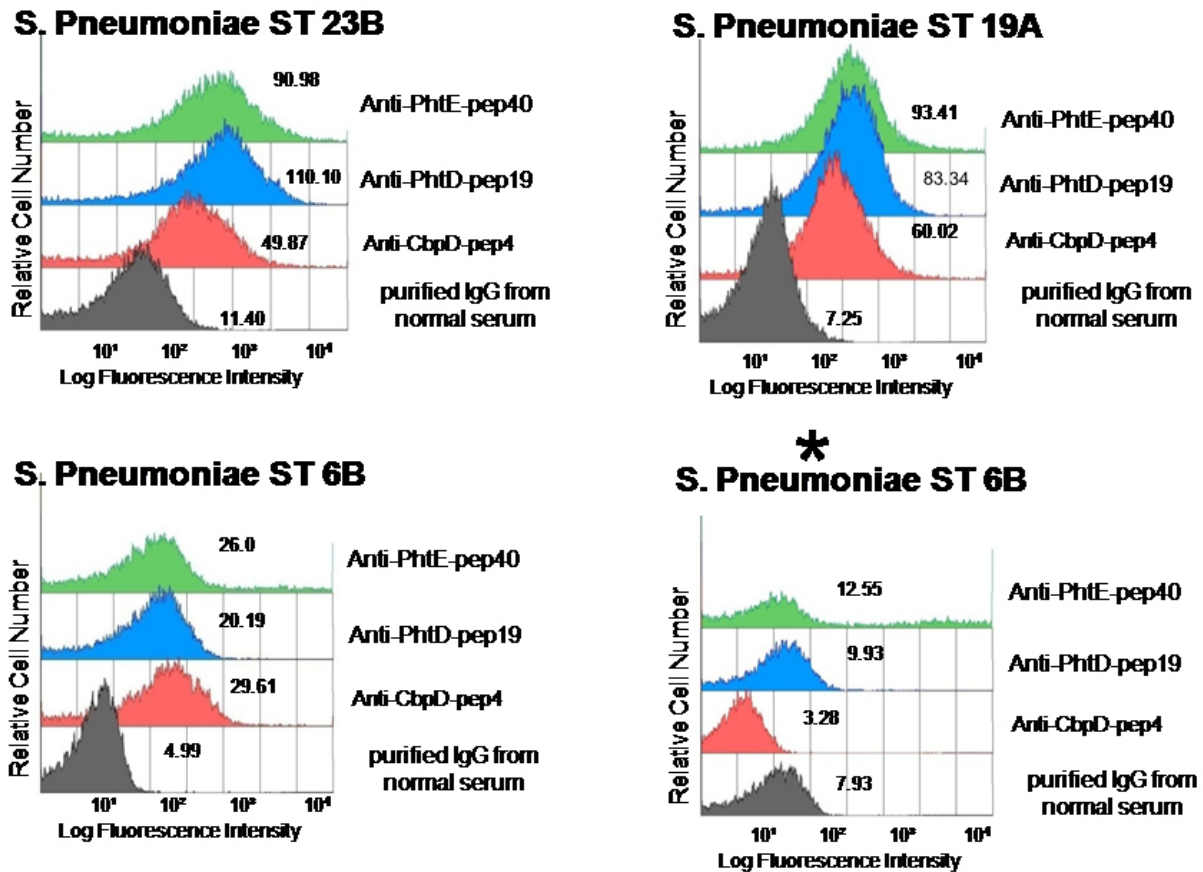
νένας επίτοπος εντός της PspA, η οποία έχει μελετηθεί εκτενώς. Αυτό οφείλεται στη μεγάλη ετερογένεια της αμινοξικής αλληλουχίας της μεταξύ των διαφορετικών οροτύπων<sup>14</sup>, είτε στο ότι περιέχει κυρίως διαμορφωτικούς επιτόπους, που δεν δύναται να εντοπιστούν μέσω της πολλαπλής χαρτογράφησης, η οποία ευνοεί την ανίχνευση γραμμικών επιτόπων.

Οι επιλεγμένοι επίτοποι εμφανίζονται με 100% ομολογία αμινοξικής αλληλουχίας στους περισσότερους πνευμονιοκοκκικούς οροτύπους, ενώ παρουσιάζουν μερικού βαθμού ομολογία στην αμινοξική αλληλουχία με άλλους στρεπτοκόκκους, που αποικίζουν το ρινοφάρυγγα και επάγουν την παραγωγή αντισωμάτων, ενώ σπάνια προκαλούν διεισδυτική λοίμωξη, συνήθως σε ασθενείς με ανοσοανεπάρκεια<sup>15</sup>. Κάποιοι επίτοποι βρίσκονται σε πολλαπλές επαναλήψεις των πατρικών

πρωτεϊνών, εύρημα που συνεπάγεται μεγαλύτερη ισχύ σύνδεσης αντισωμάτων-πρωτεΐνης (μέσω δισθενούς αλληλεπίδρασης), άρα αποτελεσματικότερη προστασία<sup>16,17</sup>.

Οι επίτοποι PhtD-pep17, PhtD-pep19, PhtE-pep32 και PhtE-pep40 εντοπίζονται εντός της περιοχής σύνδεσης του  $Zn^{2+}$  στην πατρική πρωτεΐνη, που αποτελείται από τρία κατάλοιπα ιστιδίνης, σύμφωνα με το μοτίβο HxxHxH, και ένα κατάλοιπο ασπαρτικού οξέος [18]. Η πρόσδεση των αντι-πεπτιδικών αντισωμάτων σε αυτήν την περιοχή εμποδίζει την αλληλεπίδραση της πρωτεΐνης με τον ψευδάργυρο, αναστέλλοντας ειδικά τη λειτουργία των πρωτεϊνών αυτών ως ρυθμιστές της ομοιοστάσης της συγκέντρωσης του  $Zn^{2+}$  στο βακτηριακό περιβάλλον<sup>11,17,19-21</sup>.

Τρεις από τους 10 αρχικά επιλεγμένους επιτόπους,

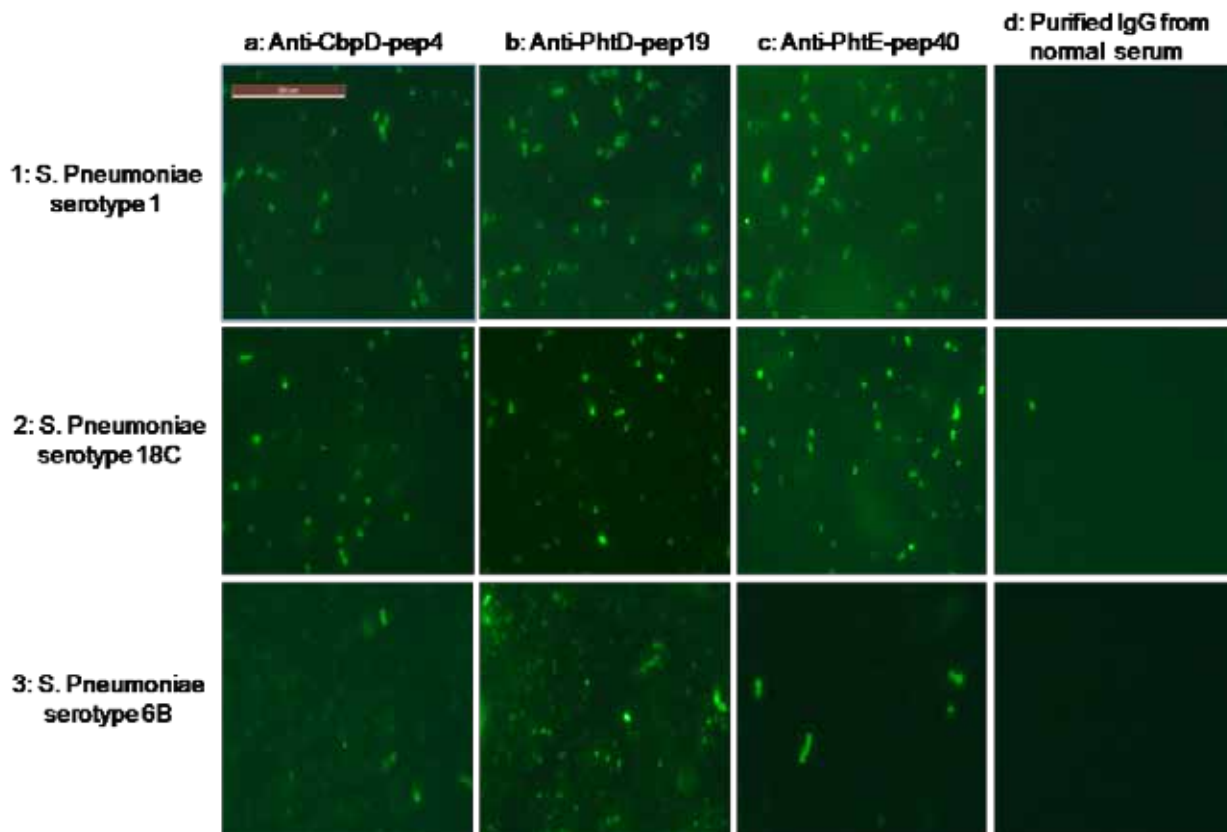


**Εικόνα 6.** Αντισώματα ειδικά για τους επιτόπους CbpD-pep4, PhtD-pep19 και PhtE-pep40 συνδέθηκαν στην επιφάνεια πνευμονιοκόκκων διαφορετικών οροτύπων. Ο αστερίσκος αντιστοιχεί σε ένα στέλεχος πνευμονιοκόκκου οροτύπου 6B, στην επιφάνεια του οποίου δεν συνδέθηκαν τα ειδικά αντι-πεπτιδικά αντισώματα. Κεκαθαρμένη ολική ανοσοσφαιρίνη IgG από ορό μάρτυρα εξετάστηκε επίσης έναντι πνευμονιοκόκκων των διαφορετικών οροτύπων ως αρνητικός μάρτυρας.

οι CbpD-pep4, PhtD-pep19 και PhtE-pep40, παρουσίασαν την υψηλότερη αντιγονικότητα μεταξύ των ορών των ασθενών και μειωμένη αντιγονικότητα έναντι των ορών του συνόλου των μαρτύρων.

Η έκθεση στον πνευμονιοκόκκο (με τη μορφή φορέας ή μη διεισδυτικής λοίμωξης) μπορεί να προκαλέσει την παραγωγή αντισωμάτων έναντι πρωτεϊνών επιφανείας, ακόμα και σε άτομα χωρίς ιστορικό διεισδυτικής πνευμονιοκοκκικής λοίμωξης<sup>22</sup>. Στην παρούσα μελέτη, αν και δεν ήταν γνωστό αν οι ασθενείς και οι μάρτυρες είχαν εκτεθεί στον πνευμονιοκόκκο, μέσω ρινοφαρυγγικής φορέας ή μη διεισδυτικής λοίμωξης, υποθέτουμε ότι δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές

μεταξύ των δύο ομάδων, ικανές να εξηγήσουν τη στατιστικά σημαντική διαφορά στην αντιγονικότητα των επιτόπων. Μία πιθανή εξήγηση για τη διαφορά αυτή είναι ότι οι συγκεκριμένοι επιτόποι αναγνωρίζονται στο στάδιο της προσκόλλησης του βακτηρίου στο επιθήλιο, της διείσδυσής του στην κυκλοφορία του αίματος και της έντονης φλεγμονής, που παρατηρείται αποκλειστικά στην περίπτωση της διεισδυτικής πνευμονιοκοκκικής λοίμωξης. Εναλλακτικά, οι συγκεκριμένοι επιτόποι μπορεί να προκύπτουν μέσω της διαδικασίας της σωματικής υπερμετάλλαξης (somatic hypermutation) που καταλήγει σε μικρές διαφορές αμινοξέων στις μεταβλητές περιοχές των αλυσίδων των αντισωμάτων, με



**Εικόνα 7.** Σύνδεση των ειδικών αντι-πεπτιδικών αντισωμάτων παρατηρήθηκε στην επιφάνεια πνευμονιοκοκκικών κυττάρων διαφορετικών οροτύπων χρησιμοποιώντας μικροσκόπιο ανοσοφθορισμού (Zeiss LSM 510). Ειδικά κεκαθαρμένα αντισώματα έναντι των επιτόπων CbpD-pep4 (στήλη a), PhtD-pep19 (στήλη b) και PhtE-pep40 (στήλη c) συνδέθηκαν στην επιφάνεια πνευμονιοκόκκων που ανήκαν στους οροτύπους 1 (Σειρά 1) και 18C (Σειρά 2). Μικρότερου βαθμού σύνδεση παρατηρήθηκε στην επιφάνεια πνευμονιοκοκκικών κυττάρων ενός στελέχους του οροτύπου 6B (Σειρά 3). Πνευμονιοκόκκοι των τριών οροτύπων επώαστηκαν με κεκαθαρμένη ολική ανοσοσφαιρίνη IgG από ορό μάρτυρα (αρνητικός μάρτυρας) (στήλη d).

αποτέλεσμα την παραγωγή αντισωμάτων υψηλότερης συγγένειας για το αντιγόνο<sup>23</sup>.

Οι οροί των ασθενών με διεισδυτική πνευμονιοκοκκική λοίμωξη ήταν αντιγονικοί έναντι τουλάχιστον ενός επιτόπου, γεγονός που υποδηλώνει ότι ένα συνθετικό μόριο με τα τρία αυτά πεπτίδια θα παρουσίαζε ευρύτερη αντιγονικότητα<sup>24-27</sup>.

Τα ειδικά αντι-πεπτιδικά αντισώματα παρουσίασαν σημαντικού βαθμού οψωνινοποίηση έναντι ζώντων πνευμονιοκόκκων, δεσμεύοντας την πατρική τους πρωτεΐνη στη φυσική της διαμόρφωση, όπως εντοπί-

ζεται στη βακτηριακή επιφάνεια. Επομένως, η κάψα των βακτηρίων δεν εμπόδισε τη δέσμευση της πρωτεΐνης από το αντίσωμα.

Τα αντισώματα που επάγουν την οψωνινοποίηση του πνευμονιοκόκκου προστατεύουν έναντι της πνευμονιοκοκκικής νόσου<sup>28-30</sup>. Πειράματα στο εργαστήριό μας έδειξαν ότι ειδικά κεκαθαρμένα αντι-πεπτιδικά αντισώματα παρουσίασαν σημαντική in vitro οψωνοφαγοκυτταρική δραστηριότητα έναντι του πνευμονιοκόκκου, ενώ ανοσοποίηση μυών με τα αντισώματα αυτά αύξησε σημαντικά την επιβίωση αυτών κατόπι-

πρόκλησης με θανατηφόρα δόση πνευμονιοκόκκου<sup>31</sup>.

Σημειώνεται ότι τα ειδικά αντι-πεπτιδικά αντισώματα δεν συνδέθηκαν στην επιφάνεια ενός από τα δύο στελέχη του οροτύπου 6B. Αυτό αποδίδεται στη μειωμένη έκφραση των πρωτεϊνών PhtE, PhtD και CbpD στο στέλεχος. Εναλλακτικά, η διαφορά ίσως οφείλεται στη διακύμανση του πάχους της βακτηριακής κάψας των διαφόρων οροτύπων<sup>32,33</sup>.

Το υψηλό ποσοστό διατήρησης της αμινοξικής αλληλουχίας των Β-λεμφοκυτταρικών επιτόπων της παρούσας μελέτης μεταξύ των διαφορετικών οροτύπων, η ειδικότητά τους για τη διεισδυτική πνευμονιοκοκκική νόσο, η εντόπισή τους σε λειτουργικά τμήματα της αντίστοιχης πατρικής πρωτεΐνης και η

ικανότητά τους για οψωνινοποίηση του πνευμονιοκόκκου, σε συνδυασμό με το μικρό μήκος και την εύκολη και οικονομική παραγωγή τους, είναι χαρακτηριστικά που τους προσδίδουν ενδιαφέρον αναφορικά με τη δυνατότητα χρήσης τους στο σχεδιασμό εμβολίων νέας γενιάς. Τα πολυδύναμα αυτά εμβόλια θα περιέχουν συνδυασμό συνθετικών αναλόγων των παραπάνω επιτόπων ώστε να παρέχουν ευρεία οροτυπική προστασία. Τέλος, σημειώνεται ότι οι συγκεκριμένοι επίτοποι προσδιορίστηκαν χρησιμοποιώντας ορούς παιδιών με διεισδυτική πνευμονιοκοκκική λοίμωξη, καθώς τα παιδιά αποτελούν ομάδα υψηλού κινδύνου για τη νόσο αυτή και χρήζουν βέλτιστης προστασίας. ■

## ABSTRACT

### Discovery of Immunodominant B Cell Epitopes within Surface Pneumococcal Virulence Proteins in Pediatric Patients with Invasive Pneumococcal Disease

Lagousi T, Routsias J, Basdeki P, Piperi C, Tsakris A, Chrousos G, Theodoridou M, Spoulou V

*Streptococcus pneumoniae* causes morbidity and mortality worldwide. Although, currently available pneumococcal vaccines have successfully reduced vaccine-type invasive pneumococcal disease rates, limitations mainly regarding the emergence of non-vaccine serotypes remain a problem. Our study focused on the identification of immunodominant B cell epitopes within surface pneumococcal virulence proteins in pediatric patients with invasive pneumococcal disease (IPD), to define novel vaccine candidates. To this aim, we evaluated sera from children with IPD against 141 20-mer synthetic peptides covering the entire sequence of major, previously identified, antigenic fragments within pneumococcal virulence proteins; CbpD, PhtD and PhtE, PspA, PfbB and ZmpB. Ten immunodominant B cell epitopes were identified. All epitopes were highly conserved among different pneumococcal sero-

types, while four of them were located within the functional zinc-binding domain of the histidine triad proteins PhtD and PhtE. Three epitopes were broadly recognized by IPD patients' sera with prevalence of 96.4%, 92.9%, and 71.4% respectively, whereas controls' sera exhibited only minor reactivities (<10.7%). Peptides' specificities for IPD were 93.3%, 95%, and 96.7%, their sensitivities were 96.4%, 92.9% and 71.4% and their positivity likelihood ratios for IPD were 14.5, 18.6 and 21.4 respectively. Furthermore, purified antibodies against the latter bound on the surface of different pneumococcal serotypes. The identified immunodominant B cell epitopes provide a better understanding of the immune response in children with IPD, and are worth further evaluation of their opsonophagocytic activity and protective efficiency as potential vaccine candidates in additional studies.

**KEY WORDS:** *Streptococcus*; epitope mapping; pneumonia; vaccine development; zinc finger

### REFERENCES

- O'Brien K.L., Wolfson L.J., Watt J., Henkle E., Deloria-Knoll M., Cherian T. et al. Burden of disease caused by *Streptococcus pneumoniae* in children younger than 5 years: global estimates. *The Lancet*, 2009;374:893–902.
- Ciapponi A., Elorriaga N., Rojas J.I., Romano M., Martí S.G., Bardach A et al. Epidemiology of Pediatric Pneumococcal Meningitis and Bacteremia in Latin America and the Caribbean. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 2014;33:971–978.
- Ben-Shimol S., Greenberg D., Givon-Lavi N., Elias N., Glikman D., Rubinstein U. et al. Rapid reduction in invasive pneumococcal disease after introduction of PCV7 into the National Immunization Plan in Israel. *Vaccine*, 2012;30:6600–6607.
- Pilishvili T., Lexau C., Farley M.M., Hadler J., Harrison L.H., Moore M.R. et al. Sustained Reductions in Invasive Pneumococcal Disease in the Era of Conjugate Vaccine. *The Journal of Infectious Diseases*, 2010;201:32–41.
- Scott J.R., Millar E.V., Lipsitch M., Moulton L.H., Weatherholtz R., Perilla M.J et al. Impact of More Than a Decade of Pneumococcal Conjugate Vaccine Use on Carriage and Invasive Potential in Native American Communities. *The Journal of Infectious Diseases*, 2011;205:280–288.
- Chibuk, T. K., Robinson, J.L., & Hartfield, D. S. Pediatric complicated pneumonia and pneumococcal serotype replacement: trends in hospitalized children pre and post introduction of routine vaccination with Pneumococcal Conjugate Vaccine (PCV7). *European Journal of Pediatrics*, 2010;169:1123–1128.
- Tai, S.S. *Streptococcus pneumoniae* Protein Vaccine Candidates: Properties, Activities and Animal Studies. *Critical Reviews in Microbiology*, 2006;32:139–153.
- Lagousi T., Basdeki P., Routsias J., Spoulou V. Novel Protein-Based Pneumococcal Vaccines: Assessing the Use of Distinct Protein Fragments Instead of Full-Length Proteins as Vaccine Antigens. *Vaccines*, 2019; 7:9.
- Beghetto E., Gargano N., Ricci S., Garufi G., Montagnani Felici F. Discovery of novel *Streptococcus pneumoniae* antigens by screening a whole-genome  $\lambda$ -display library. *FEMS Microbiology Letters*, 2006;262:14–21.
- Kausmally L., Johnsborg O., Lunde M., Knutsen E., Håvarstein L.S. Choline-binding protein D (CbpD) in *Streptococcus pneumoniae* is essential for competence-induced cell lysis. *J Bacteriol*, 2005;187:4338-45.
- Kallio A., Sepponen K., Hermand P., Denoël P., Godfroid F., Melin M. The role of pneumococcal histidine triad (Pht) proteins in the attachment of *Streptococcus pneumoniae* to respiratory epithelial cells. *Infect Immun*, 2014;82:1683-91.
- Gong Y., Xu W., Cui Y., Zhang X., Yao R., Li D. et al. Immunization with a ZmpB-based protein vaccine could protect against pneumococcal diseases in mice. *Infect Immun*, 2011;79:867-878.
- Croucher N.J., Harris S.R., Fraser C., Quail M.A., Burton J., van der Linden M. et al. Rapid pneumococcal evolution in response to clinical interventions. *Science*, 2011;331:430-4.
- Hollingshead S.K., Becker R., Briles DE. Diversity of PspA: mosaic genes and evidence for past recombination in *Streptococcus pneumoniae*. *Infect Immun*, 2000;68:5889-5900.
- Nobbs A.H., Lamont R.J., Jenkinson H.F. *Streptococcus* adherence and colonization. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2009;73:407-450.
- Fried A.J., Altrich M.L., Liu H., Halsey J.F., Bonilla F. Correlation of pneumococcal antibody concentration and avidity with patient clinical and immunologic characteristics. *J Clin Immunol*, 2013;33:847-856.
- Ogunniyi A.D., Grabowicz M., Mahdi L.K., Cook J., Gordon D.L., Sadlon T.A., et al. Pneumococcal histidine triad proteins are regulated by the Zn<sup>2+</sup>-dependent repressor AdcR and inhibit complement deposition through the recruitment of complement factor H. *FASEB J*, 2009;23:731-8.
- Riboldi-Tunnicliffe A., Isaacs N.W., Mitchell T.J. Angstroms crystal structure of the *Pneumococcus* PhtA histidine triad domain a novel zinc binding fold. *FEBS Lett*, 2005;579:5353-60.
- Rioux S., Neyt C., Di Paolo E., Turpin L., Charland N., Labbé S. et al. Transcriptional regulation, occurrence and putative role of the Pht family of *Streptococcus pneumoniae*. *Microbiology*, 2011;157:336-48.

## REFERENCES

20. Godfroid F, Hermand P, Verlant V, Denoël P, Poolman J.T. Preclinical evaluation of the Pht proteins as potential cross-protective pneumococcal vaccine antigens. *Infect Immun*, 2011;79(1):238-45.
21. Khan M., Pichichero ME. Vaccine candidates PhtD and PhtE of *Streptococcus pneumoniae* are adhesins that elicit functional antibodies in humans. *Vaccine*, 2012;30:2900-2907.
22. Adrian P.V., Bogaert D., Oprins M., Rapola S., Lahdenkari M., Kilpi T. et al. Development of antibodies against pneumococcal proteins alpha-enolase, immunoglobulin A1 protease, streptococcal lipoprotein rotamase A, and putative proteinase maturation protein A in relation to pneumococcal carriage and Otitis Media. *Vaccine*, 2004;22 (21-22):2737-2742.
23. Zhou J., Lottenbach K.R., Barenkamp S.J., Reason D.C. Somatic hypermutation and diverse immunoglobulin gene usage in the human antibody response to the capsular polysaccharide of *Streptococcus pneumoniae* Type 6B. *Infect Immun*, 2004;72:3505-3514.
24. Posfay-Barbe K.M., Galetto-Lacour A., Grillet S., Ochs M.M., Brookes R.H., Kraehenbuhl J.D. et al. Immunity to pneumococcal surface proteins in children with community-acquired pneumonia: a distinct pattern of responses to pneumococcal choline-binding protein A. *Clin Microbiol Infect*, 2011;17:1232-1238.
25. Verhoeven D., Xu Q., Pichichero M.E. Vaccination with a *Streptococcus pneumoniae* trivalent recombinant PcpA, PhtD and PlyD1 protein vaccine candidate protects against lethal pneumonia in an infant murine model. *Vaccine*, 2014;32:3205-10.
26. Cao J., Chen D., Xu W., Chen T., Xu S., Luo J. et al. Enhanced protection against pneumococcal infection elicited by immunization with the combination of PspA, PspC, and ClpP. *Vaccine*, 2007;25:4996-5005.
27. Adamou J.E., Heinrichs J.H., Erwin A.L., Walsh W., Gayle T., Dormitzer M., et al. Identification and characterization of a novel family of pneumococcal proteins that are protective against sepsis. *Infect Immun*, 2001;69:949-58.
28. Gor D.O., Ding X., Briles D.E., Jacobs M.R., Greenspan N.S. Relationship between surface accessibility for PpmA, PsaA, and PspA and antibody-mediated immunity to systemic infection by *Streptococcus pneumoniae*. *Infect Immun*, 2005;73:1304-1312.
29. Daniels C.C., Coan P., King J., Hale J., Benton K.A., Briles D.E., et al. The prolinerich region of pneumococcal surface proteins A and C contains surface-accessible epitopes common to all pneumococci and elicits antibody-mediated protection against sepsis. *Infect Immun*, 2010;78:2163-2172.
30. Hame J., Charland N., Pineau I., Ouellet C., Rioux S., Martin D., et al. Prevention of pneumococcal disease in mice immunized with conserved surface-accessible proteins. *Infect Immun*, 2004;72:2659-2670.
31. Papastamatiou T., Routsias J., Koutsoni O., Dotsika E., Tsakris A., Spoulou, V. Evaluation of Protective Efficacy of Selected Immunodominant B-Cell Epitopes within Virulent Surface Proteins of *Streptococcus pneumoniae*. *Infection and Immunity*, 2017;86(3).
32. Weiser J.N., Austrian R., Sreenivasan P.K., Masure H.R. Phase variation in pneumococcal opacity: relationship between colonial morphology and nasopharyngeal colonization. *Infect Immun*, 1994;62:2582-2589.
33. Browall S., Norman M., Tångrot J., Galanis I., Sjöström K., Dagerhamn J. et al. Intraclonal variations among *Streptococcus pneumoniae* isolates influence the likelihood of invasive disease in children. *J Infect Dis*, 2014;209:377-388.

## Δερματοφυτία τριχωτού κεφαλής στα παιδιά. Αναδρομική μελέτη τεσσάρων ετών

Μ. Δακουτρού<sup>1</sup>, Α. Στάθη<sup>2</sup>, Κ. Αντωνιάδου<sup>1</sup>, Ε. Κηρύκου<sup>2</sup>, Λ. Ζαχαριάδου<sup>2</sup>, Χ. Κανακά-Gantenbein<sup>1</sup>,  
Α. Αλεξόπουλος<sup>1</sup>, Τ. Τσιβτανίδου-Κάκουρου<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Α' Παιδιατρική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Νοσοκομείο Παιδών «Η Αγία Σοφία»

<sup>2</sup>Μικροβιολογικό Τμήμα, Νοσοκομείο Παιδών «Η Αγία Σοφία», Αθήνα

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η δερματοφυτία με εντόπιση στο τριχωτό της κεφαλής (*Tinea capitis*) αποτελεί σχετικά συνηθισμένη λοίμωξη στην παιδική ηλικία. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η εκτίμηση των επιδημιολογικών και κλινικών δεδομένων των δερματοφυτιών τριχωτού κεφαλής σε παιδιά που επισκέφθηκαν το εξωτερικό ιατρείο της Μονάδας Παιδοδερματολογίας της Πανεπιστημιακής Κλι-

νικής του Νοσοκομείου Παιδών «Αγία Σοφία» τη χρονική περίοδο 2013-2016. Συνολικά συλλέχθηκαν στοιχεία από 69 παιδιά, μέσης ηλικίας 5± 2,8 ετών. Ο πιο συχνός μύκητας που απομονώθηκε ήταν το *Microsporum canis* (77,5%). Όλα τα παιδιά αντιμετωπίστηκαν επιτυχώς με συστηματική αντιμυκητιακή αγωγή. Η μέση διάρκεια θεραπείας ήταν 8,7 εβδομάδες.

**ΛΕΞΕΙΣ ΕΥΡΕΤΗΡΙΟΥ: δερματοφυτία τριχωτού κεφαλής, ιτρακοναζόλη, *Microsporum canis*, παιδιά**

### Εισαγωγή

Οι επιπολής μυκητιακές λοιμώξεις προκαλούνται από παθογόνους μύκητες οι οποίοι προσβάλλουν την επιδερμίδα και τα εξαρτήματά της (τρίχες, όνυχες) και είναι πιθανόν να οδηγήσουν σε σοβαρή νόσο<sup>1</sup>. Μια κατηγορία επιπολής μυκητιακών λοιμώξεων είναι οι δερματοφυτικές λοιμώξεις, με συχνότερη εντόπισή τους κατά την παιδική ηλικία στο τριχωτό της κεφαλής (*tinea capitis*)<sup>1,2</sup>.

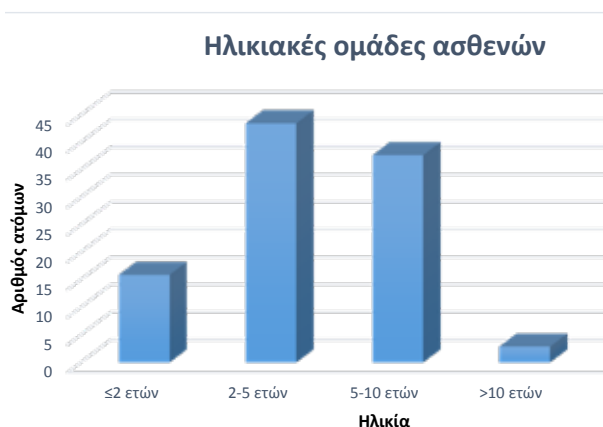
Τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί αύξηση της επίπτωσης των δερματοφυτιών παγκοσμίως, προσβάλλοντας περίπου το 3-8% του παιδιατρικού πληθυσμού

και ιδιαίτερα τη μαύρη φυλή. Το μεγαλύτερο ποσοστό συναντάται σε παιδιά ηλικίας κάτω των 10 ετών (περίπου 92%)<sup>3</sup>. Τα δερματούφυτα περιλαμβάνουν 3 (τρία) γένη: *Trichophyton*, *Microsporum* και *Epidermophyton*<sup>1</sup>.

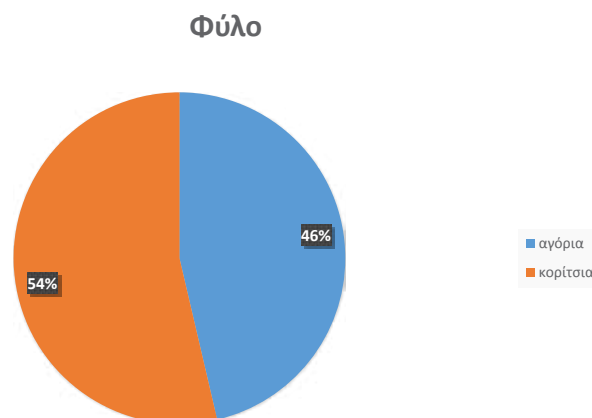
Οι παράγοντες που επηρεάζουν την κατανομή και τη μετάδοση των δερματοφυτιών εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από την πηγή της λοίμωξης. Διακρίνονται σε ζωόφιλα (αυτά που έχουν κύριο ξενιστή τα ζώα και μερικές φορές προσβάλλουν και τον άνθρωπο), σε γεώφιλα (αυτά που προέρχονται από το έδαφος) και σε ανθρωπόφιλα (τα δερματούφυτα που είναι φυσικά παθογόνα του

### Υπεύθυνος επικοινωνίας

Μαρία Δακουτρού, E-mail: mariadak@yahoo.com



**Εικόνα 1.** Ηλικιακή κατανομή ασθενών με δερματοφυτία τριχωτού κεφαλής



**Εικόνα 2.** Φύλο ασθενών με δερματοφυτία τριχωτού κεφαλής

ανθρώπου και αποτελούν την πιο κοινή αιτία ανθρώπινης δερματοφυτίας<sup>1,4,5</sup>. Τα ζωόφιλα και τα γεωφίλα σπάνια μεταδίδονται από άνθρωπο σε άνθρωπο, σε αντίθεση με τα ανθρωπόφιλα<sup>6</sup>. Τα ζώα και ο άνθρωπος μπορεί να είναι ασυμπτωματικοί φορείς και να μεταφέρουν το μύκητα προκαλώντας νόσο σε άλλα άτομα με τα οποία έρχονται σε επαφή, ως επί το πλείστον άτομα της ίδιας οικογένει-ας<sup>4</sup>.

Η δερματοφυτία τριχωτού κεφαλής οφείλεται κυρίως σε ανθρωπόφιλα και ζωόφιλα είδη του γένους *Trichophyton* και *Microsporum*<sup>7</sup>.

Προβάλλει με διάφορες κλινικές μορφές, ανάλογα με το είδος του μύκητα και τη φλεγμονώδη αντίδραση του ξενιστή, ως αλωπεκία, «μαύρα στίγματα», απολέπιση, ερύθημα, φλύκταινες, συνοδός λεμφαδενοπάθεια (τραχηλική ή υπινιακή) και με συμπτώματα όπως αίσθημα τάσης και κνησμού<sup>2,4</sup>. Το κηρίο του Κέλσου είναι μια μορφή με έντονα φλεγμονώδη αντίδραση, η οποία μπορεί να οδηγήσει σε ουλωτική/μόνιμη αλωπεκία εάν δεν αντιμετωπιστεί έγκαιρα<sup>1,4</sup>.

Η διάγνωση τίθεται με την άμεση μικροσκοπική εξέταση υλικού από τη βλάβη μετά από επεξεργασία με ΚΟΗ και με την καλλιέργεια, η οποία επιβεβαιώνει τον υπεύθυνο αιτιολογικό παράγοντα και καθορίζει το είδος και τη διάρκεια της θεραπείας<sup>1,2</sup>.

Η θεραπεία είναι πάντα συστηματική με αντιμυκητιακά από το στόμα, διότι τα δερματόφυτα εντοπίζονται στο θύλακα της τρίχας όπου το φάρμακο δεν μπορεί να συ-

γκεντρωθεί ικανοποιητικά έπειτα από τοπική εφαρμογή. Συμπληρωματική τοπική αγωγή με τοπικά αντιμυκητιακά (π.χ. τερμπιναφίνη) ή σαμπουάν (π.χ. κετοконаζόλη, θειούχο σελήνιο 1%), καθώς επίσης και συγχορήγηση στα υπόλοιπα μέλη της οικογένειας είναι σκόπιμη, διότι μειώνει τη μεταδοτικότητα της λοίμωξης και επιταχύνει την ίαση<sup>1,2,4,8</sup>. Η θεραπεία εκλογής είναι η συστηματική χορήγηση γκριζεοφουλβίνης από το στόμα, η οποία είναι δραστική έναντι των δερματοφύτων, ιδιαίτερα των ειδών *Microsporum*, και χρησιμοποιείται ευρέως από το 1950 με ασφάλεια. Η γκριζεοφουλβίνη χορηγείται μέχρι την αρνητικοποίηση της καλλιέργειας, συνήθως για 6-12 εβδομάδες συνολικά<sup>3,8</sup>. Όμως, η γκριζεοφουλβίνη δεν είναι διαθέσιμη σε κάποιες ευρωπαϊκές χώρες, συμπεριλαμβανομένης και της Ελλάδας. Νεότερα αντιμυκητιακά όπως η ιτρακοναζόλη, η τερμπιναφίνη και η φλουκοναζόλη επίσης χρησιμοποιούνται στα παιδιά. Αμφότερες η ιτρακοναζόλη και η φλουκοναζόλη φαίνεται ότι είναι εξίσου αποτελεσματικές με την γκριζεοφουλβίνη στην αντιμετώπιση της παιδικής δερματοφυτίας τριχωτού κεφαλής, ενώ απαιτούν μικρότερη διάρκεια θεραπείας και δεν έχουν σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες<sup>8-11</sup>. Αντίθετα, η τερμπιναφίνη υπολείπεται της γκριζεοφουλβίνης όσον αφορά την αντιμετώπιση δερματοφυτίας από μύκητα του γένους *Microsporum*.

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η εκτίμηση των επιδημιολογικών και κλινικών δεδομένων των δερματοφυτιών τριχωτού κεφαλής στα παιδιά.



**Εικόνα 3.** Είδη δερματοφύτων που απομονώθηκαν στην καλλιέργεια δερματικής βλάβης



**Εικόνα 4.** Κλινική εικόνα δερματοφυτίας τριχωτού κεφαλής από *M. canis*

## Υλικό-Μεθοδολογία

Μελετήθηκαν αναδρομικά τα στοιχεία των παιδιών που αντιμετωπίστηκαν στο εξωτερικό ιατρείο της Μονάδας Παιδοδερματολογίας της Πανεπιστημιακής Κλινικής του Νοσοκομείου Παιδών «Αγία Σοφία» από το 2013 έως το 2016 λόγω δερματοφυτίας τριχωτού κεφαλής. Έγινε καταγραφή των δημογραφικών και επιδημιολογικών δεδομένων του κάθε παιδιού, καθώς επίσης και του είδους του μύκητα που βρέθηκε στην άμεση μικροσκοπήση και απομονώθηκε από την καλλιέργεια του δείγματος της βλάβης. Επίσης, καταγράφηκαν στοιχεία από τη θεραπευτική αγωγή που έλαβαν και από την έκβαση της νόσου.

## Αποτελέσματα

Συλλέχθηκαν στοιχεία από 69 παιδιά μέσης ηλικίας 5± 2,8 ετών (εύρος ηλικίας 1-16 έτη) (**Εικόνα 1, Πίνακας 1**). Το 53,6% των παιδιών ήταν κορίτσια (**Εικόνα 2, Πίνακας 1**). Η πλειονότητα των παιδιών διέμενε στην περιοχή της Αττικής (74,2%), ενώ τα υπόλοιπα παιδιά διέμεναν στην επαρχία (**Πίνακας 1**).

Από την καλλιέργεια δερματικής βλάβης απομονώθηκαν οι παρακάτω μύκητες: *M. canis* (77%), *Trichophyton tonsurans* (10%), *Trichophyton rubrum* (5%) και *Trichophyton violaceum* (3%), *Trichophyton spp.* (μη καθοριζόμενο) (3%) και *Microsporium gypseum* (2%) (**Εικόνα 3**). Το 54,8% των παιδιών που είχαν *M. canis* ήταν κορίτσια και το 83,3% ήταν ηλικίας 2-10 ετών. Όλα τα παιδιά που είχαν *T. tonsurans* είχαν επίσης ηλικία 2-10 ετών.

Όλα τα παιδιά της μελέτης παρουσίαζαν μία ή περισσότερες βλάβες στο τριχωτό της κεφαλής με απολέπιση και αλωπεκία. Σημειώνεται, επίσης, ότι στα παιδιά που απομονώθηκε ζωόφιλος μύκητας (*M. canis*) υπήρχε ποικίλου βαθμού φλεγμονή (ερύθημα) (**Εικόνα 4**). Συνολικά, το 86,9% των παιδιών έλαβε συστηματικά ιτρακοναζόλη από το στόμα, ενώ το 7,4% έλαβε τερμπιναφίνη από το στόμα. Δύο παιδιά (2,89%) ξεκίνησαν αρχικά αγωγή με τερμπιναφίνη και στην πορεία, λόγω μη βελτίωσης της κλινικής εικόνας και παραμονής της θετικής καλλιέργειας για περισσότερο από 3 μήνες, η θεραπεία άλλαξε σε ιτρακοναζόλη. Μικρό ποσοστό παιδιών (10%), όλα στην ομάδα της ιτρακοναζόλης, αντιμετωπίστηκαν και με παράλληλη τοπική αγωγή με τερμπιναφίνη ή/και κετοκοναζόλη σαμπουάν για 15 ημέρες.

Σημειώνεται ότι η κλινική και εργαστηριακή επανεκτίμηση των ασθενών γινόταν ανά τακτικά χρονικά διαστήματα (ανά 2-4 εβδομάδες) και η απόφαση για τη διακοπή της αγωγής ήταν εξατομικευμένη και ανάλογη με την αρνητικοποίηση της καλλιέργειας και την ύφεση της κλινικής εικόνας. Η μέση διάρκεια θεραπείας ήταν 8,7 εβδομάδες.

## Συζήτηση

Οι δερματοφυτίες τριχωτού κεφαλής είναι αρκετά συχνές, ιδιαίτερα στην παιδική ηλικία, και η επίπτωσή τους εξαρτάται από τη γεωγραφική περιοχή στην οποία διαμένουν οι ασθενείς<sup>1,4</sup>. Οι παράγοντες που ενοχοποιούνται για την

**Πίνακας 1.** ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ/ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΔΕΡΜΑΤΟΦΥΤΙΑ ΤΡΙΧΩΤΟΥ ΚΕΦΑΛΗΣ

<b>Ηλικία σε έτη, μέση τιμή (τυπική απόκλιση)</b>	<b>5 (2,8)</b>
	<b>Αριθμός ασθενών n (%)</b>
<b>Φύλο</b>	
Αγόρια	32 (46,4)
Κορίτσια	37 (53,6)
<b>Τόπος διαμονής</b>	
Αττική	46 (74,2)
Επαρχία	16 (25,8)

εξάπλωση των δερματοφυτιών, ιδιαίτερα των ανθρωπόφιλων, είναι η αυξημένη μετανάστευση των ανθρώπων (από χώρες της Αφρικής και της Καραϊβικής σε Ευρώπη και Αμερική αντίστοιχα), οι πτωχές συνθήκες διαβίωσης, όπως επίσης και η άνοδος της συχνότητας χρήσης αντιβιοτικών και ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων τα τελευταία χρόνια<sup>12</sup>.

Στη μελέτη μας, οι δερματοφυτίες τριχωτού κεφαλής αφορούσαν κατά κύριο λόγο παιδιά ηλικίας κάτω των 10 ετών, με πιο συχνό αίτιο το *M. canis* (77,5%), εύρημα το οποίο συμβαδίζει με τα βιβλιογραφικά δεδομένα των τελευταίων ετών για χώρες κυρίως της Μεσογείου, συμπεριλαμβανομένης και της Ελλάδας<sup>6,7,12-16</sup>. Οι περισσότεροι μύκητες που απομονώθηκαν ήταν ζωόφιλοι σε ποσοστό 77,5%, ενώ 17,5% ήταν ανθρωπόφιλοι, 2,5% γεώφιλοι και 2,5% μύκητες του γένους *Trichophyton* που δεν ταυτοποιήθηκαν σε επίπεδο είδους και ανήκουν στην κατηγορία ή των ανθρωπόφιλων ή των ζωόφιλων.

Οι δερματοφυτίες από τον *M. canis* αποδίδονται στην επαφή των παιδιών με αδέσποτα ζώα. Αντίθετα, οι ανθρωπόφιλοι μύκητες (*T. tonsurans* και *T. soudanense*) επικρατούν σε χώρες της Αφρικής, αλλά και της Βόρειας και της Κεντρικής Ευρώπης (Γαλλία, Αγγλία, Γερμανία, Ελβετία, Φινλανδία) και ιδιαίτερα στα αστικά κέντρα<sup>6,15</sup>. Οι

μελέτες των Cuétara 1997 και Hallgren 2004 αναφέρουν πως το *T. tonsurans* και το *T. violaceum* είναι τα πιο συχνά παθογόνα που απομονώθηκαν στην Ισπανία και τη Σουηδία αντίστοιχα<sup>17,18</sup>. Παρομοίως, στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής, από το 1980 και μετά, επικρατούν οι ανθρωπόφιλοι μύκητες και πιο συγκεκριμένα το *T. tonsurans* στις δερματοφυτίες τριχωτού κεφαλής<sup>6,7</sup>. Αντίθετα, το *T. tonsurans* απομονώθηκε σε χαμηλό ποσοστό στα παιδιά της μελέτης μας (10%).

Ο μύκητας *T. violaceum* (ανθρωπόφιλος) επίσης εντοπίζεται σε μικρό αριθμό ασθενών στην παρούσα μελέτη (3%), όπως επίσης σε μελέτες που έχουν γίνει στην Ευρώπη, ενώ φαίνεται να είναι το κύριο παθογόνο σε περιοχές της Ασίας (Δυτική Κίνα, Νότια Ινδία, Ιράν), της Ν. Αφρικής και της Αυστραλίας<sup>6,7</sup>.

Στη μελέτη μας παρατηρήσαμε μια μικρή υπεροχή των κοριτσιών έναντι των αγοριών (53,6% και 46,4% αντίστοιχα), ενώ σε άλλες μελέτες έχει παρατηρηθεί το αντίστροφο<sup>13,15</sup>.

Όσον αφορά στη θεραπεία, η πλειονότητα των ασθενών μας (86,9%) έλαβε επιτυχώς ιτρακοναζόλη από το στόμα. Τονίζεται ότι η απόφαση χορήγησης ιτρακοναζόλης βασίστηκε στη μη διαθεσιμότητα της γκριζοφουλβίνης στη χώρα μας και στη θετική εμπειρία μας από τη χορήγησή της. Η διάρκεια της θεραπείας καθορίστηκε από την αρνητικοποίηση της καλλιέργειας και από την ύφεση της κλινικής εικόνας.

Οι κύριοι περιορισμοί της μελέτης περιλαμβάνουν τον μικρό αριθμό ασθενών, ο οποίος εμποδίζει την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων, την αναδρομική καταγραφή των στοιχείων των ασθενών, με αποτέλεσμα την έλλειψη κάποιων στοιχείων, και την έλλειψη αντιμυκητογράμματος στις απομονώσεις της καλλιέργειας δερματικής βλάβης των ασθενών, με συνέπεια τη λήψη εμπειρικής αγωγής. Παρ' όλα αυτά, η παρούσα μελέτη προσφέρει χρήσιμα επιδημιολογικά δεδομένα για τη δερματοφυτία τριχωτού κεφαλής στα παιδιά, που προσθέτουν επιπλέον πληροφορίες στην υπάρχουσα βιβλιογραφία. ■

ABSTRACT

## Tinea capitis in children. A four-year retrospective study

**Dakoutrou M, Stathi A, Antoniadou K, Kirikou E, Zahariadou L, Kanaka-Gantenbein C, Alexopoulos A, Tsivitanidou- Kakourou T**

Tinea capitis is a relatively common infection of childhood. Aim of the present study was to evaluate epidemiological and clinical data of tinea capitis in children who were examined at the Department of Pediatric Dermatology of "Aghia Sofia" Children's Hospital during the period 2013-2016. We collect-

ed retrospectively data from 69 children mean aged  $5 \pm 2.8$  years. The most common dermatophyte detected was *Microsporum canis* (77.5%). All children were treated successfully with systemic antifungal medication. The mean duration of treatment was 8.7 weeks.

**KEY WORDS:** tinea capitis; itraconazole; *Microsporum canis*; children

REFERENCES

- Hawkins DM, Smidt AC. Superficial fungal infections in children. *Pediatr Clin North Am*. 2014, 61(2):443-455.
- Hainer BL. Dermatophyte infections. *Am Fam Physician*. 2003, 67(1):101-108.
- Ράλλης Ε, Κουμαντάκη-Μαθιουδάκη Ε. Επιπολής μυκητιακές λοιμώξεις-Δερματοφυτία τριχωτού κεφαλής. Στο: Κατσαρού-Κάτσαρη Α, Κατσάμπας Α. Παιδο-δερματολογία. 2η έκδοση. Επιστημονικές εκδόσεις Παρισιάνου 2016.
- Kelly BP. Superficial fungal infections. *Pediatr Rev*. 2012, 33(4):e22-37.
- Kamal RA, Radhika J, Chetan S, Parveen S, Ashish A. Biodiversity of dermatophytes: an overview. *Rev. Plant Pathol*. Vol. 5, 2012; 299-314.
- Havlickova B, Czaika VA, Friedrich M. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. *Mycoses*. 2008, 51 Suppl 4:2-15.
- Zhan P, Liu W. The Changing Face of Dermatophytic Infections Worldwide. *Mycopathologia*. 2017, 182(1-2):77-86.
- Kakourou T, Uksal U. Guidelines for the management of tinea capitis in children. *Pediatr Dermatol*. 2010, 27(3):226-228.
- Shemer A, Plotnik IB, Davidovici B, Grunwald MH, Magun R, Amichai B. Treatment of tinea capitis - griseofulvin versus fluconazole - a comparative study. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2013, 11(8):737-41, 737-742.
- Gupta AK, Adam P, Dlova N, Lynde CW, Hofstader S, Morar N et al. Therapeutic options for the treatment of tinea capitis caused by Trichophyton species: griseofulvin versus the new oral antifungal agents, terbinafine, itraconazole, and fluconazole. *Pediatr Dermatol*. 2001, 18(5):433-438.
- Chen X, Jiang X, Yang M, Bennett C, González U, Lin X et al. Systemic antifungal therapy for tinea capitis in children: An abridged Cochrane Review. *J Am Acad Dermatol*. 2017, 76(2):368-374.
- Seebacher C, Bouchara JP, Mignon B. Updates on the epidemiology of dermatophyte infections. *Mycopathologia*. 2008, 166(5-6):335-352.
- Koussidou-Eremondi T, Devliotou-Panagiotidou D, Mourellou-Tsatsou O, Minas A. Epidemiology of dermatomycoses in children living in Northern Greece 1996-2000. *Mycoses*. 2005, 48(1):11-16.
- Frangoulis E, Athanasopoulou B, Katsambas A. Etiology of tinea capitis in Athens, Greece -- a 6-year (1996-2001) retrospective study. *My-*

## REFERENCES

- coses. 2004, 47(5-6):208-212.
15. Ginter-Hanselmayer G, Weger W, Ilkit M, Smolle J. Epidemiology of tinea capitis in Europe: current state and changing patterns. *Mycoses*. 2007;50 Suppl 2:6-13.
  16. Maraki S, Mavromanolaki VE. Epidemiology of Dermatophytoses in Crete, Greece. *Med Mycol J*. 2016;57(4):E69-E75.
  17. Cuétara MS, Del Palacio A, Pereiro M, Noriega AR. Prevalence of undetected tinea capitis in a prospective school survey in Madrid: emergence of new causative fungi. *Br J Dermatol*. 1998, 138(4):658-660.
  18. Hällgren J, Petrini B, Wahlgren CF. Increasing tinea capitis prevalence in Stockholm reflects immigration. *Med Mycol*. 2004, 42(6):505-509.

## Θεραπεία της αμυγδαλίτιδας από τον Γαληνό με χυμό φλοιού καρυδιών

**Δ. Καραπερόπουλος**

Παιδίατρος, Διδάκτωρ Ιστορίας της Ιατρικής

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο Γαληνός για τη θεραπεία της φλεγμονής των παρίσθμιων αμυγδαλών σε ενήλικες και παιδιά χρησιμοποίησε γαργαρισμούς με χυμό από τις πράσινες φλούδες του περιβλήματος των καρυδιών. Ο χυμός αυτός διαπιστώνεται ότι έχει και αντιμικροβιακές ουσίες, όπως ενδεικτικά δείχνουν τα σχετικά αποτελέσματα σε αποικίες μικροβίων.

**ΛΕΞΕΙΣ ΕΥΡΕΤΗΡΙΟΥ: Γαληνός, αμυγδαλίτιδα, καρύδια**

Ο πολυγραφότατος Γαληνός (2ος αι. μ.Χ.), ένας από τους σημαντικούς ιατρούς μετά τον Ιπποκράτη, στο έργο του για τα φάρμακα στις τοπικές παθήσεις με τίτλο «Περί συνθέσεως φαρμάκων των κατά τόπους»<sup>1</sup> αφιερώνει το έβδομο βιβλίο του στις παθήσεις του στόματος. Παρατηρεί ότι ο ιατρός θα πρέπει να γνωρίζει τις ιδιότητες των φαρμάκων, τα οποία χρησιμοποιεί σε κάθε πάθηση, «τῆ καθόλου γνώσει τῆς δυνάμεως τῶν φαρμάκων, οἷς χρῆσθαι προσήκει καθ' ἕκαστον τῶν παθῶν» (σελ. 895), και συμπληρώνει πως δεν είναι δυνατόν να χρησιμοποιεί σωστά τα φάρμακα αν δεν γνωρίζει τις δράσεις τους, «ἀδύνατον γάρ ἐστὶ καλῶς χρῆσθαι φαρμάκῳ μὴ γινώσκοντα τὴν δύναμιν αὐτοῦ, καθ' ἣν ἐνεργοῦν ὠφελεῖ» (σελ. 897).

Επιπλέον ο Γαληνός προσθέτει ότι ο ιατρός θα πρέπει να γνωρίζει τα χαρακτηριστικά της φλεγμονής, ώστε να δώσει τα ανάλογα φάρμακα, «τίς οὖν ἢ τῶν φλεγμαινόντων ἐστὶ διάθεσις ἐγνώσθαι χρὴ πρότερον, εἰ μέλλοιμεν ἐξ αὐτῆς ἐνδειξίν τινα τῶν βοηθημάτων λήψεσθαι» (σελ. 895). Μάλιστα, αναφέρει τις αντιλήψεις της εποχής του για τη δημιουργία της φλεγμονής, η οποία γίνεται από την εισροή θερμού αίματος στο φλεγμονώδες μέρος του σώματος, «ἐξ ἐπιρρήης αἵματος θερμού

γίνεσθαι τὰς φλεγμονάς» (σελ. 896). Γι' αυτό και συνιστά όπως ο ιατρός αναστείλει αυτή την εισροή του αίματος, για να μην επεκταθεί σε κάποιο σημαντικό ὄργανο του σώματος και προκαλέσει μεγάλη βλάβη, «ὅταν ἡμῖν τὸ πᾶν σῶμα φαίνεται πληθωρικὸν ἢ κακόχρμον ὑπάρχον». Επισημαίνει ότι η αναστολή της φλεγμονής στο μέρος του σώματος θα γίνει με τα θεραπευτικά μέσα που διέθεταν τότε, «καὶ γὰρ φλεβοτομία καὶ καθάρσει καὶ κλυστήρσι καὶ ἀσιτίαις» (σελ. 896).

Στις περιπτώσεις κατά τις οποίες υπάρχει εντοπισμένη φλεγμονή και όχι γενικευμένη, τότε ο Γαληνός συνιστά να χρησιμοποιηθούν τα τοπικά φάρμακα, «διὰ τῶν τοπικῶν ἴασις» (σελ. 896). Συγκεκριμένα, στις φλεγμονές γενικότερα του στόματος θα χρησιμοποιηθούν τα λεγόμενα «στοματικὰ φάρμακα». Αυτά είναι κατάλληλα για τις φλεγμονές των αμυγδαλών, των παρίσθμιων, της σταφυλής, «καλεῖται μὲν ἰδίως στοματικὰ τὰ πρὸς σταφυλὰς παρίσθημα καὶ πάσας τὰς ἐν τῷ στόματι γινομένας ἐξαίφνης φλεγμονάς ἀρμόττοντα», (σελ. 928). Επισημαίνει ότι πολλά τέτοια τοπικά φάρμακα για τις φλεγμονές του στόματος έχουν παρασκευασθεί από γνωστότατους ιατρούς, όπως τον Ανδρόμαχο, τον Ἴηρα, τον Κρίτωνα, τον Ασκληπιάδη, τον Μενεκράτη και τον Αρχιγένη<sup>2</sup>. Μάλιστα, ο Γαληνός στη συνέχεια αναγράφει

1. Γαληνού, Ἄπαντα, *Opera Omnia*, ἐκδ. G. C. Kühn, Λειψία 1824, τόμ. XII, ανατύπωση Georg Olms Verlag, Hildesheim, Zurich, New York 1997, σελ. 895 κ. εξ.,

2. Αιμίλιος Δ. Μαυρουδής, *Αρχιγένης Φιλίππου Απομυεύς. Ο*

φει μερικές φαρμακευτικές συνθέσεις από τους σημαντικούς αυτούς ιατρούς, «ἐγὼ δε κἀνταῦθα τῶν ἐνδόξων μνημονεύσω» (σελ. 929).

Σχετικά με την ιδιαιτερότητα του βλεννογόνου της στοματικής κοιλότητας, ο Γαληνός επισημαίνει ότι έχει διαφορετική υφή από εκείνη του δέρματος, «ἀραιότεραν εἶναι καὶ μαλακωτέραν τὴν ἐπιφάνειαν τοῦ κατὰ τὸ στόμα χιτῶνος» (σελ. 898). Γι' αυτό και συνιστά να μην είναι τα φάρμακα που θα χρησιμοποιηθούν στις παθήσεις του στόματος ερεθιστικά του βλεννογόνου. Επιπλέον, προσθέτει ότι ο ασθενής αισθάνεται στο στόμα τη γεύση των φαρμάκων, ενώ δεν υπάρχει η κατάσταση αυτή στα φάρμακα του δέρματος, «τῆς τε γὰρ ἀηδίας τῶν προσαγομένων αισθάνεται φαρμάκων». Γι' αυτό και πρέπει ο ιατρός να προσέξει και τη γεύση των φαρμάκων που θα χορηγήσει, ώστε να είναι εύληπτα. Ακόμη τονίζει ότι η στοματική κοιλότητα στη συνέχεια έχει «δύο πόρους», που οδηγούν ο ένας στο στομάχο και ο άλλος στον πνεύμονα, με αποτέλεσμα να υπάρχει κίνδυνος τα φάρμακα αυτά, που χορηγούνται για την τοπική θεραπεία, να εισρεύσουν στο στομάχο ή τον πνεύμονα, «καταρρύηται τι δύναται τῶν στοματικῶν φαρμάκων» (σελ. 898).

Επιπλέον, ο Γαληνός μνημονεύει τα σχετικά φάρμακα για τις παθήσεις του στόματος, όπως το «διὰ τοῦ χυλοῦ τῶν συκαμίνων φάρμακον»<sup>3</sup> μετά μέλιτος (σελ. 900), στο οποίο παρασκευάσαμε έβαζαν κρόκο, σμύρνα<sup>4</sup> ή χυλό όμφακος, ρου κ.ά. Συμπληρώνει αναγράφοντας και το φάρμακο για τις παθήσεις του στόματος, το οποίο παρασκευάσε από το χυλό από τους φλοιούς των χλωρών καρῶν, «οὕτως οὖν κἀγὼ τὸ διὰ τοῦ χυλοῦ τῶν χλωρῶν

βίος και τα έργα ενός Έλληνα ιατροῦ στην αυτοκρατορική Ρώμη, Ακαδημία Αθηνών, Κέντρο Εκδόσεως Έργων Ελλήνων Συγγραφέων, Αθήνα, 2000.

3. Ο Διοσκουρίδης, *Περὶ ὕλης ἰατρικῆς*, I, 126, σημειώνει ότι ο χυλός του καρπού «μιγέντος δὲ αὐτῷ ὀλίγου μέλιτος ποιεῖ πρὸς ρέυματα καὶ νομάς καὶ παρίσθημα φλεγμαίνοντα». Μάλιστα προστίθεται ότι «ἐπιτείνεται δε καὶ ἡ δύναμις αὐτοῦ παραμυγείσης στυπτηρίας σχιστῆς καὶ κηκίδος καὶ κυπέρου καὶ σμύρνης καὶ κρόκου, ἔτι δὲ καὶ μυρικής καρποῦ καὶ ἴριδος καὶ λιβανθοῦ». Pedanii Dioscuridis Anazarbei, *De materia medica libri quinque*, έκδ. Max Wellmann, ed. 3, Weidemann, Hildesheim, 1999, τόμ. 1, σελ. 115.

4. Για τις ιδιότητες του κρόκου και της σμύρνας ο Γαληνός γράφει στο «Περὶ τῆς τῶν ἁπλῶν φαρμάκων κράσεως καὶ δυνάμεως Βιβλίον Η'», έκδ. G.C. Kühn, *ὁ.π.*, τόμ. 12, σελ. 48 και 127. Βλ. επίσης Διοσκουρίδου, *Περὶ ὕλης ἰατρικῆς*, *ὁ.π.*, I, 26 και 64 αντίστοιχα.

καρῶν ἐσκεύασα φάρμακον» (σελ. 904). Προσθέτουμε ότι ο Γαληνός και στο έργο του «Περὶ τῆς τῶν ἁπλῶν φαρμάκων κράσεως και δυνάμεως Βιβλίον Η'»<sup>5</sup> μνημονεύει τη δική του αυτή θεραπευτική αγωγή με το χυμό από φλούδες καρυδιών στο «Περὶ καρῶν», «ἡμεῖς δὲ καὶ ἐκθλίβοντες αὐτὰ και τὸν χυλὸν ὁμοίως τῷ τῶν μόρων τε καὶ βάτων ἔμνοντες σὺν μέλιτι στοματικῶ χρώμεθα φαρμάκῳ, καὶ πρὸς τἄλλα πάντα, πρὸς ἅπερ ἀρμόττουσιν οἱ προειρημένοι χυλοί».

Στη συνέχεια, περιγράφει την περίπτωση κατά την οποία σκέφθηκε για πρώτη φορά να χρησιμοποιήσει το χυλό των φλοιῶν καρυδιού για τη θεραπεία των φλεγμονῶν του στόματος. Συγκεκριμένα αναφέρει ότι όταν την πρώτη φορά επέστρεψε από την Αλεξάνδρεια στην πατρίδα του, την Πέργαμο, «ἐγὼ δ' ὅτε πρῶτον ἐκ τῆς Ἀλεξανδρείας ἐπανῆλθον εἰς τὴν πατρίδα», καθώς πήγαινε σε έναν αγρό συνάντησε έναν κηπουρό με έντονη φλεγμονή του λαιμού, «ὑπὸ τε σταφυλῆς καὶ παρισθμίων καὶ ἀντιάδων πνιγόμενον» (σελ. 905), ο οποίος χρησιμοποιούσε ένα φάρμακο για στοματικές πλύσεις, «διακλύσματο μελικράτων<sup>6</sup>, ρόδων ἐνενημένων ἐν αὐτῷ», χωρίς όμως θεραπευτικό αποτέλεσμα.

Ο Γαληνός τότε σκέφθηκε να χρησιμοποιήσει το χυμό από τους φλοιούς των καρυδιών ως φάρμακο για πλύσεις σε αυτές τις φλεγμονές της στοματικής κοιλότητας. Μάλιστα, τονίζει ότι τη χρήση αυτή δεν την είδε σε κάποιον από τους δασκάλους του, ούτε γραμμένο σε κάποιο ιατρικό σύγγραμμα, «οὔτε ἰδὼν τινα τῶν διδασκάλων οὔτε γεγραμμένον εὔρον» (σελ. 904). Το σκεπτικό του Γαληνού ήταν ότι αφού οι ουσίες του χυλού των φλοιῶν των καρυδιῶν, όταν τις χρησιμοποιούν, διαπερνούν το δέρμα και εισέρχονται βαθιά στα χέρια και το βάψιμό τους δεν εξαλείφεται εύκολα, «ὅπως αἱ χεῖρες βάπτονται τῶν λεπιζόντων τὰ κάρνα τὰ χλωρά», τότε η λεπτόρρευση αυτή ουσία θα εισχωρήσει στη φλεγμονή των αμυγδαλῶν και θα θεραπεύσει τον ασθενή. Σημειώνει ότι το χυμό αυτόν, αφού πρώτα τον ανέμιξε με ἴδια ποσότητα μέλιτος για να έχει ευχάριστη γεύση και τον συμπύκνωσε θερμαινόμενο «μέχρι συστάσεως μελιτώδους», τον έδωσε στον ασθενή να κάνει γαργαρισμούς (σελ. 906), με αποτέλεσμα, όπως σημειώνει, γρήγορα ο κηπουρός να θεραπευθεῖ από

5. *Ὁ.π.*, G.C. Kühn, τόμ. 12, σελ. 13-14.

6. Διάκλυσμα = υγρό για πλύσεις στόματος, μελικράτον = μέλι με νερό.

τη φλεγμονή. Και ο Γαληνός συμπληρώνει ότι στη συνέχεια δοκίμασε το φάρμακο αυτό σε πολλούς ασθενείς, ακόμη και σε παιδιά, «*θεασάμενος δὲ ταχίστην τὴν ὠφέλειαν ἀκολουθοῦσαν αὐτῷ (τον κηπουρό), βέλτιον ἡγήσάμην ἐπὶ πολλῶν πειραθῆναι*» (σελ. 906), και «*παιδίοις τε χρήσιμον*» (σελ. 907). Μάλιστα παρατηρεῖ ότι το φάρμακό του αυτό για τις φλεγμονές της στοματικής κοιλότητας είναι πιο αποτελεσματικό από εκείνα με το χυλό μούρων ή βατόμουρων (σελ. 908).

Διαβάζοντας το κεφάλαιο αυτό στο σχετικό ἔργο των «*Απάντων*» του Γαληνού και την ακολουθούμενη θεραπευτική αγωγή του, σκεφθήκαμε να διαπιστώσουμε σε αποικίες μικροβίων την επίδραση του χυμού των φλοιῶν των καρυδιῶν, που εἶχε συλλεχθεῖ μετά τη σχετική επεξεργασία τους σε φαρμακευτικό ἰγδίο. Σε συνεργασία με τον ἰατρό μικροβιολόγο Βασ. Παπανδρέου (Φειδιππίδου 53, Αθήνα), ενδεικτικά σε δέκα τρυβλία, όπου εἶχαν αναπτυχθεῖ αποικίες χρυσίζοντος σταφυλοκοκόκκου (4) και αποικίες κολοβακτηριδίου (6), ενσταλάχθηκε σταγόνα από το χυμό φλοιῶν καρυδιῶν, που εἶχε PH αλκαλικό, ενώ σε ἄλλη θέση για σύγκριση

τέθηκε σταγόνα φυσιολογικού ορού και σε ἄλλη δίσκος του Amoxicillin+Clavulanic acid. Παρατηρήθηκε καταστροφή των μικροβίων τόσο στην περιοχή εκείνη του Amoxicillin+Clavulanic acid όσο και στην περιοχή του εξεταζόμενου υγρού εκ των φλοιῶν καρυδιῶν, ενώ στην περιοχή του φυσιολογικού ορού ουδεμία υπήρξε μεταβολή.

**Συμπερασματικά**, επισημαίνεται ότι ο Γαληνός για τη θεραπεία της φλεγμονής των παρίσθμιων αμυγδαλῶν σε ενήλικες και παιδιά χρησιμοποίησε γαργαρισμούς με χυμό από τις πράσινες φλούδες του περιβλήματος των καρυδιῶν. Ο χυμός αυτός διαπιστώνεται ότι ἔχει και αντιμικροβιακές ουσίες<sup>7</sup>, όπως ενδεικτικά δείχνουν τα σχετικά αποτελέσματα σε αποικίες μικροβίων, γι' αυτό και εἶχε τα θεραπευτικά αποτελέσματα κατά τη χρησιμοποίησή του από τον Γαληνό. ■

7. Τις αντιμικροβιακές ιδιότητες του χυμού των φλοιῶν των καρυδιῶν επιβεβαίωσε σε προσωπική επικοινωνία ο Ομ. Καθηγητής της Φαρμακογνωσίας του Πανεπιστημίου Αθηνῶν Σκεύος Φιλιάνος (11-5-2006).

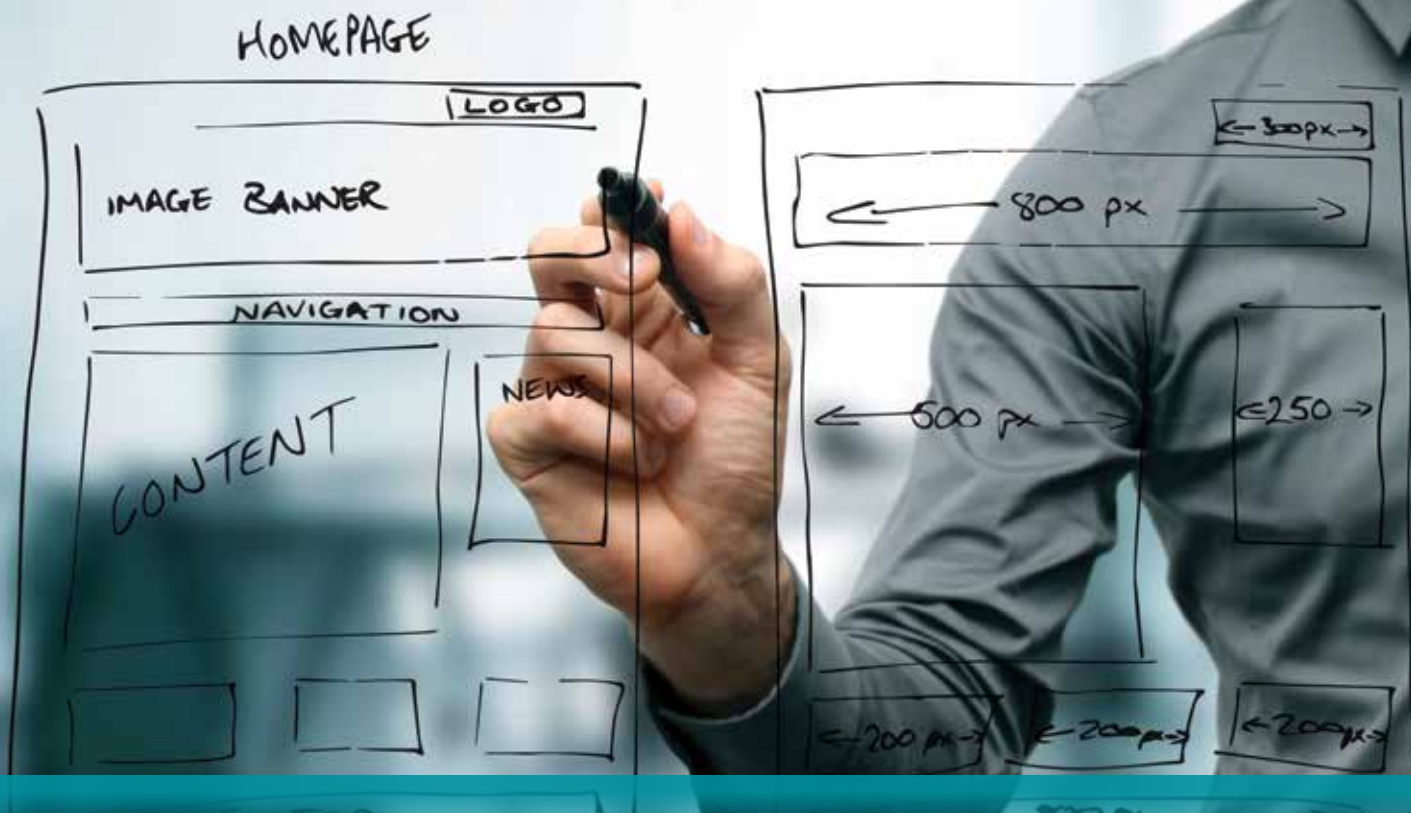
ABSTRACT

### Treatment of tonsillitis by Galen using the juice of nut peels

Karamperopoulos D

For the treatment of tonsillitis and sore throat in adults and children, Galen used with good results the juice of nut's peels, which has got antiseptic properties

**KEY WORDS:** Galen; tonsillitis; nut



# ZITA MEDICAL MANAGEMENT

*Έχουμε τη τεχνογνωσία και την εξειδίκευση στον χώρο της Υγείας...  
Το αξιοποιούμε για να κάνουμε τους στόχους σας πραγματικότητα!*

**Η ZITA Medical Management** είναι εταιρεία που ανήκει στην **ZITA Group** και δραστηριοποιείται στο χώρο της παροχής εξειδικευμένων υπηρεσιών management και marketing, σε επιστημονικές εταιρείες, ομίλους και επαγγελματίες, κυρίως από τον χώρο της υγείας. Ηλεκτρονική επικοινωνία, digital marketing, έντυπες και ηλεκτρονικές εκδόσεις και χορηγίες, είναι μερικές από τις βασικές υπηρεσίες, που τα έμπειρα στελέχη μας και η εμπειρία των 36 χρόνων εγγυώνται την **αποτελεσματικότητα στην ελληνική και διεθνή αγορά.**

- Σχεδιασμός, ανάπτυξη, διαχείριση ιστοσελίδων
- Αναβάθμιση & Hosting του ήδη υπάρχοντος Website
- Δημιουργία η αναβάθμιση των ήδη υπαρχόντων Social Media
- Έντυπες & Ηλεκτρονικές Εκδόσεις
- Ειδικά τροποποιημένο λογισμικό για τη δημιουργία επιστημονικού ηλεκτρονικού περιοδικού
- Καθορισμός στρατηγικής Online Προώθησης (Digital Strategy)
- Προσδιορισμός στόχου (targeting)
- Διαχείριση λογαριασμών και δράσεων προβολής



*Επικοινωνήστε μαζί μας για ένα ενημερωτικό ραντεβού... θα σας κοστίζει τίποτα*

[www.zita-group.com/zita-medical-management/](http://www.zita-group.com/zita-medical-management/)

Γεράσιμος Κουλουμπής

Ομήρου 29, Πέτα Σαρωνικού, 190 01, Τηλ: +30 22994 40962,

E-mail: [g.kouloumpis@zita-management.com](mailto:g.kouloumpis@zita-management.com)