



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**«ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΥΞΗΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΚΑΙ
ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΙΚΡΙΩΜΑΤΩΝ ΣΤΟ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟ
ΤΗΣ ΑΡΙΣΤΕΡΗΣ ΚΟΙΛΙΑΣ ΜΕΤΑ ΤΟ ΟΞΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑ.
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ»**

**ΑΓΑΠΗ Δ. ΒΙΛΑΕΤΗ
ΙΑΤΡΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2015



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**«ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΥΞΗΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΚΑΙ
ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΙΚΡΙΩΜΑΤΩΝ ΣΤΟ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟ
ΤΗΣ ΑΡΙΣΤΕΡΗΣ ΚΟΙΛΙΑΣ ΜΕΤΑ ΤΟ ΟΞΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑ.
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ»**

**ΑΓΑΠΗ Δ. ΒΙΛΑΕΤΗ
ΙΑΤΡΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2015

«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)»

Ημερομηνία αίτησης της κ. Βιλαέτη Αγάπης: 9-6-2009

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 664^α/23-6-2009

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Κωλέττης Θεόφιλος Αναπληρωτής Καθηγητής Καρδιολογίας του Τμήματος Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Μαλάμου –Μήτση Βασιλική Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας του Τμήματος Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Αγαθόπουλος Συμεών Επίκουρος Καθηγητής του Τμήματος επιστήμης και Τεχνολογίας Υλικών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 8-7-2009

«Επίδραση των αυξητικών παραγόντων και βιολογικών ικριωμάτων στο μυοκάρδιο της αριστερής κοιλίας μετά το οξύ έμφραγμα» Πειραματική μελέτη»

ΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ 775^α/17-3-2015

Καρακασίδης Μιχάλης	Καθηγητής Κεραμικών, Σύνθετων και Πορωδών Υλικών του Τμήματος Μηχανικών Επιστήμης Υλικών του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Κωλέττης Θεόφιλος	Καθηγητής Καρδιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Κωνσταντή Μαρία	Καθηγήτρια Φαρμακολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Μαλάμου –Μήτση Βασιλική	τ. Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Φώτσης Θεόδωρος	Καθηγητής Βιολογικής Χημείας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Αγαθόπουλος Συμεών	Αναπληρωτής Καθηγητής Τεχνολογίας Κεραμικών Υλικών του Τμήματος Μηχανικών Επιστήμης Υλικών του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Κούκλης Παναγιώτης	Επίκουρος Καθηγητής Βιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 20-3-2015

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Μηνάς Πασχόπουλος

Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας

Η Γραμματέας του Τμήματος



MARIA ΚΑΠΙΤΟΠΟΥΛΟΥ

...μέχρι να αναγνωρίσουμε ένα μεγαλείο στους χτύπους της καρδιάς

W.Wordsworth

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η μαγική καρδιά, που πάλλεται με τους ρυθμικούς της χτύπους, υπήρξε από το ξημέρωμα της πολιτισμικής μας ιστορίας το μεγάλο αίνιγμα και μυστήριο της ανθρώπινης ζωής. Η Αριστοτελική θεωρία ήθελε την καρδιά να εκτελεί και τις ανώτερες νοητικές λειτουργίες, τις οποίες ο Ιπποκράτης και οι μαθητές του αργότερα απέδωσαν ορθότερα στη λειτουργία του εγκεφάλου. Επιπλέον, ο καρδιακός παλμός συνιστά το ρυθμικό πρότυπο και το υπόστρωμα πάνω στο οποίο ξετυλίγεται η μελωδική ιστορία της ζωής. Από το έμβρυο που ακούει τους χτύπους της καρδιάς της μητέρας του μέχρι τον ηλικιωμένο κύριο με την τελικού σταδίου καρδιακή ανεπάρκεια, η καρδιά είναι ο «μαέστρος» στην ορχήστρα της ζωής.

Η Καρδιολογία, λοιπόν, η επιστήμη της Ιατρικής που μελετά την καρδιά σε κάθε της λεπτομέρεια δεν μπορεί παρά να είναι μια συναρπαστική και αινιγματική ειδικότητα, που αφήνει το νου να δημιουργήσει και την καρδιά να την αγαπήσει. Όπως και σε κάθε τομέα της ιατρικής επιστήμης, έτσι και στον τομέα της Καρδιολογίας, οι εξελίξεις είναι ραγδαίες και η πρόοδος της έρευνας εξελίσσεται ολοένα και περισσότερο. Έτσι και τα βήματα προς την κατεύθυνση αυτή συνεχίζονται με αμείωτο ρυθμό. Η κλινική έρευνα δεν μπορεί να υπάρξει πριν το πρώτο βήμα, τη βασική έρευνα. Η αρχή γίνεται από μια ιδέα, μια σκέψη. Η ιδέα αποτελεί το στόχο. Η υλοποίηση αυτής της σκέψης, αποτελεί το πείραμα. Πριν την υλοποίηση, όμως, χρειάζεται προσεκτικός σχεδιασμός, μελέτη, οργάνωση και συνεχής ενημέρωση. Και ακολουθεί η δράση, η εφαρμογή του σχεδίου, το πείραμα. Μαζί με αυτό έρχεται και η αγωνία για την επιτυχία. Ο φόβος, ή και κάποιες στιγμές η απογοήτευση, διαρκούν λίγο, αρκεί να ζεις την κάθε στιγμή και να μαθαίνεις από όλα. «Κάθε πείραμα δεν είναι πάντα επιτυχημένο, αλλά έχει πάντα συμπέρασμα» μου είπε μια εξαιρετική συνεργάτιδα και φίλη, την πρώτη μου «κακή» μέρα στο εργαστήριο. Και είχε δίκιο. Μην παίρνεις ποτέ τα μάτια σου από το στόχο. Για να φτάσεις εκεί θα χρειαστεί κόπος και υπομονή. Ο Thomas Edison είχε πει «Δεν απέτυχα ποτέ, απλά ανακάλυψα 1000 τρόπους που δεν ανάβουν μια λάμπα». Αυτό ακριβώς είναι το συναρπαστικό της βασικής πειραματικής έρευνας.

Στο σημείο αυτό θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου και την ευγνωμοσύνη μου τον άνθρωπο που μου έδειξε αυτό το συναρπαστικό κόσμο δημιουργίας και σκέψης, τον Καθηγητή Καρδιολογίας κ. Θεόφιλο Μ. Κωλέττη. Υπήρξε δάσκαλος, εκπαιδευτής, καθοδηγητής και πάντα σταθερό στήριγμα σε κάθε βήμα μου στην πορεία αυτών των ετών για την εκπόνηση της διατριβής μου. Θα ήθελα να εκφράσω επίσης τις θερμές μου ευχαριστίες στον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Συμεών Αγαθόπουλο του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Υλικών, ο οποίος με μύησε στον κόσμο των βιοϋλικών, των ιδιοτήτων και των πολλαπλών εφαρμογών τους, με υπομονή και σημασία στη λεπτομέρεια. Την Καθηγήτρια κ. Βασιλική Μαλάμου-Μήτση για τις πολύτιμες γνώσεις που μου μετέδωσε και την συνολική καθοδήγησή της, από τα φοιτητικά χρόνια ακόμη, στη κατανόηση του δύσκολου τομέα της παθολογοανατομίας, των κυττάρων και των ιδιοτήτων τους.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στον κ. Απόστολο Παπαλόη, Διευθυντή του Ερευνητικού Πειραματικού Κέντρου της ELPEN, για τις πολύτιμες συμβουλές του, την υπομονή και κατανόησή του στα δύσκολα και πολύωρα προγράμματα πειραμάτων και την αποδοτική αντιμετώπιση των δυσκολιών που ανέκυπταν. Και σε όλο το εξαιρετικό προσωπικό του

πειραματικού κέντρου, που ήταν δίπλα μου σε κάθε βήμα, σε κάθε ευκολία και δυσκολία με υπομονή και επιμονή, φαντασία και αποδοτικότητα, σοβαρότητα και χαμόγελο. Πολλές θερμές ευχαριστίες στην φαρμακευτική εταιρεία ELPEN για την πολύτιμη στήριξη της κατά την διάρκεια της εκτέλεσης του πειραματικού αυτού έργου.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες στον Καθηγητή Φαρμακολογίας της Ιατρικής Σχολής Αθηνών, κ. Κωνσταντίνο Πάντο, για τη συνεργασία και την πολύτιμη βοήθειά του στον τομέα της υπερηχογραφικής απεικόνισης, στο πειραματικό εργαστήριο Φαρμακολογίας της Ιατρικής Σχολής Αθηνών.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω ξεχωριστά τους συνεργάτες και συναδέλφους που στάθηκαν δίπλα μου σε όλη την πορεία του εγχειρήματος αυτού, με ανταλλαγή γνώσεων, εμπειριών και ιδεών. Τους ερευνητές του Τμήματος Επιστήμης και Τεχνολογίας Υλικών, Κωνσταντίνο Δήμο και Ελεονώρα Μπάρκα, που ήταν οι δημιουργοί των ικριωμάτων και πολύτιμοι συνοδοιπόροι στην εφαρμογή τους στην καρδιά. Την εξαιρετική ερευνητική ομάδα του κ. Πάντου, Ιορδάνη Μουρούζη και Πολυξένη Ματζουράτου, που αφιέρωσαν πολλές ώρες για τη διενέργεια των υπερηχογραφημάτων στους επίμυες, με αφοσίωση και επιμονή. Ένα μεγάλο ευχαριστώ για την άψογη, συνεχή, ακούραστη και πολύωρη συνεργασία μας, τόσο στα Ιωάννινα, όσο και στην Αθήνα. Τον συνάδελφο Δημήτρη Οικονομίδη, που υπήρξε πολύτιμος εκπαιδευτής στο πειραματικό εργαστήριο και τη βιολόγο Ναταλία Τσίτου για την αξιολογή συνεργασία μας στη διενέργεια των ιστολογικών αναλύσεων και της επεξεργασίας τους.

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στον Καθηγητή W. Matthijs Blankesteijn, από το τμήμα Φαρμακολογίας, Πανεπιστήμιο του Maastricht, Ολλανδία και τον εκεί συνεργάτη εκείνη την χρονική περίοδο, Δρ. Ευάγγελο Δασκαλόπουλο για την πολύτιμη βοήθεια τους στον τομέα της κυτταρικής ανάλυσης των πειραμάτων, στο δεύτερο μέρος της διατριβής.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου, τον αδελφό μου και το Θανάση για τη στήριξη, τη βοήθεια και την υπομονή τους στη διάρκεια αυτών των ετών.

Αγάπη Δ. Βιλαέτη

Ιωάννινα 2015

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	XI
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	XIII
ΛΙΣΤΑ ΕΙΚΟΝΩΝ	XVII
ΛΙΣΤΑ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	XIX
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	5
2.1 ΟΞΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ	9
2.1.1 ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΕΣ ΚΑΙ ΙΣΤΙΚΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΙΣΧΑΙΜΙΑ	10
2.1.2 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΠΟΥΛΩΣΗΣ ΕΜΦΡΑΓΜΑΤΟΣ	11
2.2 ΑΝΑΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΑΡΙΣΤΕΡΗΣ ΚΟΙΛΙΑΣ	12
2.2.1 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΙ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΥΠΕΡΤΡΟΦΙΑ	14
2.2.1.1 Επαγωγή φυσιολογικής υπερτροφίας για την πρόληψη της κοιλιακής αναδιαμόρφωσης	15
2.2.2 ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗ.....	15
2.3 ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ	16
2.4 ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗΣ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΜΕΤΑ ΤΟ ΕΜΦΡΑΓΜΑ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ. ΠΑΡΟΝ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝ	17
2.5 ΙΚΡΙΩΜΑΤΑ ΒΙΟΪΛΙΚΩΝ	22
2.5.1 ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΙΚΡΙΩΜΑΤΩΝ – ΙΣΤΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ.....	23
2.5.1.1 Βασικά χαρακτηριστικά σχεδιασμού βιοϋλικού για χρήση στο μυοκάρδιο....	26
2.5.1.2 Βασικές μορφές παρασκευής ικριωμάτων βιοϋλικών.....	27
2.5.2 Η ΘΕΣΗ ΤΩΝ ΒΙΟΪΛΙΚΩΝ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΤΟΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ.....	28
2.5.3 ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΟΥ ΑΞΙΟΛΟΓΗΘΗΚΑΝ ΣΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΜΕΛΕΤΗ	29

2.5.4 ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΙΚΡΙΩΜΑΤΑ ΚΑΙ ΑΝΑΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΤΗΣ ΑΡΙΣΤΕΡΗΣ ΚΟΙΛΙΑΣ	29
2.5.5 ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ ΙΚΡΙΩΜΑΤΑ & ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΠΛΑΣΤΙΚΗ.....	31
2.5.6 ΙΚΡΙΩΜΑΤΑ ΠΟΛΥΑΙΘΥΛΕΝΟΓΛΥΚΟΛΗΣ ΚΑΙ ΣΕΒΑΚΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ (PEGSDA)	33
2.5.7 ΙΚΡΙΩΜΑΤΑ ΑΛΓΙΝΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ (ALGINATE)	35
2.6 ΑΥΞΗΤΙΚΗ ΟΡΜΟΝΗ	38
2.6.1 ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΗΣ ΑΥΞΗΤΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ	38
2.6.2 ΑΥΞΗΤΙΚΗ ΟΡΜΟΝΗ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ	39
2.6.3 ΑΥΞΗΤΙΚΗ ΟΡΜΟΝΗ ΚΑΙ ΕΜΦΡΑΓΜΑ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ	43
2.6.4 ΑΥΞΗΤΙΚΗ ΟΡΜΟΝΗ ΚΑΙ ΑΝΑΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΑΡΙΣΤΕΡΗΣ ΚΟΙΛΙΑΣ.....	46
2.7 ΚΥΡΙΑ ΥΠΟΘΕΣΗ ΚΑΙ ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ.....	48
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	53
 3.1 ΣΥΝΘΕΣΗ & ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΥΛΙΚΩΝ ΤΩΝ ΙΚΡΙΩΜΑΤΩΝ	56
3.1.1 ΥΔΡΟΠΗΚΤΩΜΑ ΠΟΛΥΑΙΘΥΛΕΝΟΓΛΥΚΟΛΗΣ/ΣΕΒΑΚΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ	56
3.1.1.1 Σύνθεση υδροπηκτώματος (hydrogel) PEGSDA.....	56
3.1.1.2 Κατασκευή σύνθετου ικριώματος PEGSDA hydrogel σε γάζα οξικής κυτταρίνης (G-PEG).....	59
3.1.1.3 Μελέτη δυναμικού ιξώδους PEGSDA Hydrogel.....	60
3.1.2 ΥΔΡΟΠΗΚΤΩΜΑ ΑΛΓΙΝΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ	61
3.1.2.1 Σύνθεση αλγινικού υδροπηκτώματος	61
3.1.2.2 Κατασκευή σύνθετου ικριώματος από αλγινικό υδροπήκτωμα και γάζα οξικής κυτταρίνης.....	63
3.1.2.3 Μελέτη ιξωδοελαστικών ιδιοτήτων.....	64
3.1.2.4 Δομικός χαρακτηρισμός με φασματοσκοπία υπερύθρου (FT IR).....	65
3.1.2.5 Μορφολογικός χαρακτηρισμός	68
3.1.2.6 In vitro έλεγχος βιοαποικοδόμησης (Φωτομετρία UV Vis)	70
3.1.2.7 Απελευθέρωση αυξητικής ορμόνης από το υδροπήκτωμα του αλγινικού οξέος	72
3.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ.....	73
3.3 ΠΡΟΚΛΗΣΗ ΕΜΦΡΑΓΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ.....	74
3.4 ΠΡΩΤΟ ΜΕΡΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ: ΕΜΦΥΤΕΥΣΗ ΙΚΡΙΩΜΑΤΩΝ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟ ΥΔΡΟΠΗΚΤΩΜΑ ΠΟΛΥΑΙΘΥΛΕΝΟΓΛΥΚΟΛΗΣ	76
3.4.1 ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	76
3.4.1.1 Εμφύτευση του ικριώματος βιολογικών υλικών.....	76
3.4.1.2 Εκτίμηση της πλήρωσης της αριστερής κοιλίας.....	78
3.4.1.3 Θνητότητα	78
3.4.1.4 Υπερηχοκαρδιογραφική ανάλυση	79
3.4.1.5 Ιστολογική εκτίμηση	80
3.4.1.6 Στατιστική Ανάλυση.....	81
3.4.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	81
3.4.2.1 Θνητότητα	82
3.4.2.2 Εκτίμηση διαστολικής πλήρωσης	83
3.4.2.3 Βακτηριακή λοίμωξη	83
3.4.2.4 Σταθερότητα και αποδόμηση του βιοϋλικού.....	83
3.4.2.5 Φλεγμονώδης αντίδραση ξένου σώματος.....	84
3.4.2.6 Υπερηχοκαρδιογραφική ανάλυση	86

3.4.3 ΣΥΖΗΤΗΣΗ	88
3.5 ΔΕΥΤΕΡΟ ΜΕΡΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ: ΕΜΦΥΤΕΥΣΗ ΙΚΡΙΩΜΑΤΩΝ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟ ΥΔΡΟΠΗΚΤΩΜΑ ΑΛΓΙΝΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ	91
3.5.1 ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	91
3.5.1.1 Εμφύτευση ικριώματος βιολογικών υλικών	92
3.5.1.2 Υπερηχοκαρδιογραφική ανάλυση	93
3.5.1.3 Ανοσοϊστοχημική ανάλυση.....	94
3.5.1.4 Στατιστική ανάλυση.....	95
3.5.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	95
3.5.2.1 Απουσία συστηματικών επιδράσεων τοπικής χορήγησης αυξητικής ορμόνης	96
3.5.2.2 Ηχωκαρδιογραφικά ευρήματα αναδιαμόρφωσης και λειτουργίας της αριστερής κοιλίας.....	96
3.5.2.3 Ιστολογικές μετρήσεις αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας	99
3.5.2.4 Φλεγμονώδης αντίδραση ξένου σώματος.....	100
3.5.2.5 Αγγειογένεση	100
3.5.2.6 Μυοϊνοβλαστική αντίδραση.....	101
3.5.3 ΣΥΖΗΤΗΣΗ	102
3.6 ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	106
3.6.1 ΠΡΩΤΟ ΜΕΡΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	106
3.6.2 ΔΕΥΤΕΡΟ ΜΕΡΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	106
3.7 ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ	107
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	 109
 ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	 117
 “THE EFFECT OF GROWTH FACTORS AND BIOMATERIALS ON THE LEFT VENTRICLE AFTER MYOCARDIAL INFARCTION. AN EXPERIMENTAL STUDY.” AGAPI D. VILAETI ABSTRACT	 121
 ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι: ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ	 123
 ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	 127

ΛΙΣΤΑ ΕΙΚΟΝΩΝ

ΕΙΚΟΝΑ 1. ΟΙ 10 ΚΥΡΙΕΣ ΑΙΤΙΕΣ ΘΑΝΑΤΟΥ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΤΟΥ ΠΑΓΚΟΣΜΙΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ ΥΓΕΙΑΣ (WHO) (HTTP://WWW.WHO.INT/MEDIACENTRE/FACTSHEETS/FS310/EN/)	7
ΕΙΚΟΝΑ 2. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΚΥΡΙΩΝ ΑΙΤΙΩΝ ΘΑΝΑΤΟΥ 2000-2012 ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΤΟΥ ΠΑΓΚΟΣΜΙΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ ΥΓΕΙΑΣ (WHO) (HTTP://WWW.WHO.INT/MEDIACENTRE/FACTSHEETS/FS310/EN/)	8
ΕΙΚΟΝΑ 3. ΜΕΤΑΜΟΣΧΕΥΣΗ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΜΥΕΛΟΥ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ ΣΕ ΕΜΦΡΑΓΜΑΤΙΚΟ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟ (52)	21
ΕΙΚΟΝΑ 4. Η ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΒΙΟΪΛΙΚΩΝ ΣΤΗΝ ΙΣΤΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ	25
ΕΙΚΟΝΑ 5. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΒΙΟΪΛΙΚΩΝ ΣΤΟ ΕΜΦΡΑΓΜΑ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ (73)	28
ΕΙΚΟΝΑ 6. ΧΗΜΙΚΕΣ ΔΟΜΕΣ ΠΟΛΥΑΙΘΥΛΕΝΟΓΛΥΚΟΛΗΣ (PEG) - ΧΗΜΙΚΗ ΕΝΩΣΗ ΜΕ ΕΠΑΝΑΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΕΣ ΜΟΝΑΔΕΣ ΑΙΘΥΛΕΝΟΓΛΥΚΟΛΗΣ. Α) ΔΙΑΚΡΥΑΙΚΗ ΠΟΛΥΑΙΘΥΛΕΝΟΓΛΥΚΟΛΗ (PEGDA). Β) PEGDA ΜΕ ΣΕΒΑΚΙΚΟ ΟΞΥ (PEGSDA). Γ) ΑΚΡΥΛΙΚΟ PEG-RGDS. (87)	34
ΕΙΚΟΝΑ 7. ΑΝΩ ΜΕΡΟΣ: "EGG BOXES". ΚΑΤΩ ΜΕΡΟΣ: ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ ALGINATE. ΠΗΓΗ: NATIONAL YANG MING UNIVERSITY-ΤΑΙΠΕΙ PROJECT (HTTP://2013.IGEM.ORG/TEAM:NYMU-ΤΑΙΠΕΙ/PROJECT/ENTER)	36
ΕΙΚΟΝΑ 8. ΖΕΛΑΤΙΝΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ G BLOCK ΤΟΥ ΑΛΓΙΝΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΙΟΝΤΩΝ Ca^{2+} . ΜΟΝΤΕΛΟ "EGG BOX". (90)	36
ΕΙΚΟΝΑ 9. Η ΔΟΜΗ ΤΗΣ ΑΥΞΗΤΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ (92)	38
ΕΙΚΟΝΑ 10. ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΟΜΕΣ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ ΕΠΙΜΥΟΣ. Α. ΚΙ-67 ΘΕΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ: ΜΥΟΚΑΡΔΙΑΚΟ (ΒΕΛΟΣ), ΜΗ ΜΥΟΚΑΡΔΙΑΚΟ (ΚΕΦΑΛΗ ΒΕΛΟΥΣ). Β. ΘΕΤΙΚΑ CASPASE-3 ΚΥΤΤΑΡΑ: ΜΗ ΜΥΟΚΑΡΔΙΑΚΑ (ΒΕΛΟΣ). Γ. + D. ΣΥΝΕΧΟΜΕΝΕΣ ΤΟΜΕΣ. ΤΡΙΑ ΚΥΤΤΑΡΑ C-KIT ΘΕΤΙΚΑ (ΒΛΕΝ ΕΙΚΟΝΑΣ C) ΚΑΙ ΕΝΑ ΜΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΟ (ΚΕΦΑΛΗ ΒΕΛΟΥΣ ΕΙΚΟΝΑΣ D). (107)	43
ΕΙΚΟΝΑ 11. Α. ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΤΟΜΕΣ ΑΡΙΣΤΕΡΗΣ ΚΟΙΛΙΑΣ ΕΠΙΜΥΩΝ ΤΩΝ ΤΡΙΩΝ ΟΜΑΔΩΝ ΜΕΛΕΤΗΣ (D=ΔΙΑΜΕΤΡΟΣ, WT=ΠΑΧΟΣ ΤΟΙΧΩΜΑΤΟΣ). Β. ΔΙΑΜΕΤΡΟΣ ΑΡΙΣΤΕΡΗΣ ΚΟΙΛΙΑΣ. Γ. ΠΑΧΟΣ ΤΟΙΧΩΜΑΤΟΣ. (118)	47
ΕΙΚΟΝΑ 12. ΟΙ ΤΡΕΧΟΥΣΕΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΕΣ ΤΟΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑΤΟΣ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ ΚΑΙ Η ΠΙΘΑΝΗ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΣΕ ΕΚΤΕΤΑΜΕΝΑ ΕΜΦΡΑΓΜΑΤΑ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ	49
ΕΙΚΟΝΑ 13. ΙΣΤΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ, ΜΕ ΣΚΟΠΟ ΤΗΝ ΥΠΟΣΤΡΟΦΗ ΜΥΟΚΑΡΔΙΑΚΗΣ ΒΛΑΒΗΣ	50
ΕΙΚΟΝΑ 14. (Α) ΑΡΧΙΚΗ ΜΟΡΦΗ ΣΚΟΝΗΣ PEG. (Β) ΟΜΟΙΟΓΕΝΕΣ ΔΙΑΛΥΜΑ PEG-ΣΕΒΑΚΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ, ΜΕΤΑ ΤΗΝ 24ΩΡΗ ΑΝΑΔΕΥΞΗ.	57
ΕΙΚΟΝΑ 15. ΤΟ ΥΛΙΚΟ PEGS.	58
ΕΙΚΟΝΑ 16. ΤΟ PEGSDA HYDROGEL.	58
ΕΙΚΟΝΑ 17. ΤΟ G-PEG SCAFFOLD (122)	60
ΕΙΚΟΝΑ 18. ΕΞΑΡΤΗΣΗ ΤΟΥ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΙΣΩΔΟΥΣ (H) ΣΤΟΥΣ 37°C ΤΟΥ PEGSDA HYDROGEL ΑΠΟ ΤΟ ΧΡΟΝΟ	60
ΕΙΚΟΝΑ 19. ΤΟ ΑΛΓΙΝΙΚΟ ΥΔΡΟΠΗΚΤΩΜΑ	62
ΕΙΚΟΝΑ 20. ΤΟ GH-ΑΛΓΙΝΙΚΟΥ ΥΔΡΟΠΗΚΤΩΜΑΤΟΣ (ΚΑΤΩ ΣΤΡΩΣΗ) ΣΕ ΥΔΑΤΙΚΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ PBS (ΑΝΩ ΣΤΡΩΣΗ), ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΩΝ IN VITRO ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ ΒΙΟΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗΣ.	63
ΕΙΚΟΝΑ 21. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΤΟΥ ALGINATE SCAFFOLD, ΛΙΓΟ ΠΡΙΝ ΤΗΝ ΕΜΦΥΤΕΥΣΗ	63
ΕΙΚΟΝΑ 22. ΕΞΑΡΤΗΣΗ ΤΟΥ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΙΣΩΔΟΥΣ (H) ΣΤΟΥΣ 37°C ΤΟΥ 1%CA – ALGINATE HYDROGEL ΑΠΟ ΤΟ ΡΥΘΜΟ ΔΙΑΤΜΗΣΗΣ (Γ)	65
ΕΙΚΟΝΑ 23. ΦΑΣΜΑ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΔΟΝΗΤΙΚΗΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ IR ΤΗΣ ΣΚΟΝΗΣ ΤΟΥ ΑΛΓΙΝΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ. ΤΟ ΦΑΣΜΑ ΕΙΝΑΙ ΟΜΟΙΟ ΜΕ ΤΟ ΦΑΣΜΑ ΤΟΥ 1% CA-ALGINATE HYDROGEL.	67
ΕΙΚΟΝΑ 24. ΕΙΚΟΝΑ ΤΟΥ ΛΥΟΦΙΛΟΠΟΙΗΜΕΝΟΥ ΙΚΡΙΩΜΑΤΟΣ ΑΠΟ ΟΠΤΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ	69
ΕΙΚΟΝΑ 25. ΕΙΚΟΝΑ ΑΠΟ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟ ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ ΣΑΡΩΣΗΣ (Α) ΛΥΟΦΙΛΟΠΟΙΗΜΕΝΟΥ ΙΚΡΙΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ (Β) ΥΓΙΟΥΣ ΕΞΟΚΥΤΤΑΡΙΑΣ ΜΗΤΡΑΣ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ.	70
ΕΙΚΟΝΑ 26. ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗ ΥΔΡΟΠΗΚΤΩΜΑΤΟΣ ΑΛΓΙΝΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΜΕ ΤΟ ΧΡΟΝΟ ΕΜΒΑΠΤΙΣΗΣ ΣΕ ΝΕΡΟ ΣΤΟΥΣ 37°C, (Α) ΦΑΣΜΑΤΑ ΟΡΑΤΟΥ-ΥΠΕΡΙΩΔΟΥΣ, ΚΑΙ (Β) ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΔΙΑΛΥΣΗΣ ΑΛΓΙΝΙΚΟΥ ΥΔΡΟΠΗΚΤΩΜΑΤΟΣ (ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΕΝΑ ΣΤΟ ΜΕΓΙΣΤΟ ΤΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΤΩΝ ΦΑΣΜΑΤΩΝ).	71
ΕΙΚΟΝΑ 27. ΡΥΘΜΟΣ ΑΠΕΛΕΥΘΕΡΩΣΗΣ ΑΥΞΗΤΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ ΑΠΟ ΤΟ ΥΔΡΟΠΗΚΤΩΜΑ ΑΛΓΙΝΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ	73
ΕΙΚΟΝΑ 28. ΕΠΙΜΥΣ ΥΠΟ ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ ΜΕ ΜΙΓΜΑ ΟΞΥΓΟΝΟΥ ΚΑΙ ΙΣΟΦΛΟΥΡΑΝΙΟΥ	74

ΕΙΚΟΝΑ 29. ΚΑΤΑΓΡΑΦΗ ΗΛΕΚΤΡΟΚΑΡΔΙΟΓΡΑΦΗΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΠΕΡΙΔΕΣΗ ΤΗΣ ΑΡΙΣΤΕΡΗΣ ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑΣ ΑΡΤΗΡΙΑΣ	75
ΕΙΚΟΝΑ 30. ΕΜΦΥΤΕΥΣΗ G-PEG ΣΤΟ ΕΠΙΚΑΡΔΙΟ (1).....	77
ΕΙΚΟΝΑ 31. ΕΜΦΥΤΕΥΣΗ G-PEG ΣΤΟ ΕΠΙΚΑΡΔΙΟ (2).....	77
ΕΙΚΟΝΑ 32. ΤΟΠΟΘΕΤΗΣΗ PEGSDA HYDROGEL ΣΤΟ ΕΠΙΚΑΡΔΙΟ.....	77
ΕΙΚΟΝΑ 33. ΔΙΑΣΤΟΛΙΚΗ ΠΙΕΣΗ. (Α) ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΔΙΑΣΤΟΛΙΚΗΣ ΠΙΕΣΗΣ. ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑΤΑ ΠΡΙΝ (Β) ΚΑΙ ΜΕΤΑ (C) ΤΗΝ ΕΜΦΥΤΕΥΣΗ ΤΟΥ G-PEG.(122)	78
ΕΙΚΟΝΑ 34. Ο ΜΕΤΑΤΡΟΠΕΑΣ ΥΠΕΡΗΧΩΝ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΕ.....	79
ΕΙΚΟΝΑ 35. ΣΧΕΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ.....	80
ΕΙΚΟΝΑ 36. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΘΝΗΤΟΤΗΤΑΣ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΟΜΑΔΩΝ. Η ΑΡΧΙΚΗ ΤΟΠΟΘΕΤΗΣΗ ΤΟΥ G-PEG ΣΧΕΤΙΣΤΗΚΕ ΜΕ ΑΥΞΗΜΕΝΗ ΘΝΗΤΟΤΗΤΑ.(122)	82
ΕΙΚΟΝΑ 37. Η ΧΡΟΝΙΚΗ ΠΟΡΕΙΑ ΤΗΣ ΑΠΟΔΟΜΗΣΗΣ ΤΩΝ ΔΥΟ ΒΙΟΪΛΙΚΩΝ	83
ΕΙΚΟΝΑ 38. ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΞΕΝΟΥ ΣΩΜΑΤΟΣ. ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ ΚΑΙ ΙΝΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ($P<0,05$ ΜΕΤΑΞΥ G-PEG ΚΑΙ CONTROLS * - ΜΕΤΑΞΥ HYDROGEL ΚΑΙ CONTROLS # - ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΔΥΟ ΒΙΟΪΛΙΚΩΝ §)(122)	84
ΕΙΚΟΝΑ 39. ΙΝΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΤΗΝ 7 ^η ΜΕΡΑ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗΣ ΣΕ ΥΓΙΕΣ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟ ΟΜΑΔΑΣ ΕΛΕΓΧΟΥ (ΕΠΑΝΩ), ΣΕ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟ ΜΕ PEGSDA SCAFFOLD (ΜΕΣΩΝ) ΚΑΙ ΣΕ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟ ΜΕ HYDROGEL (ΚΑΤΩ).	85
ΕΙΚΟΝΑ 40. ΔΙΑΣΤΑΣΕΙΣ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΑΡΙΣΤΕΡΗΣ ΚΟΙΛΙΑΣ. (LVIDD:ΕΣΩΤΕΡΙΚΗ ΤΕΛΟΔΙΑΣΤΟΛΙΚΗ ΔΙΑΜΕΤΡΟΣ, LVIDS:ΕΣΩΤΕΡΙΚΗ ΤΕΛΟΣΥΣΤΟΛΙΚΗ ΔΙΑΜΕΤΡΟΣ, EF:ΚΛΑΣΜΑ ΕΞΩΘΗΣΗΣ)-($P<0,05$ ΜΕΤΑΞΥ G-PEG ΚΑΙ CONTROLS * - ΜΕΤΑΞΥ ΥΔΡΟΠΗΚΤΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ CONTROLS # - ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΔΥΟ ΒΙΟΪΛΙΚΩΝ §)(122)	86
ΕΙΚΟΝΑ 41. ΔΕΙΚΤΕΣ ΑΝΑΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗΣ. (PWD: ΤΕΛΟΔΙΑΣΤΟΛΙΚΟ ΠΑΧΟΣ ΟΠΙΣΘΙΟΥ ΤΟΙΧΩΜΑΤΟΣ, PWSV: ΤΑΧΥΤΗΤΑ ΣΥΣΠΑΣΗΣ ΤΟΥ ΟΠΙΣΘΙΟΥ ΤΟΙΧΩΜΑΤΟΣ, WTI: ΔΕΙΚΤΗΣ ΤΟΙΧΩΜΑΤΙΚΗΣ ΤΑΣΗΣ)-($P<0,05$ ΜΕΤΑΞΥ G-PEG ΚΑΙ CONTROLS * - ΜΕΤΑΞΥ ΥΔΡΟΠΗΚΤΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ CONTROLS # - ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΔΥΟ ΒΙΟΪΛΙΚΩΝ §)(122)	87
ΕΙΚΟΝΑ 42. ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ALGINATE SCAFFOLD, ΛΙΓΟ ΠΡΙΝ ΤΗΝ ΕΜΦΥΤΕΥΣΗ.	92
ΕΙΚΟΝΑ 43. ΕΜΦΥΤΕΥΣΗ ΤΟΥ ALGINATE HYDROGEL ΣΤΟ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟ ΤΗΣ ΑΡΙΣΤΕΡΗΣ ΚΟΙΛΙΑΣ.....	92
ΕΙΚΟΝΑ 44. ΕΜΦΥΤΕΥΣΗ ΤΟΥ ALGINATE SCAFFOLD ΣΤΟ ΕΠΙΚΑΡΔΙΟ ΓΥΡΩ ΑΠΟ ΤΙΣ ΚΟΙΛΙΕΣ	93
ΕΙΚΟΝΑ 45. ΔΙΑΣΤΑΣΕΙΣ ΑΡΙΣΤΕΡΗΣ ΚΟΙΛΙΑΣ.	97
ΕΙΚΟΝΑ 46. ΔΕΙΚΤΗΣ ΣΦΑΙΡΙΚΟΤΗΤΑΣ (SPHERICITY INDEX) ΚΑΙ ΔΕΙΚΤΗΣ ΤΟΙΧΩΜΑΤΙΚΗΣ ΤΑΣΗΣ (WTI) ΣΤΙΣ 5 ΟΜΑΔΕΣ ΜΕΛΕΤΗΣ. (* = ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΣΗΜΑΝΤΙΚΗ ΔΙΑΦΟΡΑ).....	98
ΕΙΚΟΝΑ 47. ΕΜΦΡΑΓΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ, ΕΠΕΙΤΑ ΑΠΟ ΧΡΩΣΗ HEIDENHAIN'S AZAN TRICHOME (ΚΛΙΜΑΚΑ:500 ΜΜ)..	99
ΕΙΚΟΝΑ 48. ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΕΜΦΡΑΓΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ (ΧΡΩΣΗ ΛΕΚΤΙΝΗΣ, ΚΛΙΜΑΚΑ:50ΜΜ).	100
ΕΙΚΟΝΑ 49. ΜΥΟΪΝΟΒΛΑΣΤΙΚΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ (ΧΡΩΣΗ ΓΙΑ Α-ΑΚΤΙΝΗ ΤΩΝ ΛΕΙΩΝ ΜΥΪΚΩΝ ΙΝΩΝ ΓΙΑ ΜΥΟΪΝΟΒΛΑΣΤΕΣ (ΒΕΛΗ), ΚΛΙΜΑΚΑ:50ΜΜ).	101
ΕΙΚΟΝΑ 50. ΤΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΤΟΥ ΠΡΩΤΟΥ ΜΕΡΟΥΣ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ(122)	112
ΕΙΚΟΝΑ 51. ΕΜΦΥΤΕΥΣΗ ΥΔΡΟΠΗΚΤΩΜΑΤΟΣ ΑΛΓΙΝΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΣΤΟ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟ ΤΗΣ ΑΡΙΣΤΕΡΗΣ ΚΟΙΛΙΑΣ ΜΕΤΑ ΤΟ ΟΞΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑ	113
ΕΙΚΟΝΑ 52. ΙΣΤΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ, ΥΠΟΒΑΘΡΟ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΩΝ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ.....	114

ΛΙΣΤΑ ΠΙΝΑΚΩΝ

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. ΠΙΘΑΝΟΛΟΓΟΥΜΕΝΗ ΑΛΛΑΓΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗΣ 15 ΚΥΡΙΩΝ ΑΙΤΙΩΝ ΜΕΙΩΣΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΖΩΗΣ (2002 ΚΑΙ 2030). (3).....	9
---	---

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι κλινικές εκδηλώσεις της στεφανιαίας νόσου αποτελούν την κύρια αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας σε πολλές χώρες, ανάμεσα στις οποίες και η Ελλάδα (1). Εξαιτίας της περιορισμένης αναγεννητικής ικανότητας του μυοκαρδίου, το οξύ έμφραγμα οδηγεί σε μόνιμη απώλεια συσταλτού ιστού και μειώνει τη λειτουργικότητα της αριστερής κοιλίας, οδηγώντας σε καρδιακή ανεπάρκεια. Παρά τις υπάρχουσες θεραπείες, ο αριθμός των ασθενών με αριστερή καρδιακή ανεπάρκεια παραμένει υψηλός και η ανάγκη για αναζήτηση νέων μεθόδων αντιμετώπισης είναι επιτακτική.

Οι διαδοχικοί παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί, που ακολουθούν μετά το οξύ έμφραγμα και προκαλούν μεταβολές στη δομή και τη λειτουργία του μυοκαρδίου, αποκαλούνται «καρδιακή αναδιαμόρφωση», ή «αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας» (2). Η αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας ξεκινά τις πρώτες ώρες μετά την απόφραξη της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας, εξελίσσεται για εβδομάδες ή μήνες και μπορεί να οδηγήσει τελικά σε χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια. Η αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας εξαρτάται από τη διαδικασία επούλωσης και η ισορροπία μεταξύ αυτών των δυο διαδικασιών αποτελεί την πιο σημαντική παράμετρο που καθορίζει τη μακροπρόθεσμη έκβαση.

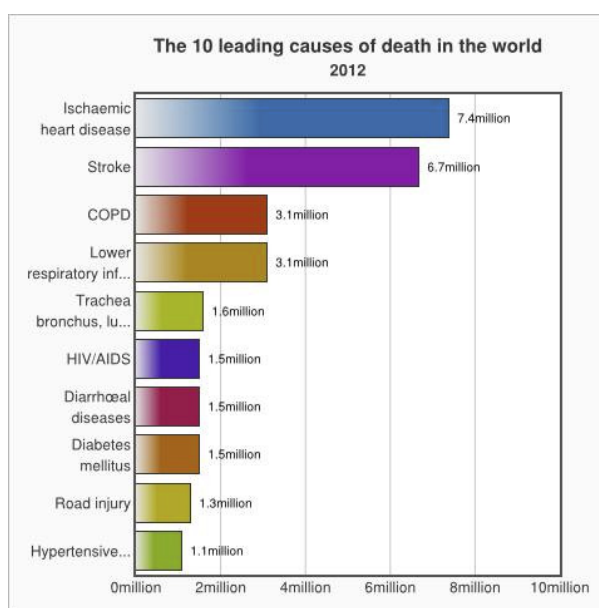
Κατά τη διάρκεια της προηγούμενης δεκαετίας, έχουν αξιολογηθεί ποικίλες θεραπευτικές παρεμβάσεις, που στοχεύουν στη βελτίωση της συσταλτικότητας του μυοκαρδίου των κοιλιών. Παρά τη σημαντική πρόοδο, οι μέχρι σήμερα ερευνητικές προσπάθειες είχαν περιορισμένη επιτυχία. Στην παρούσα διατριβή μελετήθηκε μια νέα θεραπεία μυοκαρδιακής αναγέννησης, με στόχο τη βελτίωση της λειτουργίας της αριστερής κοιλίας. Συγκεκριμένα, εξετάστηκε η χρήση ικριωμάτων στο μυοκάρδιο, καθώς και η χρήση αυξητικών παραγόντων προσδεδεμένων σε αυτό. Η αποτελεσματικότητα και η ασφάλεια της προσέγγισης αυτής αξιολογήθηκαν με τη χρήση του πειραματικού προτύπου εμφράγματος του μυοκαρδίου σε επίμυες.

Η παρουσίαση της διδακτορικής διατριβής έχει διαιρεθεί σε τέσσερα διακριτά μέρη. Στο πρώτο μέρος παρουσιάζεται μια γενική εισαγωγή στο θέμα και ολοκληρώνεται με την αναλυτική περιγραφή του στόχου της παρούσας διατριβής. Στο δεύτερο μέρος παρουσιάζεται η υπάρχουσα γνώση στα υπό μελέτη θέματα. Στο τρίτο μέρος παρουσιάζεται αναλυτικά το υλικό και η μεθοδολογία που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή, το χαρακτηρισμό και αξιολόγηση των βιολογικών ικριωμάτων, η παρασκευή των οποίων έγινε στα Εργαστήρια του Τμήματος Μηχανικών Επιστήμης και Τεχνολογίας Υλικών. Η ανάλυση του τρόπου παρασκευής και χαρακτηρισμού δεν αποτελούν άμεσο αντικείμενο της παρούσας διατριβής, αλλά θα παρουσιαστούν προκειμένου να γίνει κατανοητή η δομή τους και ο λόγος επιλογής τους. Στο τρίτο μέρος, περιγράφονται επίσης, η πειραματική διαδικασία της εμφύτευσης, τόσο των ικριωμάτων, όσο και αυξητικής ορμόνης στο μυοκάρδιο των επίμυων, οι αναλύσεις και τα αποτελέσματα της πειραματικής μελέτης. Στο τέταρτο μέρος της διατριβής συνοψίζονται τα συμπεράσματα, η συζήτηση, οι πιθανές κλινικές εφαρμογές και οι προτάσεις για μελλοντική έρευνα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

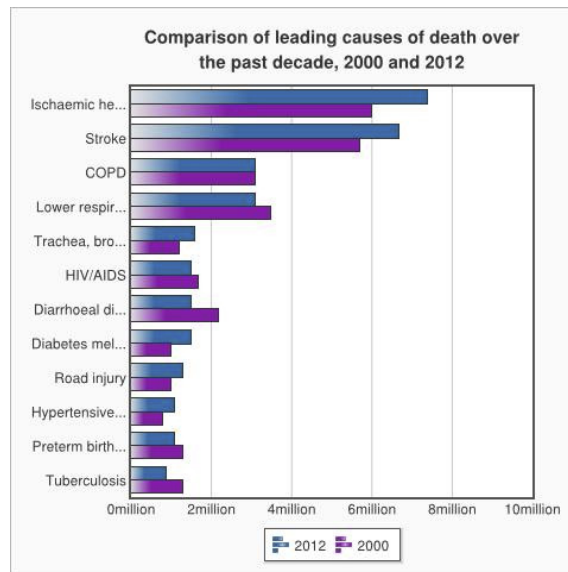
Η στεφανιαία νόσος είναι το συχνότερο αίτιο νοσηρότητας και θνητότητας στην Ελλάδα, την Ευρώπη, αλλά και παγκοσμίως. Σύμφωνα με την αναφορά του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (No 310, τελ. ενημέρωση Μάιος 2014) η κύρια αιτία θανάτου παγκοσμίως το 2012 ήταν η ισχαιμική καρδιακή νόσος, με τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια να ακολουθούν και ακόμη πιο κάτω τα αναπνευστικά νοσήματα.



Εικόνα 1. Οι 10 κύριες αιτίες θανάτου σύμφωνα με τα στοιχεία του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO)

(<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>)

Επιπρόσθετα, η επίπτωση της ισχαιμικής καρδιακής νόσου φαίνεται να έχει αυξηθεί την τελευταία δεκαετία, καθιστώντας αναγκαία την εξεύρεση νέων στρατηγικών αντιμετώπισης και θεραπειών.



Εικόνα 2. Σύγκριση κύριων αιτιών θανάτου 2000-2012 σύμφωνα με τα στοιχεία του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO)
(<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>)

Στο γενικό πληθυσμό, οι κλινικές εκδηλώσεις της στεφανιαίας νόσου αποτελούν την κύρια αιτία θανάτου για έναν στους πέντε άνδρες και για μία στις έξι γυναίκες. Οι επιπτώσεις της στεφανιαίας νόσου στην κοινωνία είναι περαιτέρω αυξημένες, λαμβανομένου υπόψη του γεγονότος ότι σε ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών, η στεφανιαία νόσος εμφανίζεται σε σχετικά νεαρή ηλικία. Υπολογίζεται ότι η επίπτωση του εμφράγματος του μυοκαρδίου στις ηλικίες 30 έως 69 έτη είναι περίπου 600 ανά 100000 ανδρικού πληθυσμού και περίπου 200 ανά 100000 γυναικείου πληθυσμού. Σύμφωνα με τη μελέτη του Mathers και των συνεργατών του (3) η συχνότητα εμφάνισης της ισχαιμικής καρδιακής νόσου αναμένεται να συνεχίσει να είναι υψηλή, ή και να αυξηθεί στις επόμενες δεκαετίες, επηρεάζοντας σημαντικά την ποιότητα ζωής των ασθενών (Πίνακας 1). Η συχνότητα του εμφράγματος του μυοκαρδίου εξαρτάται από τον επιπολασμό της στεφανιαίας νόσου στην κάθε χώρα. Εντούτοις, αναφέρεται από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας ως η πρώτη αιτία θανάτου στις ηλικίες 40 έως 82 ετών, τόσο στις ανεπτυγμένες, όσο και στις αναπτυσσόμενες χώρες.

Category	Disease or Injury	2002 Rank	2030 Ranks	Change in Rank
Within top 15	Perinatal conditions	1	5	-4
	Lower respiratory infections	2	8	-6
	HIV/AIDS	3	1	+2
	Unipolar depressive disorders	4	2	+2
	Diarrhoeal diseases	5	12	-7
	Ischaemic heart disease	6	3	+3
	Cerebrovascular disease	7	6	+1
	Road traffic accidents	8	4	+4
	Malaria	9	15	-6
	Tuberculosis	10	25	-15
	COPD	11	7	+4
	Congenital anomalies	12	20	-8
	Hearing loss, adult onset	13	9	+4
	Cataracts	14	10	+4
	Violence	15	13	+2
Outside top 15	Self-inflicted injuries	17	14	+3
	Diabetes mellitus	20	11	+9

DOI: 10.1371/journal.pmed.0030442.t005

Πίνακας 1. Πιθανολογούμενη αλλαγή κατάταξης 15 κύριων αιτίων μείωσης ποιότητας ζωής (2002 και 2030). (3)

2.1 ΟΞΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ

Το έμφραγμα του μυοκαρδίου και η ασταθής στηθάγχη ανοίκουν στην ίδια νοσολογική οντότητα, και χαρακτηρίζονται ως *οξεία στεφανιαία σύνδρομα*. Το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου προκαλείται από την αιφνίδια θρόμβωση και απόφραξη μιας στεφανιαίας αρτηρίας, που προκαλεί διακοπή της αιμάτωσης του μυοκαρδίου, ισχαιμία και τελικά νέκρωση της περιοχής που αρδεύεται από την αποφραχθείσα αρτηρία. Βασική υπεύθυνη αιτία, σε ποσοστό περισσότερο από 80% των περιπτώσεων, θεωρείται η θρόμβωση των στεφανιαίων αρτηριών από ρήξη της αθηρωματικής πλάκας, ενώ το υπόλοιπο ποσοστό του φάσματος καλύπτεται κυρίως από την θρόμβωση που οφείλεται στη διάβρωση του ενδοθηλίου ή το σπασμό των στεφανιαίων αρτηριών.

Μπορεί να αποτελεί την πρώτη εκδήλωση στεφανιαίας νόσου ή να εμφανιστεί, σε ασθενείς με προηγούμενο ιστορικό. Το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου μπορεί να είναι ένα συμβάν που μπορεί να παραμείνει ασυμπτωματικό και αδιάγνωστο, όπως για παράδειγμα σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη (4), αλλά μπορεί επίσης να οδηγήσει σε σοβαρές αιμοδυναμικές διαταραχές ή θάνατο. Από επιδημιολογική

θεώρηση, η επίπτωση του εμφράγματος του μυοκαρδίου σε έναν πληθυσμό μπορεί να προσεγγίζει και τον επιπολασμό της στεφανιαίας νόσου στον πληθυσμό αυτό (5).

Το έμφραγμα του μυοκαρδίου χαρακτηρίζεται από τον αποκλεισμό ενός στεφανιαίου αγγείου. Ακολουθεί διαδικασία νέκρωσης μυοκαρδιακών κυττάρων, λόγω της διακοπής της παροχής οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών στην ανάλογη περιοχή του μυοκαρδίου, που αρδρεύεται από το συγκεκριμένο στεφανιαίο αγγείο. Παράλληλα, ξεκινά μια αλληλουχία αντισταθμιστικών μηχανισμών οι οποίοι αποσκοπούν στην αποκατάσταση της βλάβης που έχει προκληθεί λόγω της οξείας απώλειας της συσταλτικής λειτουργίας του μυοκαρδίου. Το σύνολο των μέχρι σήμερα γνωστών μηχανισμών της αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας (2) και θα αναλυθεί εκτενώς σε επόμενο κεφάλαιο.

Η εμφάνιση καρδιακής ανεπάρκειας και συστολικής δυσλειτουργίας της αριστερής κοιλίας μετά το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου επιβαρύνει σημαντικά την πρόγνωση των ασθενών. Έχειδειχθεί ότι ο κίνδυνος αιφνιδίου θανάτου είναι μεγαλύτερος τις πρώτες 30 ημέρες μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου σε ασθενείς με δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας ή κλινικά εμφανή καρδιακή ανεπάρκεια (6). Τα δυο αυτά επακόλουθα - η δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας, που συχνά οδηγεί σε καρδιακή ανεπάρκεια - αποτελούν τους ισχυρότερους προγνωστικούς δείκτες αυξημένης νοσοκομειακής θνητότητας και σχετίζονται με την διάρκεια της νοσηλείας, την συχνότητα επανεισαγωγής στο νοσοκομείο, καθώς και με την μακροπρόθεσμη θνητότητα. Δεδομένων του υψηλού κινδύνου αυτής της πληθυσμιακής ομάδας, η έγκαιρη και επιθετική έναρξη θεραπευτικής αντιμετώπισης μπορεί να βελτιώσει την πρόγνωση. (7)

2.1.1 Μεταβολικές και ιστικές αλλαγές του μυοκαρδίου κατά την ισχαιμία

Σε ιστικό επίπεδο, έμφραγμα του μυοκαρδίου χαρακτηρίζεται η καταστροφή μυοκαρδιακών κυττάρων, λόγω παρατεταμένης ισχαιμίας. Μετά την έναρξη της ισχαιμίας του μυοκαρδίου, ο κυτταρικός θάνατος δεν είναι άμεσος, αλλά ξεκινά

περίπου στα 20 λεπτά (ή και λιγότερο σε κάποια πρότυπα πειραματοζώων (8)). Απαιτούνται αρκετές ώρες προκειμένου να αναγνωρισθεί η μυοκαρδιακή νέκρωση παθολογοανατομικά, μακροσκοπικά και μικροσκοπικά. Ο ρυθμός της νέκρωσης των μυοκαρδιακών κυττάρων εξαρτάται από την ύπαρξη παράπλευρης κυκλοφορίας στην περιοχή που ισχαιμεί, καθώς και από το είδος αποκλεισμού του αγγείου - εμμένων ή διαλείπων (5).

Φυσιολογικά, το μυοκάρδιο χρειάζεται για τις βασικές του λειτουργίες περίπου 1,3 ml οξυγόνου ανά 100 g μυϊκού ιστού ανά λεπτό. Αυτό συνεπάγεται ότι, σε κατάσταση ηρεμίας, από το μυοκάρδιο της αριστερής κοιλίας καταναλίσκονται 8 ml οξυγόνου ανά 100 g μυϊκού ιστού ανά λεπτό. Κατά συνέπεια, εάν διατηρείται ακόμη και ποσοστό 15 έως 30% της φυσιολογικής αιμάτωσης των στεφανιαίων αρτηριών σε βασικές συνθήκες, το μυοκάρδιο δεν υφίσταται νέκρωση. Στο κεντρικό τμήμα της εμφραγματικής περιοχής, όμως, η αιμάτωση συνήθως είναι μικρότερη από αυτό το ποσοστό, με αποτέλεσμα τη νέκρωση αυτού του τμήματος του μυοκαρδίου (9). Η έκταση της νέκρωσης είναι ανάλογη του βαθμού της ισχαιμίας, ο οποίος εξαρτάται από την ισορροπία μεταξύ των μεταβολικών αναγκών και την παρεχόμενη οξυγόνωση. Όταν η ισχαιμη περιοχή είναι μεγάλη, μυϊκές ίνες που βρίσκονται στο κέντρο της περιοχής αυτής υφίστανται νέκρωση. Περιμετρικά από τη νεκρωμένη περιοχή, η ισχαιμική περιοχή εμφανίζει διαταραχές στην συστολική και διαστολική λειτουργία της (9).

2.1.2 Διαδικασία επούλωσης εμφράγματος

Η φυσιολογική αντίδραση επούλωσης ξεκινά αμέσως μετά την νέκρωση του μυοκαρδίου. Η ισορροπία μεταξύ των δυο αυτών διαδικασιών αποτελεί την πιο σημαντική παράμετρο που επηρεάζει τα μακροπρόθεσμα αποτελέσματα (10). Η επούλωση του εμφράγματος είναι μια δυναμική βιολογική διαδικασία που οδηγεί στο σχηματισμό κοκκιωματώδους ιστού. Οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στην επούλωση μετά από ισχαιμική νέκρωση του μυοκαρδίου έχουν αποτελέσει αντικείμενο εντατικής έρευνας την τελευταία δεκαετία.

Στη διαδικασία αυτή της αποκατάστασης της μυοκαρδιακής βλάβης μετά την ισχαιμία του μυοκαρδίου μπορούμε να διακρίνουμε τέσσερα παθοφυσιολογικά στάδια:

α) Πολύ πρώιμο (πρώτες 24 ώρες): Οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου -> ενδοκυττάριο οίδημα -> αύξηση γλυκοζαμινογλυκανών -> νέκρωση -> απόπτωση -> οξεία φλεγμονώδης αντίδραση -> συγκέντρωση ουδετεροφύλων -> ενεργοποίηση κυτοκινών -> αύξηση κολλαγενασών -> αυξημένη αποδόμηση ινών κολλαγόνου.

β) Πρώιμο (2 εβδομάδες): Χρόνια φλεγμονή με αύξηση μακροφάγων και μονοκυττάρων -> συγκέντρωση ινοβλαστών -> αύξηση μυοϊνοβλαστών -> αύξηση αυξητικών παραγόντων -> αύξηση κολλαγόνου.

γ) Καθυστερημένο (3 με 6 εβδομάδες): Σχηματισμός ουλής, παρουσία μυοϊνοβλαστών και κολλαγόνου, αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας.

δ) Πολύ καθυστερημένο (1,5 μήνα με 1 χρόνο και περισσότερο): σταθεροποίηση των τοπογραφικών μεταβολών ή επιδείνωση της αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας.

Η προοδευτική κατανόηση της περίπλοκης παθοφυσιολογίας της μυοκαρδιακής νέκρωσης οδήγησε στην ιδέα της ενίσχυσης των μηχανισμών επούλωσης κατά την οξεία φάση του εμφράγματος. Η έγκαιρη ενίσχυση της διαδικασίας αυτής μπορεί να μειώνει την έκταση της εμφραγματικής περιοχής και να βελτιώνει την συσταλτικότητα του μυοκαρδίου. Επιπρόσθετα, μια τέτοια παρέμβαση μπορεί να αποτρέπει την διάταση της αριστερής κοιλίας και της συνοδού ίνωσης, με πιθανή επίδραση στο σχηματισμό υποστρώματος για κοιλιακή αρρυθμογένεση.

2.2 ΑΝΑΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΑΡΙΣΤΕΡΗΣ ΚΟΙΛΙΑΣ

Η αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας είναι μια σειρά διαδοχικών πολύπλοκων παθοφυσιολογικών μηχανισμών που προηγούνται της κλινικής εμφάνισης καρδιακής ανεπάρκειας, μετά από το έμφραγμα του μυοκαρδίου. Η διαδικασία αυτή χαρακτηρίζεται από αλλαγές στην αρχιτεκτονική τόσο της

εμφραχθείσας, όσο και της μη εμφραχθείσας περιοχής της αριστερής κοιλίας, με επακόλουθο τη διάταση και τη μεταβολή του σχήματός της, από ελλειπτικό σε σφαιρικό. Ο όρος καρδιακή αναδιαμόρφωση, περιλαμβάνει την έκπτυξη της εμφραγματικής περιοχής και περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1978 από τους Hutchins και Bulkley, ως η οξεία διάταση και λέπτυνση της εμφραγματικής περιοχής (11), που δεν εξηγείται από την επιπρόσθετη νέκρωση μυοκαρδιακών κυττάρων.

Η διαδικασία της αναδιαμόρφωσης επηρεάζεται σημαντικά από το αιμοδυναμικό φορτίο, τη νευροορμονική ενεργοποίηση και πρόσθετους παράγοντες, όπως η ενδοθηλίνη, οι κυτοκίνες και το οξειδωτικό stress (12). Η αναδιαμόρφωση ξεκινά τις πρώτες ώρες μετά την απόφραξη του στεφανιαίου αγγείου και εξελίσσεται για μια περίοδο εβδομάδων ή και μηνών (13). Η προοδευτικά επιδεινούμενη διάταση της αριστερής κοιλίας, αν και αποτελεί έναν αρχικό μηχανισμό αντιρρόπησης για την αποκατάσταση της καρδιακής παροχής και την ικανοποίηση των μεταβολικών αναγκών, τελικά επηρεάζει τον ενεργειακό μεταβολισμό του μυοκαρδίου. Έτσι, οι μακροπρόθεσμες συνέπειες της αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας περιλαμβάνουν τις δυσμενείς παθοφυσιολογικές προσαρμογές, τη διάταση της αριστερής κοιλίας, με αποτέλεσμα τη ελάττωση της συστολικής και διαστολικής λειτουργίας και, τελικά, τη χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια (14).

Η κοιλιακή αναδιαμόρφωση και η συνοδός νευροορμονική ενεργοποίηση προκαλούν ιστολογικές μεταβολές στο παθολογικό μυοκάρδιο, με επακόλουθες επιδράσεις στις ηλεκτροφυσιολογικές του ιδιότητες, δημιουργώντας το υπόστρωμα για την εμφάνιση κοιλιακών αρρυθμιών (15). Το υπόστρωμα αυτό εντοπίζεται κυρίως στην ενδιάμεση ζώνη, δηλαδή σε περιοχές του κοιλιακού μυοκαρδίου μεταξύ του εμφραγματικού και του φυσιολογικού ιστού. Σχηματίζεται τις πρώτες μέρες μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου και εκδηλώνεται κλινικά συνήθως μετά την δέκατη μέρα. Κλινικές έρευνες τεκμηρίωσαν ότι η μεγάλης έκτασης κοιλιακή αναδιαμόρφωση είναι σημαντικός προγνωστικός παράγοντας εμφάνισης αρρυθμιών σε ασθενείς με ιστορικό εμφράγματος του μυοκαρδίου (16).

Η απώλεια μυοκαρδιακού ιστού οδηγεί σε απότομη μεταβολή των συνθηκών φόρτισης της αριστεράς κοιλίας, δηλαδή των πιέσεων που ασκούνται στα τοιχώματά της, με αποτέλεσμα την εμφάνιση της αναδιαμόρφωσης. Σε κυτταρικό επίπεδο, τα

μυοκαρδιακά κύτταρα σε καταστάσεις αυξημένης τοιχωματικής τάσης υπερτέφονται και διεγείρουν την πρωτεϊνοσύνθεση (17). Κεντρικό ρόλο στην παθοφυσιολογία της αναδιαμόρφωσης έχει η έκπτυξη της εμφραγματικής περιοχής. Οι υπεύθυνοι κυτταρικοί μηχανισμοί για την έκπτυξη της εμφραγματικής περιοχής συνίστανται κυρίως στην αποδόμηση του εξωκυττάριου δικτύου των ινών κολλαγόνου, που οδηγεί σε διαταραχή της αρχιτεκτονικής της εμφραγματικής περιοχής, με τελικό αποτέλεσμα την μείωση του αριθμού των κυττάρων κατά μήκος του τοιχώματος. Επιπρόσθετα, από την περιοχή του εμφράγματος εκκρίνονται κυτοκίνες, οι οποίες προάγουν το σχηματισμό ουλής, συμβάλλουν στη μείωση της τοπικής τοιχωματικής τάσης και ανταγωνίζονται την έκπτυξη. Πειραματικά δεδομένα έδειξαν ότι εάν προληφθεί η έκπτυξη της εμφραγματικής περιοχής, τότε αποτρέπεται και η συνολική διάταση της αριστεράς κοιλίας (18). Προς την κατεύθυνση αυτή έχει προταθεί και ο περιορισμός της έκτασης της εμφραγματικής περιοχής με μηχανικό τρόπο, για παράδειγμα με τη χρήση πλέγματος πολυπροπυλενίου ραμμένου στο μυοκάρδιο, για τη μείωση της κοιλιακής αναδιαμόρφωσης και την πρόληψη της μείωσης της καρδιακής λειτουργίας (19, 20).

Το χρονικό διάστημα που θα απαιτηθεί προκειμένου να ολοκληρωθεί αυτή η διαδικασία εξαρτάται από το μέγεθος και την περιοχή του εμφράγματος, καθώς και από τη βατότητα της σχετιζόμενης με την εμφραγματική περιοχή αρτηρίας (2, 21).

2.2.1 Φυσιολογική και Παθολογική Υπερτροφία

Η υπερτροφία της αριστερής κοιλίας της καρδιάς, μπορεί να είναι είτε φυσιολογική, είτε παθολογική. Συγκεκριμένα, η «φυσιολογική υπερτροφία» ή «αθλητική καρδιά» αποτελεί φυσιολογική αντίδραση του μυοκαρδίου στη σωματική άσκηση ή την εγκυμοσύνη και χαρακτηρίζεται από την αύξηση της μάζας του καρδιακού μυός και βελτίωση της αντλητικής λειτουργίας της. Η «παθολογική υπερτροφία», από την άλλη πλευρά, προκαλείται από παθολογικά αίτια, όπως το έμφραγμα του μυοκαρδίου, η υπέρταση ή η χορήγηση ορμονών, και χαρακτηρίζεται από αύξηση της μάζας του καρδιακού μυός, αλλά δεν αυξάνει η αντλητική του δυνατότητα και μάλιστα εγκαθίσταται μυοκαρδιακή ουλή με μεγάλη περιεκτικότητα

σε κολλαγόνο. Στην παθολογική υπερτροφία η καρδιά μπορεί να αυξηθεί σε μέγεθος, έως και 150%. Οι αλλαγές αυτές στο μυοκάρδιο σταδιακά οδηγούν και μείωση της λειτουργικότητας και καρδιακή ανεπάρκεια (22). Η επαγωγή φυσιολογικής υπερτροφίας χρησιμοποιείται σαν θεραπευτική προσέγγιση στην καρδιακή ανεπάρκεια μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου.

2.2.1.1 Επαγωγή φυσιολογικής υπερτροφίας για την πρόληψη της κοιλιακής αναδιαμόρφωσης

Φυσιολογική υπερτροφία, όπως αυτή που συμβαίνει με την φυσική άσκηση είναι επιθυμητή και ορίζεται ως η ανάλογη αύξηση μυοκαρδιακών κυττάρων, συνδετικού ιστού και τριχοειδών αγγείων. Έχει προταθεί ότι η επαγωγή φυσιολογικής υπερτροφίας μπορεί να ασκεί ευνοϊκές επιδράσεις στο παθολογικό μυοκάρδιο (23). Μια προηγούμενη πειραματική μελέτη της ερευνητικής ομάδας του Καθηγητή M. Yacoub έδειξε ότι η επαγωγή φυσιολογικής υπερτροφίας όχι μόνο αύξησε τον κυτταρικό όγκο, αλλά επιπρόσθετα αύξησε και τη χρήση της οξειδωσης των υδατανθράκων, ταυτόχρονα με την αύξηση του ασβεστίου του σαρκοπλασματικού δικτύου (24). Οι ευεργετικές αυτές επιδράσεις είχαν σαν αποτέλεσμα την αύξηση του δυναμικού των ρευμάτων ασβεστίου και θα μπορούσαν να έχουν σημαντικές συνέπειες τόσο στην πρόληψη της αναδιαμόρφωσης μετά από έμφραγμα, όσο και στην υποστροφή της διάτασης της αριστερής κοιλίας. Ο καλύτερος τρόπος για την επαγωγή φυσιολογικής υπερτροφίας παραμένει άγνωστος. Η ενεργοποίηση του άξονα αυξητικής ορμόνης/ινσουλινομόρφου αυξητικού παράγοντα-1 διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στην επούλωση του εμφράγματος, επομένως η διέγερση του άξονα αυτού αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση στην καρδιακή αναγέννηση.

2.2.2 Αγγειογένεση

Η αγγειογένεση περιλαμβάνει το σχηματισμό νέων τριχοειδών αγγείων από προϋπάρχοντα αγγεία. Αποτελείται από πολύπλοκα διαδοχικά στάδια, που περιλαμβάνουν τη διέγερση των ενδοθηλιακών κυττάρων από αυξητικούς

παράγοντες, την επακόλουθη αποδόμηση της εξωκυττάριας μήτρας από πρωτεολυτικά ένζυμα, τον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και την εισβολή της εξωκυττάριας μήτρας των ενδοθηλιακών κυττάρων, καθώς και την πρόσληψη περιθηλιακών κυττάρων για σταθεροποίηση του νεοσυσταθέντος τριχοειδούς δικτύου. Διαδραματίζει σημαντικό λειτουργικό ρόλο σε μια ποικιλία φυσιολογικών και παθολογικών καταστάσεων, όπως στην εμβρυϊκή ανάπτυξη, την επούλωση τραυμάτων, την αύξηση των ιστών, την αναγέννηση του ενδομητρίου, την αρθρίτιδα, την αρτηριοσκλήρυνση, την ανάπτυξη του όγκου και τη μετάσταση, καθώς και την μετα-ισχαιμική αγγείωση του μυοκαρδίου. Η έναρξη της αγγειογενετικής απόκρισης, γνωστή ως «αγγειογενετικός διακόπτης», εξαρτάται από τη δυναμική ισορροπία μεταξύ εξωγενών και ενδογενών ερεθισμάτων και αναστολέων που δρουν στο άμεσο περιβάλλον των ενδοθηλιακών κυττάρων. Η διατάραξη μια τέτοιας ισορροπίας μπορεί να ευνοήσει ή να αναστείλει το σχηματισμό νέων αγγείων ([25](#), [26](#)).

2.3 ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ

Ως καρδιακή ανεπάρκεια ορίζεται η αδυναμία της καρδιάς να διατηρήσει την καρδιακή παροχή σε επίπεδο που να εξασφαλίζει την οξυγόνωση για τις μεταβολικές ανάγκες των ιστών και οργάνων του οργανισμού. Την τελευταία δεκαετία, παρατηρείται σταθερή αύξηση του αριθμού των ασθενών με χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια. Αυτό συμβαίνει τόσο εξαιτίας της αύξησης του μέσου όρου ζωής, όσο και εξαιτίας της μείωσης του αριθμού των οξέων θανάτων, προερχόμενης από τη βελτίωση των συστημάτων επείγουσας αντιμετώπισης, της εκτεταμένης εγκατάστασης μονάδων εντατικής νοσηλείας, καθώς και της ευρείας εφαρμογής των στρατηγικών άμεσης επαναιμάτωσης. Στην Ευρώπη ο επιπολασμός της χρόνιας καρδιακής ανεπάρκειας έχει υπολογιστεί περίπου στο 1,5% του γενικού πληθυσμού, καθιερώνοντάς της σαν ένα βαρύ τίμημα θανάτων για την κοινωνία. Οι ασθενείς αυτοί έχουν δεκαπλάσια αύξηση θνησιμότητας συγκρινόμενοι με το γενικό πληθυσμό. Περίπου 50% των θανάτων αυτών οφείλεται σε προοδευτική επιδείνωση της καρδιακής ανεπάρκειας, ενώ το υπόλοιπο 50% είναι αιφνίδιοι, εξαιτίας κοιλιακών αρρυθμιών. Επιπλέον, αυξανόμενο κόστος της ισχαιμικής καρδιακής

νόσου αποτελεί σημαντικό οικονομικό βάρος για τα συστήματα υγείας και την ευρωπαϊκή οικονομία γενικότερα.

2.4 ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗΣ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ

ΜΕΤΑ ΤΟ ΕΜΦΡΑΓΜΑ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ. ΠΑΡΟΝ

ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝ

Στη σύγχρονη θεραπευτική στρατηγική αντιμετώπισης του οξέως εμφράγματος, πρωταρχική θέση κατέχει η έγκαιρη διάνοιξη της αποφραχθείσας στεφανιαίας αρτηρίας (*επαναιμάτωση του μυοκαρδίου*), είτε με χορήγηση *θρομβολυτικής αγωγής*, είτε με τη χρήση *διαδερμικής αγγειοπλαστικής* (Percutaneous Coronary Intervention-PCI), συνήθως συνοδευόμενη από εμφύτευση ενδοστεφανιαίου πλέγματος. Η θρομβολυτική θεραπεία υπήρξε η πρώτη δραστική αντιμετώπιση η οποία μείωσε τη θνητότητα στα οξέα εμφράγματα του μυοκαρδίου, χρησιμοποιείται όμως σήμερα λιγότερο, κυρίως όταν δεν υπάρχει η δυνατότητα διενέργειας πρωτογενούς αγγειοπλαστικής εντός 2 ωρών από τη στιγμή της διάγνωσης. Στην περίπτωση που οι βλάβες των στεφανιαίων αγγείων είναι εκτεταμένες, μπορεί να ενδείκνυται χειρουργική επέμβαση αορτοστεφανιαίας παράκαμψης. Τα θεραπευτικά αυτά μέτρα μειώνουν την έκταση της μυοκαρδιακής βλάβης και βελτιώνουν την πρόγνωση των ασθενών.

Το δεύτερο θεραπευτικό μέτρο που μειώνει την αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας και προλαμβάνει την εμφάνιση καρδιακής ανεπάρκειας είναι η φαρμακευτική αναστολή του συστήματος ρενίνης – αγγειοτενσίνης – αλδοστερόνης, με ένα ή συνδυασμό φαρμάκων ([27](#)), όταν η έναρξη αυτής της θεραπείας γίνει μετά την αιμοδυναμική σταθεροποίηση του ασθενούς. Η υπόλοιπη φαρμακευτική αγωγή που λαμβάνει ο ασθενής μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου περιλαμβάνει την αντιαιμοπεταλιακή αγωγή, τους αποκλειστές των β-αδρενεργικών υποδοχέων και τους υπολιπιδαιμικούς παράγοντες ([28](#), [29](#)). Η αγωγή αυτή στοχεύει στην πρόληψη της στένωσης και θρόμβωσης των στεφανιαίων αγγείων, στη μείωση του

προφορτίου και μεταφορτίου της αριστερής κοιλίας, καθώς και στην άμβλυνση της νευροορμονικής ανταπόκρισης μετά το έμφραγμα (μείωση της δραστηριότητας του συμπαθητικού) ([12](#)).

Στον τομέα της αντιαρρυθμικής αγωγής, η ευρεία χρήση προφυλακτικής αγωγής με αντιαρρυθμικά φάρμακα εγκαταλείφθηκε, εξαιτίας της αναποτελεσματικότητάς της και των συχνών παρενεργειών. Η εμφύτευση καρδιομετατροπέα-απινιδιστή αυξάνει την επιβίωση των ασθενών με ιστορικό κοιλιακής μαρμαρυγής. Εντούτοις, η μεγάλη πλειονότητα των ασθενών που πεθαίνουν αιφνίδια δεν έχουν ιστορικό κοιλιακών αρρυθμιών. Οι προσπάθειες αναγνώρισης των ασθενών υψηλού κινδύνου είναι βασισμένες σε κλινικά κριτήρια και έχουν δώσει πενιχρά αποτελέσματα. Έχει προταθεί η προφυλακτική εμφύτευση απινιδιστή σε όλους τους ασθενείς μετά από εκτεταμένο έμφραγμα του μυοκαρδίου, αλλά μια τέτοια πολιτική είναι πολύ δύσκολο να εφαρμοστεί σε ευρεία κλίμακα, λόγω του χαμηλού δείκτη αποτελεσματικότητας ως προς το κόστος ([30](#)).

Οι συσκευές μηχανικής υποστήριξης της κυκλοφορίας, αμβλύνουν τις συνέπειες της δυσλειτουργίας της αριστερής κοιλίας, δεν μπορούν όμως να βελτιώσουν τη συσταλτικότητα του νεκρωθέντος μυοκαρδιακού ιστού, ενώ η μεταμόσχευση καρδιάς είναι εφαρμόσιμη σε ελάχιστους, επιμελώς επιλεγμένους ασθενείς. Χαρακτηριστικό είναι ότι καμία από τις μέχρι σήμερα εγκεκριμένες θεραπείες δεν στοχεύει στην αποκατάσταση της λειτουργίας του παθολογικού μυοκαρδίου. Παρά το αποδεδειγμένο όφελος των θεραπειών αυτών, η καρδιακή ανεπάρκεια και οι κοιλιακές αρρυθμίες αποτελούν συχνές άμεσες και απώτερες επιπλοκές του εμφράγματος του μυοκαρδίου.

Κατά τη διάρκεια της προηγούμενης δεκαετίας, έχουν αξιολογηθεί ποικίλες θεραπευτικές παρεμβάσεις που στοχεύουν στην αποκατάσταση της καρδιακής λειτουργίας. Από αυτές, τα πιο ελπιδοφόρα αποτελέσματα έχουν παραχθεί τόσο από την επαγωγή φυσιολογικής υπερτροφίας ([31-37](#)), όσο και από την μεταμόσχευση διαφόρων κυτταρικών σειρών ([38-41](#)).

Η αυξητική ορμόνη και ο ινσουλινόμορφος αυξητικός παράγοντας προκαλούν αύξηση των αιμοφόρων αγγείων, των εξωκυττάρων στηρικτικών πρωτεϊνών και των μυοκαρδιακών κυττάρων σε παρόμοιο βαθμό, ασκώντας ευνοϊκά αποτελέσματα

στο κοιλιακό μυοκάρδιο ([34](#), [42](#), [43](#)). Η έγκαιρη ενίσχυση της διαδικασίας επούλωσης της εμφραγματικής περιοχής μπορεί να μειώσει την έκπτυξη της εμφραγματικής περιοχής και να αποτρέψει την μακροπρόθεσμη διάταση της αριστερής κοιλίας, καθώς και της συνοδού ίνωσης. Επιπρόσθετα, μια τέτοια παρέμβαση μπορεί να ασκήσει θετική ινότροπη δράση και να αποκαταστήσει μερικώς τη συστολική λειτουργία του παθολογικού μυοκαρδίου. Μελέτες σε πειραματόζωα ([44](#), [45](#)) και σε ασθενείς ([46](#)) έχουν δείξει ότι η ενεργοποίηση του άξονα αυξητικής ορμόνης/ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα-1, που παρατηρείται κατά τη διάρκεια των πρώτων ωρών μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου, ασκεί καρδιοπροστατευτικές δράσεις στο ισχαιμικό μυοκάρδιο και ενισχύει την αποκατάσταση της εμφραχθείσας περιοχής ([43](#)). Για το λόγο αυτό, η εξωγενής διέγερση του άξονα αυτού αντιπροσωπεύει μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση στην μυοκαρδιακή αναγέννηση. Προηγούμενες μελέτες που εξέτασαν μοριακά, ιστολογικά και λειτουργικά χαρακτηριστικά της προκαλούμενης από αυξητική ορμόνη φυσιολογικής υπερτροφίας παρέχουν περαιτέρω στήριξη στις πιθανές αντιαρρυθμικές ιδιότητες της υπερτροφίας ([47-49](#)). Πολύ σημαντικά είναι επίσης τα ευρήματα πειραματικών μελετών, σύμφωνα με τα οποία η θεραπεία με αυξητική ορμόνη μπορεί να δράσει καρδιοπροστατευτικά. Η καρδιοπροστατευτική αυτή δράση μπορεί να εκδηλωθεί τόσο κατά την ισχαιμία-επαναιμάτωση, όσο και κατά την διάταση του μυοκαρδίου λόγω αύξησης της τοιχωματικής τάσης.

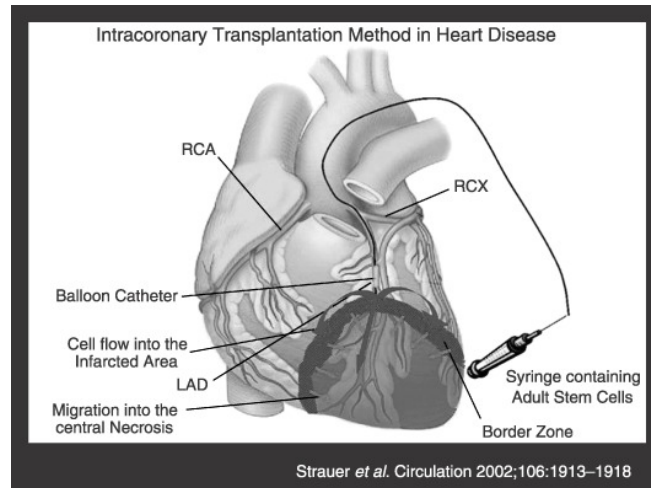
Για τη μείωση της αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας και την πρόληψη της έκπτωσης της λειτουργικότητας της αριστερής κοιλίας, έχει προταθεί και ο μηχανικός περιορισμός της. Μια τέτοια ερευνητική προσπάθεια χρησιμοποίησε ένα πλέγμα πολυπροπυλενίου ραμμένου στο μυοκάρδιο με αποτέλεσμα τον περιορισμό της διάτασης της αριστερής κοιλίας ([19](#), [20](#)). Οι επιδράσεις της θεωρίας αυτής φαίνεται να ασκούνται στο επικάρδιο από εξωγενείς δυνάμεις αντισταθμίζοντας την αυξημένη ενδοκαρδιακή τοιχωματική τάση.

Η κυτταρική μεταμόσχευση είναι μια καινοτόμος θεραπευτική προσέγγιση στη μυοκαρδιακή αναγέννηση, που στοχεύει στην πρόληψη της αναδιαμόρφωσης και στη βελτίωση της λειτουργικότητας της αριστερής κοιλίας ([50-52](#)). Το θεωρητικό υπόβαθρο της θεραπείας αυτής βασίζεται στην υπόθεση ότι η αύξηση του αριθμού

των λειτουργικών μυοκαρδιακών κυττάρων σε μια παθολογική περιοχή με επηρεασμένη συστολική λειτουργία μπορεί να βελτιώσει την απόδοση της περιοχής αυτής. Έτσι, η κυτταρική μεταμόσχευση έχει μελετηθεί σαν μια πιθανή νέα θεραπεία της μετεμφραγματικής καρδιακής ανεπάρκειας. Πειραματικές και κλινικές μελέτες ([50-52](#)) έδειξαν ότι μεταμοσχευμένα κύτταρα μπορούν να σχηματίσουν ένα βιώσιμο μόσχευμα μέσα στο μυοκάρδιο του ξενιστή. Παρ'όλα αυτά μένει να αποδειχθεί κατά πόσο τα κύτταρα αυτά μπορούν να διαφοροποιηθούν και να λειτουργήσουν κατάλληλα στην καρδιά μετά την μεταμόσχευσή τους. Παρά την αναφερόμενη βελτίωση στους δείκτες συσταλτικότητας, ο αρχικός ενθουσιασμός από τη χρήση της μεθόδου μειώθηκε από τα μετέπειτα πενιχρά αποτελέσματα. Τα υπάρχοντα επιστημονικά δεδομένα υποστηρίζουν ότι η κυτταρική μεταμόσχευση στην καρδιακή ανεπάρκεια μετά το έμφραγμα έχει περιορισμένη αποτελεσματικότητα ([53](#)). Σχετικά λίγες μελέτες έχουν αναφερθεί στη συνδυασμένη χρήση κυτταρικής θεραπείας και αυξητικών παραγόντων, μιας πολλά υποσχόμενης προσέγγισης.

Η κλινική χρησιμότητα της κυτταρικής θεραπείας μειώνεται λόγω τριών σημαντικών περιορισμών:

- A) μειωμένης λειτουργικής ενσωμάτωσης των κυττάρων στο μυοκάρδιο,
- B) μειωμένης επιβίωσης των κυττάρων μετά τη μεταμόσχευση, και
- Γ) θεμάτων ασφαλείας ως προς την πιθανή αρρυθμιογένεση ([54-56](#)).



Εικόνα 3. Μεταμόσχευση κυττάρων μυελού των οστών σε εμφραγματικό μυοκάρδιο (52)

Συμπερασματικά, παρά τις ευνοϊκές επιδράσεις, οι παραπάνω θεραπείες δεν μπορούν να αποκαταστήσουν πλήρως την καρδιακή λειτουργία. Ομοίως, η μεταμόσχευση κυττάρων μπορεί να έχει βραχυπρόθεσμα ευεργετικά αποτελέσματα, αλλά η μειωμένη βιωσιμότητα των κυττάρων στο κοιλιακό μυοκάρδιο περιορίζει την εφαρμογή της. Επιπλέον, η περιορισμένη ενσωμάτωση των μεταμοσχευμένων κυττάρων στην ηλεκτρική και μηχανική λειτουργία του κοιλιακού μυοκαρδίου και η δημιουργία συμπλεγμάτων με τον ουλώδη ιστό με τυχαίο προσανατολισμό, μπορεί να επιδεινώσει τις κοιλιακές αρρυθμίες και να μετριάσει το αναμενόμενο συσταλτικό όφελος.

Παρά τις σύγχρονες αυτές εξελίξεις, στη θεραπεία, τον αρνητικό αντίκτυπο του εμφράγματος του μυοκαρδίου και των δυο βασικών συνεπειών του, της χρόνιας καρδιακής ανεπάρκειας και των κοιλιακών αρρυθμιών, παραμένει και υπάρχει ανάγκη για νέες επιλογές αποτελεσματικής αντιμετώπισης. Συνεπώς, είναι απαραίτητη μια νέα θεώρηση που να συνίσταται στην εφαρμογή μιας θεραπευτικής αγωγής η οποία θα μεταβάλλει τόσο τις δομικές και ιστικές δομές του εμφραγματικού μυοκαρδίου, όσο και τις ηλεκτροφυσιολογικές ιδιότητες του παθολογικού μυοκαρδίου, μειώνοντας το υπόστρωμα για εμφάνιση κοιλιακών αρρυθμιών.

2.5 ΙΚΡΙΩΜΑΤΑ ΒΙΟΪΛΙΚΩΝ

Η εφαρμογή των βιοϋλικών στην Καρδιολογία είναι ένα νέο, πολλά υποσχόμενο πεδίο έρευνας. Η ανάπτυξη ποικίλλων βιοϋλικών παράλληλα με άλλους τομείς έρευνας, όπως η κυτταρική μεταμόσχευση, αναμένεται να συμβάλει στη θεραπεία της καρδιακής ανεπάρκειας. Η χρήση βιοϋλικών, με ή χωρίς παράλληλη κυτταρική θεραπεία μπορεί να αποτελέσει πολύτιμη θεραπεία προς την κατεύθυνση της μυοκαρδιακής αναγέννησης μετά από μυοκαρδιακή βλάβη. Τα βιοϋλικά μπορεί να έχουν αμεσότερες χρήσεις, όπως η αύξηση του πάχους της εμφραγματικής περιοχής, με αποτέλεσμα τη μείωση της τοιχωματικής τάσης, της διάτασης της εμφραγματικής περιοχής και της μεταβολής του σχήματος της αριστερής κοιλίας (57). Μελλοντική έρευνα γύρω από τις επιδράσεις των βιοϋλικών στο μικροπεριβάλλον του μυοκαρδίου, μπορεί να έχει σαν αποτέλεσμα τον εποικισμό των υλικών αυτών με αυτόχθονα καρδιακά μυοβλαστικά κύτταρα. Μία τέτοια θεραπευτική στρατηγική θα έχει σαν αποτέλεσμα τα βιοϋλικά να αποτελέσουν το ικρίωμα, που θα γίνει η βάση για την ανάπτυξη μυοκαρδιακών κυττάρων και τριχοειδών αιμοφόρων αγγείων.

Εκτός από τον τομέα της Καρδιολογίας, οι πιθανές εφαρμογές του συνδυασμού της νανοτεχνολογίας και των βιοϋλικών είναι ποικίλες και πολυδιάστατες. Η πρόοδος στην ελεγχόμενη αποδέσμευση των φαρμάκων περιλαμβάνει την ανάπτυξη συνθετικών νανοσυστημάτων για τη στοχευμένη χρονικά και τοπικά απόδοση περίπλοκων θεραπευτικών φαρμάκων και βιομορίων. Οι στόχοι της έρευνας στο πεδίο αυτό είναι η μέγιστη αποτελεσματικότητα των θεραπευτικών ουσιών, που επιτυγχάνεται με τον έλεγχο της φαρμακοκινητικής και της φαρμακοδυναμικής, ο έλεγχος της πιθανής τοξικότητας, καθώς και η ελεγχόμενη αποικοδόμηση και απομάκρυνση της φαρμακευτικής ουσίας από τον οργανισμό. Η επίτευξη των στόχων αυτών είναι δύσκολη και απαιτεί τη συνεργασία επιστημόνων διαφόρων ειδικοτήτων με ειδικές γνώσεις σε τομείς όπως η φαρμακολογία, η ιατρική, η μοριακή βιολογία και η χημεία. Η συσσώρευση τεχνογνωσίας στον τομέα των βιοϋλικών και της νανοτεχνολογίας μπορεί να τύχει εφαρμογής σε συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης που να επιτρέπουν την ελεγχόμενη, εκλεκτική και επιλεκτική

συσσώρευση και απελευθέρωση του φαρμάκου σε συγκεκριμένους στόχους, όπως για παράδειγμα σε αθηρωματικές πλάκες, ή σε καρκινικούς όγκους.

Η πιο ενδιαφέρουσα, ελπιδοφόρα και συναρπαστική πιθανή εξέλιξη των βιοϋλικών και της νανοτεχνολογίας έγκειται στη συμβολή τους στον τομέα της αναγεννητικής ιατρικής. Η νέα αυτή επιστημονική εξειδίκευση της βιοτεχνολογίας έχει ήδη εισέλθει στο στάδιο των κλινικών δοκιμών στα πεδία της μηχανικής του δέρματος, των χόνδρων, των συνδέσμων και των οστών. Προκαταρκτικές μελέτες έχουν δείξει ότι η ανάπτυξη κυττάρων σε πορώδη, βιοαποικοδομήσιμα ικρίωματα, τα οποία στη συνέχεια διαφοροποιούνται αποκτώντας τη μορφή του ιστού στον οποίο έχουν εναποτεθεί έχει σαν αποτέλεσμα την αποκατάσταση της φυσιολογικής λειτουργίας του. Μελλοντικά πεδία, εκτός της ανάπλασης του μυοκαρδίου, μπορεί να είναι η αναγέννηση ποικίλων ιστών, όπως για παράδειγμα του νευρικού ιστού ή του εντερικού επιθηλίου. Η ανάπτυξη της βιοτεχνολογίας στον τομέα της αναγεννητικής ιατρικής μπορεί να επιφέρει μελλοντικά ριζικές αλλαγές στον τρόπο αντιμετώπισης πολλών νόσων και ίσως να αποτελέσει τη μεγαλύτερη επανάσταση στον τομέα της Ιατρικής.

2.5.1 Ανάπτυξη βιολογικών ικρίωμάτων – ιστοτεχνολογία

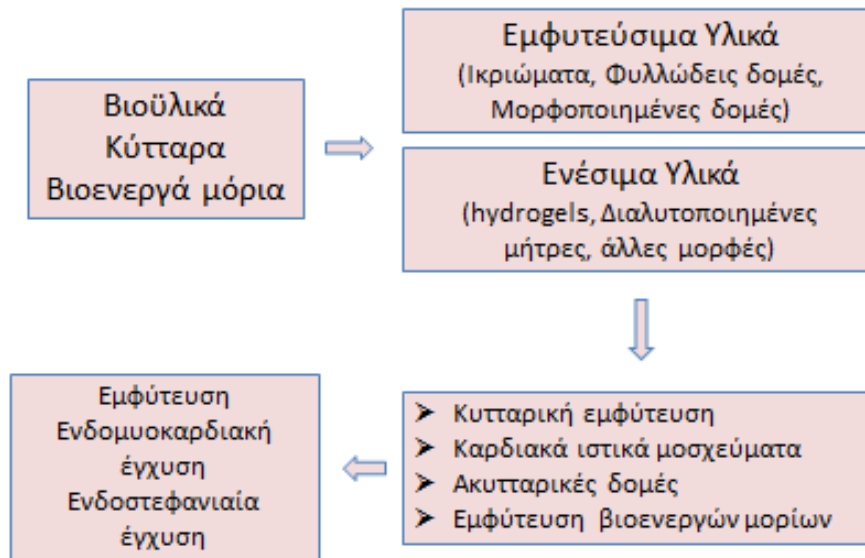
Η ιστοτεχνολογία στοχεύει στην αναγέννηση ενός ζωντανού ιστού, στην αποκατάσταση ή την επαναφορά της φυσιολογικής και αρχικής λειτουργίας ενός μερικώς ή πλήρως κατεστραμμένου ιστού ([58](#)). Είναι η τεχνική που θα βοηθήσει το οργανισμό να θεραπευτεί μέσω παροχής κατάλληλων μοριακών ερεθισμάτων, κυττάρων και δομών υποστήριξης ([59](#)). Το διεπιστημονικό αυτό πεδίο έρευνας συνδυάζει γνώσεις και εργαλεία από πολλά αντικείμενα, όπως η επιστήμη των υλικών, η τεχνολογία/μηχανική και η βιολογία. Τα βιοϋλικά και τα ικρίωματα είναι βασικά σημεία της στρατηγικής αυτής, μόνα ή σε συνδυασμό με κύτταρα και βιοενεργά μόρια. Έχουν χρησιμοποιηθεί για την αντικατάσταση του εξωκυττάριου στηρικτικού ιστού, για την ελεγχόμενη αποδέσμευση μορίων, σαν «οχήματα» ή

οδηγοί εμφύτευσης προγονικών κυττάρων, καθώς και σαν υποστηρικτική δομή ή μήτρα για την κυτταρική οργάνωση σε λειτουργικό ιστό, *in vitro* και *in vivo*. (60)

Την τελευταία δεκαετία έχουν αναπτυχθεί τέσσερις κύριες στρατηγικές στην ιστοτεχνολογία του μυοκαρδίου:

- Η πρώτη αφορά τη χρήση βιοϋλικών σαν μήτρα (οδηγό) για κυτταρική μεταμόσχευση και συγκράτηση στο εμφραγματικό μυοκάρδιο (61-63). Το βιοϋλικό (συνήθως στη μορφή του τρισδιάστατου πορώδους βιοαπορροφήσιμου ικριώματος), παρέχει μηχανική υποστήριξη του εμφραγματικού ιστού και παράλληλα δημιουργεί ένα θετικό μικροπεριβάλλον για την επιβίωση και μακροπρόθεσμη δράση των μεταμοσχευμένων κυττάρων.
- Μια δεύτερη στρατηγική είναι η *in vitro* κατασκευή καρδιακών επιθεμάτων (57). Μυοκαρδιακά κύτταρα τοποθετούνται σε βιοϋλικά διαφόρων μορφών (πορώδη συμπαγή ικριώματα, φυλλώδεις δομές ή υδροπηκτώματα). Οι κυτταρικές αυτές δομές επώάζονται με αντιδραστήρια και με φυσική διέγερση, με σκοπό την ανάπτυξη και ωρίμανση του ιστού. Όταν αυτό επιτευχθεί, τα καρδιακά επιθέματα εμφυτεύονται στο εμφραγματικό μυοκάρδιο.
- Η τρίτη στρατηγική επικεντρώνεται στη χρήση βιοϋλικών σε ακυτταρική μορφή για δομικό περιορισμό και επιδιόρθωση της ουλής, με σκοπό τη μείωση της καρδιακής αναδιαμόρφωσης και δυσλειτουργίας (64, 65). Οι περιπτώσεις αυτές παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον, λόγω της καλά καθορισμένης και χαρακτηρισμένης φύσης των τελικών προϊόντων, τη διαθεσιμότητά τους, το σχετικά μικρό κόστος (σε σχέση με τις κυτταρικές δομές) και τη μεγαλύτερη δυνατότητα κλινικής εφαρμογής τους, λόγω των ελάχιστα επεμβατικών μεθόδων τοποθέτησής τους.
- Επιπρόσθετα, στην παραπάνω στρατηγική και προς την επίτευξη της ενεργού μυοκαρδιακής αναγέννησης, η τέταρτη μέθοδος αποτελεί συνδυασμό των βιοϋλικών με βιοενεργά μόρια, στη μορφή τοπικών και ελεγχόμενων συστημάτων χορήγησης (66). Τέτοιοι συνδυασμοί προσφέρουν μηχανική υποστήριξη ενώ παράλληλα παρέχουν βιοενεργά συστατικά, ώστε να επιτευχθεί μακροχρόνια λειτουργική βελτίωση με την πρόκληση μυοκαρδιακής αναγέννησης ή/και αποτελεσματική ιστική επιβίωση.

Παραδείγματα της χρήσης των βιοϋλικών στην καρδιακή επιδιόρθωση και αναγέννηση, φαίνονται στην παρακάτω εικόνα 4.



Εικόνα 4. Η χρήση των βιοϋλικών στην ιστοτεχνολογία του μυοκαρδίου

Η χρήση ικριωμάτων βιοϋλικών για την ελεγχόμενη χορήγηση φαρμάκων ή/και βλαστοκυττάρων είναι μια πολλά υποσχόμενη στρατηγική στην ιστοτεχνολογία για την επιτυχή αποκατάσταση παθολογικού ιστού. Τα ικριώματα των βιοϋλικών μπορούν να είναι είτε *φυσικά*, είτε *συνθετικά*. Παραδείγματα ικριωμάτων φυσικών βιοϋλικών είναι βιοϋλικά με βάση τις πρωτεΐνες, όπως κολλαγόνο, ινώδες, μετάξι, ή με βάση πολυσακχαρίτες όπως αγαρόζη, αλγινικό οξύ, υαλουρονικό οξύ, χιτοζάνη. Υλικά με βάση τα πολυμερή, πεπτίδια, ή κεραμικά συγκαταλέγονται μεταξύ των ικριωμάτων συνθετικών βιοϋλικών. Γενικά, αυτά τα ικριώματα παρέχουν δομή κατάλληλη για εφαρμογές στην ιστοτεχνολογία λόγω της υψηλής βιοσυμβατότητάς τους και της ικανότητάς τους για κυτταρική προσκόλληση, διαφοροποίηση και μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων (67).

2.5.1.1 Βασικά χαρακτηριστικά σχεδιασμού βιοϋλικού για χρήση στο μυοκάρδιο

Τα βιοϋλικά που σχεδιάζονται για να χρησιμοποιηθούν στη μυοκαρδιακή επιδιόρθωση ή αναγέννηση, θα πρέπει να έχουν τα πιο κάτω χαρακτηριστικά ([68](#), [69](#)):

- ✓ Βιοσυμβατότητα: Στην ιστοτεχνολογία ο όρος αναφέρεται στην ικανότητα ενός ικρίωματος να λειτουργεί σαν υπόστρωμα που θα υποστηρίξει μια συγκεκριμένη κυτταρική δραστηριότητα, περιλαμβανομένης και της κυτταρικής μετάδοσης σήματος, προκειμένου να επιτευχθεί η ιστική αναγέννηση τοπικά ή συστηματικά. Επομένως, βιοσυμβατότητα είναι η ικανότητα ενός υλικού να προκαλεί την κατάλληλη απόκριση του ξενιστή σε συγκεκριμένη εφαρμογή.
- ✓ Μηχανική αντοχή: Ο όρος απεικονίζει κυρίως την αντοχή του υλικού στις εφαρμοζόμενες τάσεις χωρίς αυτό να καταστρέφεται. Τα ικρίωματα στην ιστοτεχνολογία πρέπει να έχουν μηχανικές ιδιότητες, ώστε να περιέχουν και να προφυλάσσουν τα κύτταρα που φέρουν και να διατηρούν τη δομή τους κάτω από μηχανικές φορτίσεις, τόσο κατά την *in vitro* προετοιμασία τους και τη διαδικασία εμφύτευσης, όσο και κατά την παραμονή τους στην περιοχή της εμφύτευσης.
- ✓ Βιοαποικοδόμηση/Βιοεπαναρρόφηση: Ιδανικά, το ικρίωμα θα πρέπει να αποδομηθεί μετά την εμφύτευση, όταν επιτευχθεί η αναγέννηση του ιστού και αποκατασταθεί η φυσιολογική λειτουργία. Τα βιοαπορροφήσιμα ικρίωματα μπορούν να το επιτύχουν αυτό μέσω πολυμερικών σκελετών που αποδομούνται (π.χ. με υδρόλυση).
- ✓ Κατασκευή βιοϋλικού: Ιδανικά η διαδικασία αυτή πρέπει να είναι ήπια, χρησιμοποιώντας ασφαλή αντιδραστήρια. Η δημιουργία διασταυρούμενων δεσμών μεταξύ πολυμερικών αλυσίδων χρησιμοποιείται συχνά στην κατασκευή υδροπηκτωμάτων από φυσικά υλικά, όπως το αλγινικό οξύ, το κολλαγόνο ή το υαλουρονικό οξύ, κλπ. Η διασταυρούμενη σύνδεση μπορεί να είναι φυσική, όπου οι πολυμερικές αλυσίδες αυτο-συναρμολογούνται με ηλεκτροστατικές επιδράσεις, υπό συγκεκριμένες θερμοκρασίες ή ακτινοβολίες, ή χημική, όπου ομοιοπολικοί δεσμοί εισάγονται μεταξύ των αλυσίδων.

✓ Εσωτερική μορφολογία του ικρίωματος: Όταν το ικρίωμα κατασκευάζεται με στόχο την ενσωμάτωση κυττάρων, το δίκτυο πρέπει να είναι πορώδες με διασυνδεόμενη δομή και μέγεθος πόρων μεγαλύτερο από 50μm, ώστε να επιτρέπει την διακυτταρική αλληλεπίδραση και τη δημιουργία αγγείωσης μετά την εμφύτευση.

2.5.1.2 Βασικές μορφές παρασκευής ικριωμάτων βιοϋλικών

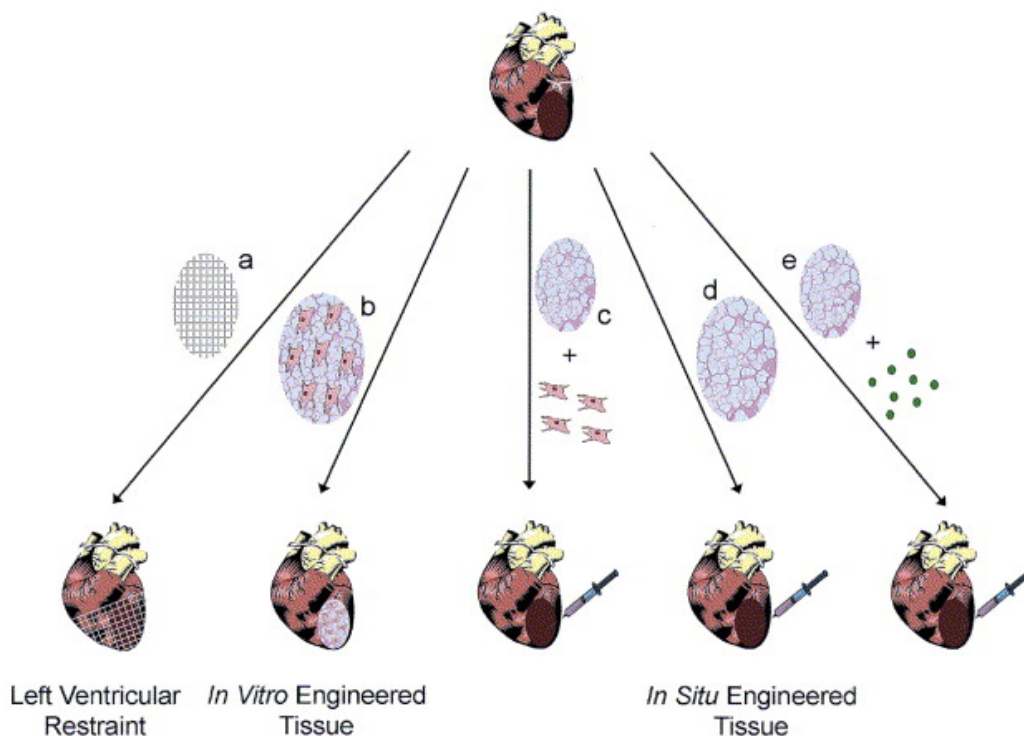
Τα ικρίωματα βιοϋλικών κατασκευάζονται σε διάφορες μορφές, σχήματα και δομές (πορώδες, μέγεθος πόρων, εσωτερική αρχιτεκτονική). Στην ιστοτεχνολογία των επιθεμάτων, με ή χωρίς ενσωμάτωση κυττάρων, οι δυο κύριες μορφές βιολογικών ικριωμάτων που χρησιμοποιούνται είναι τα υδροπηκτώματα (hydrogels) και τα πορώδη συμπαγή ικρίωματα (scaffolds).

Τα υδροπηκτώματα αποτελούνται από ένα δίκτυο πολυμερικών αλυσίδων. Τα υδροπηκτώματα είναι υπεραπορροφητικά φυσικά ή συνθετικά πολυμερή (αποτελούνται πάνω από 99% από νερό). Έχουν επίσης υψηλό βαθμό ελαστικότητας που προσομοιάζει πολύ με τη φυσική εξωκυττάρια ουσία, λόγω της μεγάλης περιεκτικότητας σε νερό. Φυσικά υδροπηκτώματα, συμπεριλαμβανομένου του κολλαγόνου, χρησιμοποιούνται εκτενώς στην ιστοτεχνολογία, λόγω της βιοσυμβατότητάς τους, ενώ τα συνθετικά υδροπηκτώματα αναπτύσσονται για να επιτρέπουν καλύτερο έλεγχο των μηχανικών ιδιοτήτων και της τελικής δομής ([70](#), [71](#)).

Τα συμπαγή ικρίωματα χαρακτηρίζονται από μεγάλο μέγεθος πόρων (διαμέτρου 50-200μm) και πορώδη μήτρα. Το μέγεθος των πόρων πρέπει να είναι τουλάχιστον 50μm, ώστε να επιτρέπει τη δημιουργία και επέκταση της αγγείωσης μετά την εμφύτευση. Το μέγεθος των πόρων, καθώς και η αρχιτεκτονική και η διασύνδεση μεταξύ τους αποτελούν σημαντικούς παράγοντες που επηρεάζουν την κυτταρική διασπορά, τη δυνατότητα εισχώρησης από τον ξενιστή και την κυτταρική οργάνωση στον ιστό ([72](#)).

2.5.2 Η θέση των βιοϋλικών στη θεραπευτική του εμφράγματος του μυοκαρδίου

Πολλές μέθοδοι έχουν αναπτυχθεί, σαν εναλλακτικές της καρδιακής μεταμόσχευσης, για τη θεραπεία της καρδιακής ανεπάρκειας. Μερικές από αυτές, είναι η κυτταρική μεταμόσχευση, η χρήση ικριωμάτων περιορισμού της αριστερής κοιλίας και οι μέθοδοι ιστοτεχνολογίας και ιστικής μηχανικής (73). Οι αρχικές μελέτες στον τομέα αυτό επικεντρώθηκαν στην έγχυση κυττάρων απευθείας στο εμφραγματικό μυοκάρδιο, μια τεχνική που ονομάστηκε κυτταρική «μυοκαρδιοπλαστική». Πιο πρόσφατες μελέτες, περιλαμβάνουν τη χρήση ιστών κατασκευασμένων *in vitro* (καλλιέργεια *in vitro* και εμφύτευση *in vivo*) και ιστών κατασκευασμένων *in situ* (μετά από απευθείας έγχυση στο μυοκάρδιο). Επίσης, έχουν χρησιμοποιηθεί πολυμερικά πλέγματα για την πρόληψη της καρδιακής αναδιαμόρφωσης και της διάτασης της αριστερής κοιλίας. Στην παρακάτω εικόνα 5 φαίνονται παραστατικά οι στρατηγικές αντιμετώπισης του εμφράγματος του μυοκαρδίου με τη χρήση βιοϋλικών.



Εικόνα 5. Θεραπευτικές στρατηγικές εφαρμογής βιοϋλικών στο έμφραγμα του μυοκαρδίου (73)

Οι θεραπευτικές στρατηγικές που απεικονίζονται στην εικόνα 5 περιλαμβάνουν:

(α) Χρήση πολυμερικών πλεγμάτων ραμμένων γύρω από το μυοκάρδιο για τον περιορισμό της αριστερής κοιλίας και τη διατήρηση της δομής των κοιλιών.

(β) In vitro κατασκευή ιστών, δηλαδή καλλιέργεια κυττάρων επάνω σε ένα βιολογικό ικρίωμα και έπειτα εμφύτευσή του στο επικάρδιο.

(γ) In situ κατασκευή ιστών, η οποία επιτυγχάνεται μέσω έγχυσης βιοϋλικού απευθείας στο μυοκάρδιο ή με τη χρήση ενέσιμου βιοϋλικού σαν φορέα κυττάρων ή θεραπευτικών παραγόντων (όπως γονιδίων ή πρωτεϊνών ή φαρμάκων).

2.5.3 Μέθοδοι που αξιολογήθηκαν στην παρούσα μελέτη

Οι μέθοδοι που αξιολογήθηκαν στην παρούσα μελέτη ήταν τόσο η κατασκευή βιοαπορροφήσιμων πολυμερικών πλεγμάτων για τοποθέτηση γύρω από το επικάρδιο των κοιλιών, όσο και η κατασκευή βιοϋλικών για απευθείας ένεση στο εμφραγματικό μυοκάρδιο της αριστερής κοιλίας, με και χωρίς την προσθήκη αυξητικού παράγοντα. Για το σκοπό αυτό επιλέχθηκαν δυο βιοϋλικά. Το πρώτο ήταν η πολυαιθυλενογλυκόλη και το δεύτερο το αλγινικό οξύ.

2.5.4 Βιολογικά ικρίωματα και αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας

Πολλές μελέτες έχουν γίνει σχετικά με την αποτροπή της αναδιαμόρφωσης και διάτασης της αριστερής κοιλίας μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου με τη χρήση βιοϋλικών που περιορίζουν την αριστερή κοιλία (74). Η ερευνητική ομάδα του Kelley πρώτη απέδειξε σε πειραματικό πρότυπο εμφράγματος του μυοκαρδίου, ότι περιορίζοντας την έκπτυξη της εμφραγματικής περιοχής μπορεί να προληφθεί η

έκπτωση της καρδιακής λειτουργίας συνολικά (18). Για το σκοπό αυτό, εμφυτεύθηκε πλέγμα πολυπροπυλενίου, το οποίο καθλώθηκε στο εμφραγματικό μυοκάρδιο. Ο μηχανικός περιορισμός του εμφραγματικού τοιχώματος οδήγησε στη διατήρηση τόσο της γεωμετρίας της αριστερής κοιλίας, όσο και της καρδιακής λειτουργίας. Οι Enomoto και συνεργάτες (75) έδειξαν ότι η κυκλοτερής εφαρμογή ικρίωματος στην αριστερή κοιλία βελτίωσε την αναδιαμόρφωση, συγκριτικά με την εφαρμογή πλέγματος, το οποίο κάλυπτε μόνο την εμφραγματική περιοχή. Ακόμη ένας τύπος περιορισμού της αριστερής κοιλίας αναπτύχθηκε από ένα πολυεστερικό πλέγμα που τοποθετείτο γύρω και από τις δυο κοιλίες. Μια μελέτη, με τη χρήση πειραματικού προτύπου χρόνιας καρδιακής ανεπάρκειας σε σκύλους, έδειξε ότι με την εφαρμογή του πλέγματος και στις δυο κοιλίες, μειώθηκε ο τελοδιαστολικός όγκος της αριστερής κοιλίας, η υπερτροφία των μυοκαρδιακών κυττάρων και η διάμεση ίνωση, ενώ αυξήθηκε η κλασματική βράχυνση (76).

Μελέτες καταγραφής σε ανθρώπους έδειξαν παρόμοια αποτελέσματα. Οι Konertz και συνεργάτες, 3 και 6 μήνες μετά την τοποθέτηση ειδικού πλέγματος (Acorn Cardiac Support Device), έδειξαν βελτίωση του κλάσματος εξώθησης και μείωση του όγκου της αριστερής κοιλίας σε 27 ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια (77). Μια άλλη μελέτη, σε 12 ασθενείς με διατακτική μυοκαρδιοπάθεια, έδειξε σταδιακή βελτίωση του όγκου και της λειτουργίας της αριστερής κοιλίας, όμως με συνοδό δυσλειτουργία της δεξιάς κοιλίας, όπως επίσης και με απουσία βελτίωσης της καρδιακής παροχής (78). Μια πολυκεντρική μελέτη σε 300 ασθενείς αρχικά έδειξε ότι η τοποθέτηση του πλέγματος περιορισμού μείωσε το τελοδιαστολικό όγκο της αριστερής κοιλίας, βελτίωσε την ποιότητα ζωής των ασθενών, και μείωσε την πιθανότητα μελλοντικών επεμβατικών πράξεων. Παρόλα αυτά, η σημαντικότητα της μελέτης αμφισβητήθηκε, λόγω της εξαίρεσης ασθενών που επιλέχθηκαν μη τυχαιοποιημένα, της επίδρασης εξωγενών παραγόντων και της μείωσης των ευεργετικών αποτελεσμάτων στους ασθενείς που παράλληλα υπεβλήθησαν σε αντικατάσταση μιτροειδούς βαλβίδας.

Συμπερασματικά, οι πειραματικές και κλινικές μελέτες δίνουν ενθαρρυντικά αποτελέσματα, αν και μεγάλο μειονέκτημα παραμένει η ανάγκη χειρουργικής επέμβασης για την τοποθέτηση του επικαρδιακού πολυμερικού περιοριστικού

πλέγματος. Εντούτοις, τα δεδομένα των κλινικών μελετών παραμένουν αντικρουόμενα σχετικά με τα ωφέλη του πλέγματος, καθώς κάποιοι δείκτες καρδιακής λειτουργίας φαίνεται να βελτιώνονται, ενώ κάποιοι άλλοι παραμένουν αμετάβλητοι ή επιδεινώνονται.

2.5.5 Βιολογικά ικρίώματα & μυοκαρδιοπλαστική

Η κυτταρική μυοκαρδιοπλαστική θεωρείται το πρώτο παράδειγμα *in situ* καρδιακής ιστοτεχνολογίας. Αυτή περιλαμβάνει τη μεταμόσχευση ζωντανών κυττάρων με σκοπό την αντικατάσταση του νεκρωμένου μυοκαρδίου. Αν και υπάρχουν ενδείξεις βελτίωσης της καρδιακής λειτουργίας με την εφαρμογή της, υπάρχουν πολλά μειονεκτήματα στη μέθοδο αυτή (79). Οι παρούσες τεχνικές μεταμόσχευσης βασίζονται στην τοποθέτηση των κυττάρων μέσω ενός υδατικού διαλύματος ενδαγγειακά, ενδοστεφανιαία ή απευθείας πάνω στο μυοκάρδιο. Έχουν όμως περιορισμένη περιορισμένη κυτταρική συγκράτηση και επιβίωση (53, 55). Σημαντικό μειονέκτημα είναι η ελλειπής αγγείωση στην εμφραγματική περιοχή, που οδηγεί σε ανεπαρκή αιματική άρδευση των εμφυτευμένων κυττάρων. Άλλα μειονεκτήματα της μεθόδου είναι η τυχαία κατανομή των κυττάρων, που έχει ενοχοποιηθεί και για την δημιουργία υποστρώματος αρρυθμιών και η έλλειψη στηρικτικού δικτύου στα κύτταρα που εμφυτεύονται σε μορφή διαλύματος. Σαν αποτέλεσμα των περιορισμών της κυτταρικής μυοκαρδιοπλαστικής, αναπτύχθηκε εναλλακτικά η χρήση ενέσιμου βιοϋλικού για την εμφύτευση των κυττάρων στο εμφραγματικό μυοκάρδιο.

Τα ενέσιμα βιοϋλικά δρουν και σαν ακυτταρική προσέγγιση στην υποστήριξη του τοιχώματος της αριστερής κοιλίας και στην πρόληψη της αρνητικής αναδιαμόρφωσης μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου, ή και σαν φορείς ελεγχόμενης αποδέσμευσης θεραπευτικών γονιδίων ή πρωτεϊνών στο ισχαιμικό μυοκάρδιο. Μία ενέσιμη θεραπεία είναι ελάχιστα επεμβατική και σαφώς κλινικά προτιμότερη από την εμφύτευση *in vitro* κατασκευασμένων ιστών ή επικαρδιακών επιθεμάτων. Η ομάδα του Christman ήταν οι πρώτοι που έδειξαν βελτίωση της κυτταρικής επιβίωσης μετά από εμφύτευση κυττάρων στο μυοκάρδιο με ένα ενέσιμο βιοϋλικό,

αντί της γνωστής έως τότε μυοκαρδιοπλαστικής (80). Το ενέσιμο βιοπολυμερές έδειξε επίσης ότι προκαλεί νεοαγγείωση στο ισχαιμικό μυοκάρδιο και, με αυτό το μηχανισμό, αμβλύνει την έκπτυξη της εμφραγματικής περιοχής (81).

Έχουν χρησιμοποιηθεί και άλλα βιολογικά υλικά στην ιστοτεχνολογία του μυοκαρδίου *in situ*. Η ενέσιμη μορφή κολλαγόνου εξετάσθηκε σαν ακυτταρική μορφή θεραπείας και δείχθηκε βελτίωση της γεωμετρίας της αριστερής κοιλίας και της καρδιακής λειτουργίας, χωρίς αυξημένη αγγείωση, συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου (82). Η ερευνητική ομάδα του Leor έδειξε βελτίωση της λειτουργίας της αριστερής κοιλίας και εμφάνιση νεοαγγείωσης με τη χρήση ενέσιμης μορφής αλγινικού οξέος σε ενδομυοκαρδιακές εγχύσεις (83).

Η τυπική ιστοτεχνολογία περιλαμβάνει ικριώματα βιοϋλικών με ενσωμάτωση κυττάρων. Έχει διαπιστωθεί, όμως, ότι τα βιοϋλικά αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν και σαν φορείς θεραπευτικών γονιδίων ή ουσιών/πρωτεϊνών, προκειμένου να διεγείρουν την ιστική αναγέννηση. Η ομάδα του Iwakura χρησιμοποίησε ενέσιμα μικροσφαιρίδια ζελατίνης με ενσωματωμένο ιστικό αυξητικό παράγοντα ινοβλαστών και έδειξε τόσο αυξημένη αγγειογένεση, όσο και βελτίωση της καρδιακής λειτουργίας (84). Παρόμοια αποτελέσματα στην αγγειογένεση είχε και η χρήση πλασμιδίου (85). Μια άλλη μελέτη, χρησιμοποίησε αυτοσυνθέσιμα πεπτίδια σαν φορέα για τον αυξητικό παράγοντα των αιμοπεταλίων (86). Σε αυτή, φάνηκε ότι η συνδυασμένη θεραπεία παρατεταμένης χορήγησης για 14 ημέρες στο εμφραγματικό μυοκάρδιο είχε κυτταροπροστατευτική δράση και διατήρησε τη συστολική λειτουργία της αριστερής κοιλίας, σε σύγκριση με τα πεπτίδια ή τον αυξητικό παράγοντα μεμονωμένα, ενώ παράλληλα μείωσε και την έκπτυξη της εμφραγματικής περιοχής. Κατά συνέπεια, **ενσωματώνοντας έναν θεραπευτικό παράγοντα σε ένα βιοϋλικό, μπορεί να επιτευχθεί τόσο η τοπική χορήγηση, όσο και η μακροχρόνια αποδέσμευση του.**

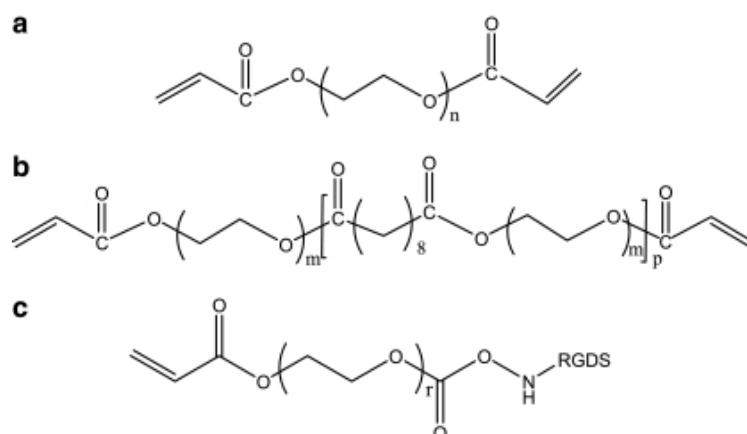
Συνοψίζοντας τα παραπάνω φαίνεται ότι, το αλγινικό οξύ, το κολλαγόνο και το ινώδες έχουν δώσει πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα στην κυτταρική μεταμόσχευση και την αναγέννηση του μυοκαρδίου. Η διάρκεια της ευεργετικής αυτής δράσης τους σε βάθος χρόνου μένει να αποδειχθεί σε περαιτέρω μελέτες. Η επιλογή του βιολογικού ικριώματος και των ιδιοτήτων του πρέπει να εξετάζονται

διεξοδικά, ανάλογα με τις επιθυμητές ιδιότητες και τα βασικά χαρακτηριστικά του, όπως αναλύθηκαν πιο πάνω. Έτσι, στην παρούσα διατριβή επιλέχθηκαν και εξετάστηκαν *in vivo* ικρίώματα με βάση την πολυαιθυλενογλυκόλη και το αλγινικό οξύ.

2.5.6 Ικρίώματα πολυαιθυλενογλυκόλης και σεβακικού οξέος (PEGSDA)

Τα τελευταία χρόνια, τα υδροπηκτώματα, λόγω της εξαιρετικής τους βιοσυμβατότητας, έχουν προσελκύσει μεγάλο ενδιαφέρον ως ικρίώματα της ιστοτεχνολογίας και ως μέσο ελεγχόμενης αποδέσμευσης φαρμάκων. Μεγάλη ποικιλία από συνθετικά υδροπηκτώματα έχουν αναπτυχθεί και χρησιμοποιηθεί σε εφαρμογές ιστοτεχνολογίας. Βιοδιασπώμενα υδροπηκτώματα βασισμένα στην πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG) και στο πολυ (α-υδροξυ οξύ) διακρυλικών μακρομορίων, όπως και συνθετικά βιοδιασπώμενα υδροπηκτώματα με διαφορετικές χημικές δομές και διαφορετικές ιδιότητες συγκρινόμενα με τα υπάρχοντα, όπως το διακρυλικό PEG (PEGDA) έχουν επίσης αναπτυχθεί και χρησιμοποιούνται ευρέως ([71](#), [87](#)).

Η πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG) ή στην υψηλού μοριακού βάρους μορφή της - πολυαιθυλενοξείδιο (PEO), μπορεί να χαρακτηριστεί ως υδροπήκτωμα ιδιαίτερα όταν οι αλυσίδες διασταυρώνονται ([87](#)). Η χαμηλή αντιδραστικότητα της πολυαιθυλενογλυκόλης με τους ζωντανούς οργανισμούς έγινε γνωστή το 1944, όταν εξετάστηκε ως πιθανό μέσο ενδοφλέβιας χορήγησης λιποδιαλυτών ορμονών. Στα μέσα της δεκαετίας του 1970, ο Abuchowski ανακάλυψε ότι, αν οι αλυσίδες της PEG προσκολληθούν σε ένζυμα και πρωτεΐνες, τα τελευταία μπορούν να έχουν μεγαλύτερο χρόνο παραμονής *in vivo* από ότι τα βιομόρια που δεν θα έχουν προσκολληθεί σε PEG ([70](#)).



Εικόνα 6. Χημικές δομές πολυαιθυλενογλυκόλης (PEG) - χημική ένωση με επαναλαμβανόμενες μονάδες αιθυλενογλυκόλης. α) διακρυλική πολυαιθυλενογλυκόλη (PEGDA). β) PEGDA με σεβακικό οξύ (PEGSDA). γ) ακρυλικό PEG-RGDS. (87)

Για πιο εκτενή χρήση των συμβατικών υδροπηκτωμάτων βασισμένων στην πολυαιθυλενογλυκόλη πρέπει να ληφθεί υπόψιν η έλλειψη μηχανικής αντοχής και βιοδιάσπασης σε μια χρονική κλίμακα. Για παράδειγμα, το PEGDA χρησιμοποιείται μεν ευρέως, αλλά εμφανίζει χαμηλή μηχανική αντοχή και θεωρείται μη βιοδιασπώμενο (87). Η μηχανική αντοχή των υδροπηκτωμάτων είναι μια από τις βασικές ιδιότητες που πρέπει να βελτιωθεί, διότι συχνά αποτυγχάνουν να διατηρήσουν την ακεραιότητα της δομής τους κατά τη διάρκεια διεργασίας αναγέννησης του ιστού, όπως αγγειακών μοσχευμάτων και οστών, ενώ επίσης εμφανίζουν σημαντικές δυσκολίες στο χειρισμό. Επιπλέον, η βελτιωμένη μηχανική αντοχή είναι ιδιαίτερα επιθυμητή για την κατασκευή τρισδιάστατων ικριωμάτων (71, 87).

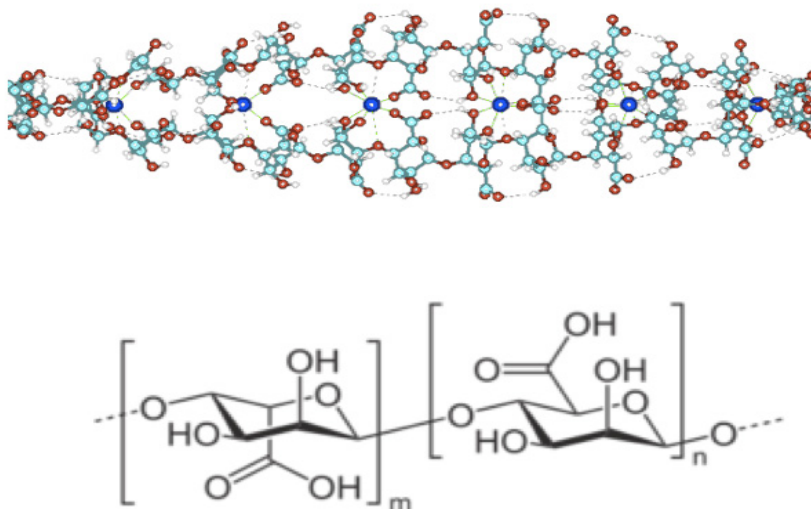
Η εισαγωγή δικαρβοξυλικών οξέων στη συμβατική κύρια αλυσίδα των hydrogel (όπως η PEG) μπορεί να ελέγξει τις μηχανικές ιδιότητες, τη συμπεριφορά τους στη διόγκωση και την αποδόμησή τους. Μεταξύ των υπαρχόντων μονομερών διοξέων στη φαρμακευτική αγορά, **επιλέχθηκε το σεβακικό οξύ, λόγω της εξαιρετικής βιοσυμβατότητας και των εφαρμογών στη χορήγηση φαρμάκων.** Επίσης, το σεβακικό οξύ είναι εύκολα διαθέσιμο, μικρού κόστους και, ως υδροφοβικό στοιχείο, εμποδίζει την υπερβολική απορρόφηση νερού στο δίκτυο του πολυμερούς, όπως συμβαίνει στα περισσότερα υδροπηκτώματα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να

μειωθεί η διόγκωση και να ενισχυθούν οι μηχανικές ιδιότητες. Η ενσωμάτωση του σεβακικού οξέος κάνει το υδροπήκτωμα βιοδιασπώμενο σε μία ωφέλιμη χρονική κλίμακα, μέσω της υδρόλυσης της εστερικής σύνδεσης μεταξύ του σεβακικού οξέος και της PEG (71). Πριν τη χρήση, το μακρομόριο είναι σε θερμοκρασία δωματίου σε μορφή λευκής σκόνης, διαλυτής στο νερό, και έτσι μπορεί να δράσει ως υδροπήκτωμα με την κατάλληλη δικτύωση.

2.5.7 Ικρίωματα αλγινικού οξέος (Alginate)

Η δεύτερη κατηγορία υδροπηκτωμάτων που συντέθηκαν στα πλαίσια αυτής της μελέτης ήταν ένα hydrogel με βάση το αλγινικό οξύ. Το αλγινικό οξύ είναι ένας φυσικός πολυσακχαρίτης ο οποίος βρίσκεται στα άλγη. Είναι ένα γραμμικό 1,4 διασταυρωμένο συμπολυμερές αποτελούμενο από τα μονομερή β-D μαννουρονικού οξέος (β-D mannuronic acid) (σύμβολο M) και α-L-γουλουρονικού οξέος (α-L-guluronic acid) (σύμβολο G). Αυτά τα μονομερή διευθετούνται ως αλληλουχίες σε αλυσίδα, επομένως η κάθε δομική μονάδα (M, G και MG block) εναλλάσσεται της άλλης με τυχαίο τρόπο (...GGGGMMMMGMGGGGMMMMGMGMGMGMGMGMGMGGGGMG...), σχηματίζοντας την πολυμερική αλυσίδα του αλγινικού οξέος.

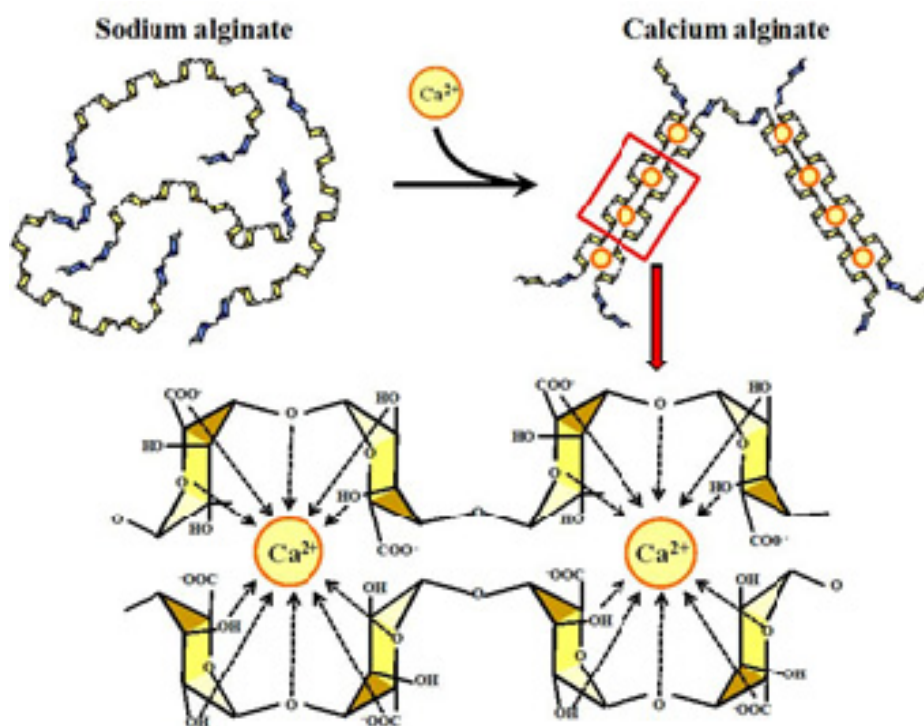
Η σύνθεση, η διάταξη και το μοριακό βάρος καθορίζουν τις φυσικές ιδιότητες των αλγινικών οξέων. Το αλγινικό οξύ χρησιμοποιείται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων και φαρμάκων και ως μήτρα για ακινητοποίηση φαρμάκων, μακρομορίων και βιολογικών κυττάρων, λόγω της βιοσυμβατότητας και της αφθονίας του (88, 89). Ένα gel αλγινικού οξέος μπορεί να παραχθεί με την παρουσία δισθενών κατιόντων (όπως Ca^{2+} , Ba^{2+} ή Sr^{2+}). Η ζελατινοποίηση συμβαίνει όταν τα δισθενή κατιόντα λαμβάνουν μέρος στην ιονική δέσμευση μεταξύ των block του γουλουρονικού οξέος (G block) στην πολυμερική αλυσίδα, δημιουργώντας ένα τρισδιάστατο δίκτυο. Τέτοιες ζώνες δέσμευσης ανάμεσα στα G blocks συχνά αναφέρονται ως “egg boxes” (90).



Εικόνα 7. Άνω μέρος: “egg boxes”. Κάτω μέρος: Χημικός τύπος alginate.

Πηγή: National Yang Ming University-Taipei project

(<http://2013.igem.org/Team:NYMU-Taipei/Project/Enter>)



Εικόνα 8. Ζελατινοποίηση μεταξύ των G block του αλγινικού οξέος και των ιόντων Ca^{2+} . Μοντέλο “egg box”. (90)

Η διαδικασία της παρασκευής ενός gel εξαρτάται σε υψηλό βαθμό από τη διάχυση των ιόντων ζελατινοποίησης (gelling ions) στο πολυμερικό δίκτυο. Έτσι, υπάρχουν δύο μέθοδοι παρασκευής του gel του αλγινικού οξέος ([88](#), [89](#)): α) η μέθοδος διάλυσης/διάχυσης και β) η εσωτερική μέθοδος ζελατινοποίησης.

Στη μέθοδο διάλυσης/διάχυσης, τα ιόντα ζελατινοποίησης (gelling ions) διαχέονται με υψηλή ταχύτητα στο διάλυμα του αλγινικού οξέος. Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιείται περισσότερο στον τομέα της βιοτεχνολογίας για την ακινητοποίηση κυττάρων στο gel του αλγινικού οξέος. Η υψηλή αυτή ταχύτητα διάχυσης χρησιμοποιείται για σκοπούς ακινητοποίησης, όπου κάθε σταγόνα και διάλυμα αλγινικού οξέος δημιουργούν ένα ενιαίο gel, που παγιδεύει το ενεργό βιολογικό υλικό (active biological material). Ένα σημαντικό μειονέκτημα της μεθόδου αυτής είναι ότι το τελικό gel μπορεί να εμφανίσει ανομοιογενή κατανομή αλγινικού οξέος, διότι η συγκέντρωση του αλγινικού οξέος μειώνεται σταδιακά προς το κέντρο του gel. Όμως, η ανομοιογένεια αυτή μπορεί εν μέρει να διορθωθεί. Ο υψηλός βαθμός ανομοιογένειας εμφανίζεται λόγω της χαμηλής συγκέντρωσης ιόντων ζελατινοποίησης και της απουσίας ιόντων μη-ζελατινοποίησης (non-gelling ions). Επομένως, μεγαλύτερος βαθμός ομοιογένειας επιτυγχάνεται όταν το gel παράγεται παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων, τόσο ιόντων ζελατινοποίησης, όσο και ιόντων μη-ζελατινοποίησης.

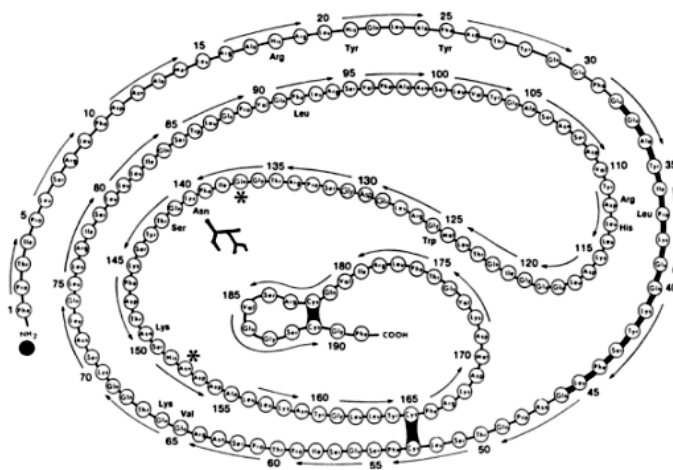
Το διάλυμα αλγινικού οξέος, μπορεί επίσης να στερεοποιηθεί με τη μέθοδο της εσωτερικής ζελατινοποίησης (*in situ* gelling). Άλατα ασβεστίου με περιορισμένη διαλυτότητα αναμειγνύονται με διάλυμα αλγινικού οξέος μέσα στο οποίο τα ιόντα ασβεστίου απελευθερώνονται, συνήθως από τη δημιουργία όξινου pH με τη χρήση ενός οξέος που ενεργεί αργά (όπως D-glucono-δ-lactone (GDL)). Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην προσθήκη ανενεργής μορφής του δισθενούς ιόντος (Ca^{2+}) σε διάλυμα αλγινικού οξέος. Η ελεγχόμενη απελευθέρωση γίνεται συνήθως από την αλλαγή του pH ή από την περιορισμένη διαλυτότητα της πηγής του άλατος ασβεστίου ([88](#), [89](#), [91](#)).

2.6 ΑΥΞΗΤΙΚΗ ΟΡΜΟΝΗ

2.6.1 Δομή και λειτουργία της αυξητικής ορμόνης

Η αυξητική ορμόνη ή σωματοτροπίνη είναι μια πρωτεϊνική ορμόνη στον άνθρωπο και τα ζώα, που προάγει την ανάπτυξη, τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των κυττάρων. Η ορμόνη αυτή παράγεται στον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης, μετά από διέγερσή του από την εκλυτική ορμόνη της αυξητικής ορμόνης (GHRH) που παράγεται στον υποθάλαμο. Αναταλτική δράση στην παραγωγή της αυξητικής ορμόνης έχει η ανασταλτική ορμόνη της αυξητικής ορμόνης (GHIH), καθώς και η σωματοστατίνη.

Είναι ένα μόριο πρωτεΐνης, που αποτελείται από 191 αμινοξέα σε απλή αλυσίδα και έχει μοριακό βάρος περίπου 22000. Το μόριο της συγκροτείται από τέσσερις έλικες οι οποίες συνδέονται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς σχηματίζοντας έτσι την κατάλληλη δομή ώστε να είναι εφικτή η σύνδεση με τον υποδοχέα της ([92](#)).



Εικόνα 9. Η δομή της αυξητικής ορμόνης ([92](#))

Η αυξητική ορμόνη προκαλεί αύξηση όλων σχεδόν των ιστών του σώματος. Προάγει την μεταβολή του μεγέθους των κυττάρων και την μίτωση, με αποτέλεσμα την αύξηση του όγκου και του αριθμού των κυττάρων. Επίσης, προκαλεί ειδική διαφοροποίηση ορισμένων τύπων κυττάρων, όπως τους οστεοβλάστες και τους

μυοϊνοβλάστες. Εκτός από τη γενική της αυτή επίδραση, η αυξητική ορμόνη εξασκεί και πολλές ειδικές μεταβολικές επιδράσεις και ιδιαίτερα:

- 1) αυξάνει το ρυθμό σύνθεσης πρωτεϊνών σε όλα τα κύτταρα,
- 2) αυξάνει την κινητοποίηση λιπαρών οξέων από το λιπώδη ιστό και τη χρησιμοποίησή τους για την παραγωγή ενέργειας και
- 3) περιορίζει το ρυθμό χρησιμοποίησης γλυκόζης από ολόκληρο το σώμα.

Με τις δράσεις αυτές, η αυξητική ορμόνη, αυξάνει τις πρωτεΐνες, ευνοεί τη χρησιμοποίηση των αποθεμάτων λίπους και εξοικονομεί υδατάνθρακες (9).

Ο κύριος μηχανισμός δράσης της αυξητικής ορμόνης, εκτός από τις απευθείας επιδράσεις της στα όργανα στόχους, επιτυγχάνεται μέσω των **σωματομεδινών**. Η αυξητική ορμόνη διεγείρει την έκκριση των σωματομεδινών, μιας ομάδας ορμονών που προάγουν την κυτταρική αύξηση και διαίρεση. Ανοίκουν στην ίδια οικογένεια με την αυξητική ορμόνη και έχουν παρόμοιες δράσεις. Επιπρόσθετα, οι σωματομεδίνες διεγείρουν την παραγωγή της σωματοστατίνης, η οποία αναστέλλει την παραγωγή αυξητικής ορμόνης. Έτσι, τα επίπεδα των σωματομεδινών στο πλάσμα, ελέγχονται με αρνητική ανατροφοδότηση από την αυξητική ορμόνη και τη σωματοστατίνη. Οι σωματομεδίνες παράγονται σε πολλά μέρη του σώματος και έχουν ενδοκρινείς, παρακρινείς και αυτοκρινείς δράσεις, με το κυριότερο όργανο παραγωγής τους το ήπαρ (93). Υπάρχουν τρία είδη σωματομεδινών: α) η σωματομεδίνη Α, γνωστή ως ινσουλινόμορφος αυξητικός παράγοντας-2 (IGF-2), β) η σωματομεδίνη Β, που προέρχεται από τη βιτρονεκτίνη, και γ) η σωματομεδίνη C, πιο γνωστή ως ινσουλινόμορφος αυξητικός παράγοντας-1 (IGF-1).

2.6.2 Αυξητική ορμόνη και καρδιαγγειακό σύστημα

Ο πολύ σημαντικός ρόλος του άξονα αυξητικής ορμόνης/ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα-1 στην ανάπτυξη του μυοκαρδίου έχει αποδειχθεί σε μεγάλο αριθμό μελετών. Αυτές αφορούσαν κλινικές παρατηρήσεις, τόσο σε ασθενείς που

έπασχαν από υπερέκκριση αυξητικής ορμόνης (ακρομεγαλία), όσο και σε εκείνους με μειωμένη έκκριση αυξητικής ορμόνης από την υπόφυση (υποφυσιακή ανεπάρκεια), αλλά και σε πειραματικά δεδομένα. Και οι δύο καταστάσεις, τόσο της υπερέκκρισης, όσο και την έλλειψης αυξητικής ορμόνης, έχουν συσχετισθεί με αυξημένη θνητότητα, λόγω των πολλαπλών καρδιαγγειακών επιπλοκών τους.

Στις περιπτώσεις μειωμένης έκκρισης αυξητικής ορμόνης από την υπόφυση, οι επιδράσεις στο μυοκάρδιο μπορεί να συνδέονται με την ηλικία εμφάνισης της νόσου, τα δεδομένα, όμως είναι αντικρουόμενα. Όταν αυτή εμφανίζεται στην ενήλικη ζωή παρατηρείται, σε κάποιες περιπτώσεις μειωμένη μάζα της αριστερής κοιλίας και έχει συνδεθεί με υψηλή επίπτωση καρδιαγγειακής νόσου σε γυναίκες με υποφυσιακή ανεπάρκεια (94). Εάν η νόσος εμφανιστεί στην παιδική ηλικία παρουσιάζεται σημαντική μείωση της μυοκαρδιακής μάζας, με χαρακτηριστικά μειωμένο πάχος τοιχώματος. Στον αντίποδα, η ερευνητική ομάδα του Longobardi (95) έδειξε ότι το κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας ήταν μειωμένο κατά 17% στην ηρεμία, και κατά 29% στην άσκηση, σε ενήλικες και παιδιά κάτω των 40 ετών με έλλειψη αυξητικής ορμόνης, σε σύγκριση με όμοιες ηλικιακά ομάδες υγιών ατόμων. Εν τούτοις, δεν βρέθηκαν διαφορές ανάμεσα σε παιδιά και ενήλικες. Επιπρόσθετα, σε μια συγκριτική μελέτη μεταξύ ασθενών με έλλειψη αυξητικής ορμόνης (χωρίς να λαμβάνουν αγωγή υποκατάστασης) και υγιών ατόμων, αποδείχθηκε ότι οι ασθενείς είχαν σημαντικά αυξημένη συμπαθητική διέγερση μυϊκών κυττάρων σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Το εύρημα αυτό συνηγορεί υπέρ της ανάπτυξης δευτερογενούς υπέρτασης, καθώς και αύξησης της καρδιαγγειακής θνητότητας στην ομάδα αυτή (96).

Ανεξάρτητα από την ηλικία εμφάνισης της, η υποφυσιακή ανεπάρκεια χαρακτηρίζεται από διάφορες διαταραχές που σχετίζονται με αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο, όπως αλλαγές στη σωματική διάπλαση, διαταραχές των λιπιδίων, αντίσταση στην ινσουλίνη, μεταβολές του ενδοθηλίου και αθηροσκλήρωση, μείωση της μάζας του μυοκαρδίου και διαταραχές της συστολικής απόδοσης του μυοκαρδίου στην άσκηση. Στις περιπτώσεις ασθενών που λαμβάνουν θεραπεία υποκατάστασης με αυξητική ορμόνη, παρατηρείται βελτίωση της καρδιακής λειτουργίας, ενώ με την εξατομίκευση της αγωγής αποφεύγεται η πιθανότητα μυοκαρδιακής υπερτροφίας. Βραχυπρόθεσμες μελέτες, καθώς και μελέτες με

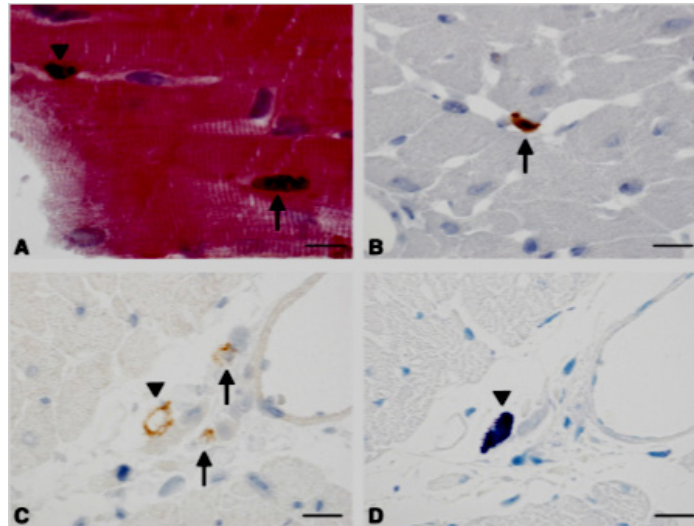
εικονικό φάρμακο έδειξαν ότι η θεραπεία υποκατάστασης με αυξητική ορμόνη σε ενήλικες ασθενείς με υποφυσιακή ανεπάρκεια, έχει αναβολική επίδραση στη δομή του μυοκαρδίου, με αποτέλεσμα τη βελτίωση τόσο της διαστολικής, όσο και της συστολικής απόδοσής του ([97](#), [98](#)). Μια προοπτική μελέτη από την ερευνητική ομάδα του Boschetti ([99](#)) σε 14 ασθενείς με έλλειψη αυξητικής ορμόνης, δεν φάνηκε καμία αλλαγή στο αυτόνομο νευρικό σύστημα μετά από θεραπεία με αυξητική ορμόνη για 12 μήνες, αλλά μειώθηκε αξιοσημείωτα ο καρδιαγγειακός κίνδυνος.

Η επίδραση της αυξητικής ορμόνης στο μυοκάρδιο είναι πιο δύσκολο να προσδιοριστεί στην περίπτωση της υπερέκκρισής της, καθώς σε αυτή την περίπτωση η νόσος συνοδεύεται από συστηματική υπέρταση, αντίσταση στην ινσουλίνη/σακχαρώδη διαβήτη, δυσλιπιδαιμία και στεφανιαία νόσο, παθήσεις που επηρεάζουν το μυοκάρδιο. Επομένως, οι επιπλοκές από το καρδιαγγειακό σύστημα είναι πολλές στους ασθενείς με ακρομεγαλία. Ο κίνδυνος στεφανιαίας νόσου είναι αυξημένος, λόγω των δομικών αλλαγών που παρατηρούνται στο αγγειακό ενδοθήλιο. Όμως, τα δεδομένα αναφορικά με τις καρδιαγγειακές επιπλοκές της υπερέκκρισης αυξητικής ορμόνης όσον αφορά στην αθηροσκλήρωση, είναι αλληλοσυγκρουόμενα, λόγω των πολλών παραγόντων που παρεμβαίνουν. Πρόσφατες κλινικές μελέτες έδειξαν ότι ασθενείς με ακρομεγαλία δεν έχουν αυξημένο επιπολασμό στεφανιαίας νόσου ([100](#)), αθηροσκλήρωσης και πάχους έσω χιτώνα καρωτίδων σε σχέση με υγιή ομάδα ελέγχου ([101](#)).

Έχει αναφερθεί ότι τα μακροχρόνια αυξημένα επίπεδα αυξητικής ορμόνης και ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα-1, οδηγούν σε «μυοκαρδιοπάθεια της ακρομεγαλίας», που χαρακτηρίζεται από συγκεντρική αμφικοιλιακή υπερτροφία, διαστολική δυσλειτουργία και προοδευτική έκπτωση της συστολικής απόδοσης, με επακόλουθο την καρδιακή ανεπάρκεια ([102](#)). Με την έγκαιρη αντιμετώπιση της νόσου, επιτυγχάνεται μείωση της υπερτροφίας της αριστερής κοιλίας και βελτίωση της λειτουργικότητας του μυοκαρδίου ([103](#)).

Το 1989, οι πρώτες *in vitro* πειραματικές μελέτες κατέδειξαν την ύπαρξη των υποδοχέων της αυξητικής ορμόνης στο μυοκάρδιο και προσδιόρισαν τον αριθμό τους στο κάθε όργανο, βάζοντας την καρδιά στη δεύτερη θέση μετά το ήπαρ. Παράλληλα, αποδείχθηκε ότι το γονίδιο του υποδοχέα αυτού εκφράζεται σε μεγαλύτερη έκταση

στο μυοκάρδιο σε σχέση με τους υπόλοιπους ιστούς ([104](#)). Επίσης, μια επιπλέον δράση της αυξητικής ορμόνης στο μυοκάρδιο γίνεται μέσω του IGF-1, ο οποίος συνδεόμενος με του εκλεκτικούς υποδοχείς του στα μυοκαρδιακά κύτταρα, αυξάνει την πρωτεϊνοσύνθεση, τη συγκέντρωση των μυοϊνιδίων και αυξάνει το μέγεθός τους. Μια σημαντική *in vivo* πειραματική μελέτη ήταν αυτή των Cittadini και συν., στην οποία χορηγήθηκε σε φυσιολογικούς ενήλικους επίμυες αυξητικής ορμόνης (3,5mg/kg/d) ή IGF-1 (3mg/kg/d) ή συνδυασμός τους για τέσσερις εβδομάδες ([37](#)). Τα αποτελέσματα μελέτης αυτής έδειξαν ότι μετά από τέσσερις εβδομάδες χορήγησης, οι επίμυες και των τριών ομάδων παρουσίασαν σημαντική αύξηση του βάρους της αριστεράς κοιλίας, συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου. Η υπερηχοκαρδιογραφική μελέτη έδειξε αύξηση του πάχους του τοιχώματος της αριστεράς κοιλίας και στις τρεις ομάδες, σε αντίθεση με την ομάδα ελέγχου, η οποία παρουσίασε παράλληλα σημαντικά αυξημένες διαστάσεις αριστεράς κοιλίας. Η ερευνητική ομάδα του Bruel ([105](#)) μελέτησε την επίδραση της αυξητικής ορμόνης στο κολλαγόνο της αριστεράς κοιλίας σε φυσιολογικούς επίμυες. Μετά από 80 ημέρες χορήγησης, παρατηρήθηκε αύξηση του βάρους των κοιλιών, καθώς και αύξηση του συνολικού κολλαγόνου, αλλά μείωση της σχετικής συγκέντρωσής του, ενώ η σύνθεση των ινών κολλαγόνου στο κοιλιακό μυοκάρδιο δεν διέφερε από αυτή της ομάδας ελέγχου. Φαίνεται, δηλαδή, ότι **η χορήγηση αυξητικής ορμόνης οδηγεί σε μια φυσιολογική υπερτροφία του μυοκαρδίου, χωρίς την προαγωγή της ίνωσης**. Πιο πρόσφατα, η ίδια ερευνητική ομάδα, μελετώντας την επίδραση της αυξητικής ορμόνης στα μυοκαρδιακά κύτταρα και τα αγγεία του μυοκαρδίου, έδειξε ότι με τη χορήγησή της τα μυοκαρδιακά κύτταρα επανεισέρχονται στον κύκλο πολλαπλασιασμού, διαιρούνται, αυξάνοντας τον αριθμό τους και το αποτέλεσμα αυτό αυξάνεται εκθετικά με την πάροδο του χρόνου ([106](#), [107](#)). Τα αποτελέσματα αυτά προέκυψαν με τη χρήση διαφόρων χρώσεων, όπως φαίνεται στην εικόνα 10.



Εικόνα 10. Ιστολογικές τομές μυοκαρδίου επίμυος. Α. Ki-67 θετικά κύτταρα: μυοκαρδιακό (βέλος), μη μυοκαρδιακό (κεφαλή βέλους). Β. Θετικά caspase-3 κύτταρα: μη μυοκαρδιακά (βέλος). C.+ D. Συνεχόμενες τομές. Τρία κύτταρα c-kit θετικά (βέλη εικόνας C) και ένα μαστοκύτταρο (κεφαλή βέλους εικόνας D).

(107)

2.6.3 Αυξητική ορμόνη και έμφραγμα του μυοκαρδίου

Ο άξονας της αυξητικής ορμόνης ενεργοποιείται νωρίς μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου, ειδικά σε ασθενείς με εκτεταμένη μυοκαρδιακή βλάβη (46). Πολλές μελέτες έχουν δημοσιευθεί αναφορικά με την επίδραση της χορήγησης αυξητικής ορμόνης, ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα-1 ή και συνδυασμού τους σε πειραματικά προκληθέν έμφραγμα μυοκαρδίου και καρδιακή ανεπάρκεια. Μία από τις πρώτες (χρονικά) μελέτες (το 1990) σε επίμυες μετά από απολίνωση της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας έδειξε ευεργετικά αποτελέσματα της αυξητικής ορμόνης στην εμφάνιση κοιλιακών ανευρυσμάτων και στην έκταση της μυοκαρδιακής νέκρωσης (108). Ακολούθησαν πολλές ερευνητικές ομάδες, οι οποίες εξέτασαν την δράση της αυξητικής ορμόνης ή/και του ινσουλινόμορφου παράγοντα-1 σε πειραματικά πρότυπα καρδιακής ανεπάρκειας.

Με τη χρήση του πειραματικού προτύπου καρδιακής ανεπάρκειας σε επίμυες, με απολίνωση της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας, φάνηκε ότι η χορήγηση αυξητικής ορμόνης και ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα-1 αύξησε τον όγκο παλμού και την καρδιακή παροχή (109). Σε άλλη μελέτη, η χορήγηση αυξητικής ορμόνης σε επίμυες μετά από πρόκληση εμφράγματος του μυοκαρδίου είχε ως αποτέλεσμα την βελτίωση της επιβίωσης, μέσω της μειωμένης κυτταρικής απόπτωσης και της παθολογικής αναδιαμόρφωσης του υγιούς, μη εμφραχθέντος, μυοκαρδίου (34). Ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα ήταν η μελέτη των Jin και συν. (110), οι οποίοι χορήγησαν αυξητική ορμόνη για δυο εβδομάδες αμέσως μετά την πρόκληση εμφράγματος του μυοκαρδίου σε επίμυες. Τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση της έκτασης εμφράγματος κατά 18%, καθώς και αύξηση της επιβίωσης κατά 36% μετά από 52 εβδομάδες θεραπείας. Παράλληλα, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της έκφρασης του κοιλιακού νατριουρητικού πεπτιδίου, βαρειών αλυσίδων β-μυοσίνης, α-ακτίνης λείων μυϊκών ινών, κολλαγόνου I και III, ινωδονεκτίνης και προφλεγμονωδών κυταροκινών. Θετικά αποτελέσματα είχε ακόμη μια μελέτη σε εμφραγματικούς επίμυες, όπου η χορήγηση αυξητικής ορμόνης (με έναρξη ένα μήνα μετά την απολίνωση της στεφανιαίας αρτηρίας) συγκρίθηκε με εικονικό φάρμακο. Στην ομάδα της αυξητικής ορμόνης παρατηρήθηκε μεγαλύτερη επιβίωση, βελτίωση της διαστολικής λειτουργίας της αριστερής κοιλίας, αύξηση των αιμοφόρων αγγείων και μείωση του δείκτη κυτταρικής απόπτωσης, ασκώντας έτσι ευνοϊκά αποτελέσματα στο κοιλιακό μυοκάρδιο (34).

Σε επίπεδο κλινικών μελετών, οι πρώτες αναφορές είχαν δείξει θεαματική βελτίωση της καρδιακής λειτουργίας με τη χορήγηση της αυξητικής ορμόνης σε ασθενείς με διατακτική ή ισχαιμική καρδιακή ανεπάρκεια (111, 112). Ευεργετικά αποτελέσματα παρουσιάστηκαν, επίσης, σε ασθενείς με συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια και βελτίωση των αιμοδυναμικών παραμέτρων με τη χορήγηση αυξητικής ορμόνης τόσο στην οξεία φάση, όσο και σαν χρόνια θεραπεία (112). Μια πιο πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η χορήγηση αυξητικής ορμόνης μειώνει και τα επίπεδα των κυκλοφορούντων προφλεγμονωδών κυταροκινών και αποπτωτικών παραγόντων σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια (113).

Αντίθετα με τα παραπάνω αποτελέσματα, σε άλλη μελέτη (114) σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια ισχαιμικής αιτιολογίας, παρατηρήθηκε ότι η χορήγηση

αυξητικής ορμόνης σε 22 ασθενείς για 6 μήνες δεν είχε κανένα όφελος στη μάζα και τη λειτουργία της αριστερής κοιλίας. Παρόμοια αποτελέσματα είχε και η μελέτη των Van Thiel και συν. (115), στην οποία χορηγήθηκε αυξητική ορμόνη για 6 μήνες σε 9 ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια ισχαιμικής αιτιολογίας, και μελετήθηκε η συστολική και η διαστολική λειτουργία του μυοκαρδίου. Τα αποτελέσματα δεν ήταν ενθαρρυντικά, μιας και οι ασθενείς που έλαβαν την αυξητική ορμόνη δεν εμφάνισαν κανένα όφελος συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου. Μια ενδιαφέρουσα προσέγγιση ήταν αυτή των Osterziel και συν. (116), όπου μελετήθηκαν δυο ομάδες, αποτελούμενες από 10 ασθενείς. Στην πρώτη ομάδα ασθενών χορηγήθηκε αυξητική ορμόνη σε χαμηλή δόση και στην δεύτερη σε υψηλότερη. Το συμπέρασμα ήταν ότι οι ασθενείς με ισχαιμική μυοκαρδιοπάθεια χαρακτηρίζονται από μειωμένη έκκριση αυξητικής ορμόνης και ότι προσεκτική μελέτη του άξονα αυξητικής ορμόνης/ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα-1, καθώς και της συγκέντρωσης του τελευταίου στον ορό μπορεί να δώσει σημαντικές πληροφορίες για τον καθορισμό της κατάλληλης δόσης της αυξητικής ορμόνης. Φαίνεται δηλαδή ότι ο κάθε ασθενής παρουσιάζει διαφορετική ανταπόκριση στην αυξητική ορμόνη, ανάλογα με τη σοβαρότητα της καρδιακής δυσλειτουργίας.

Συμπερασματικά, ενώ οι πειραματικές μελέτες με τη χρήση αυξητικής ορμόνης (ή/και ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα-1) δίνουν ευεργετικά αποτελέσματα στην καρδιακή ανεπάρκεια μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου, οι κλινικές μελέτες περιλαμβάνουν πολύ μικρούς αριθμούς ασθενών, καθώς και μικρά χρονικά διαστήματα παρακολούθησης, οπότε δεν μπορούν να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα για την εφαρμογή της. Μία μετα-ανάλυση των Le Corvoisier και συν. (117), έδειξε ότι η χορήγηση αυξητικής ορμόνης βελτιώνει τη γεωμετρία της αριστερής κοιλίας και το κλάσμα εξώθησης, σε συνδυασμό με την αύξηση του ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα-1. Για την εξαγωγή, όμως, ασφαλών συμπερασμάτων επισημαίνουν την ανάγκη για μια μεγάλη τυχαιοποιημένη κλινική δοκιμή σε σύγκριση με εικονικό φάρμακο, ώστε να αξιολογηθούν διεξοδικά οι επιδράσεις της χορήγησης αυξητικής ορμόνης και η θέση της στην αντιμετώπιση της καρδιακής ανεπάρκειας. Τέλος, προς την κατεύθυνση αυτή η ερευνητική ομάδα του Cittadini δημοσίευσε πρόσφατα μια μελέτη (35), σε προέκταση προηγούμενης τυχαιοποιημένης δοκιμής (36), σε 158 ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια (σταδίου II-

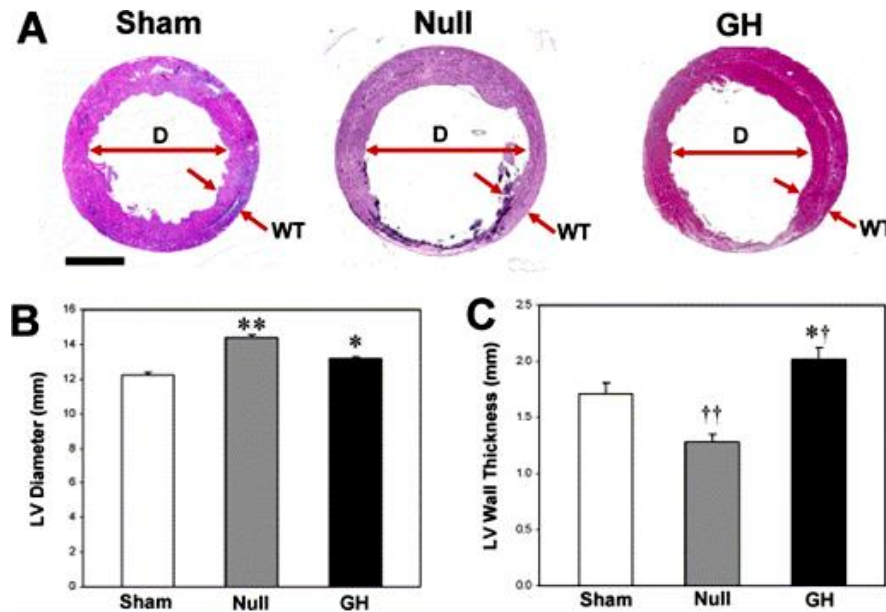
IV κατά NYHA). Από τους ασθενείς αυτούς, οι 63 είχαν έλλειψη αυξητικής ορμόνης και οι 56 τυχαιοποιήθηκαν σε ομάδες που έλαβαν συνήθη αγωγή καρδιακής ανεπάρκειας με και χωρίς αυξητική ορμόνη. Οι 17 από την ομάδα της αυξητικής ορμόνης και οι 14 από την ομάδα ελέγχου ολοκλήρωσαν την παρακολούθηση για 4 έτη. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στην ομάδα της αυξητικής ορμόνης αυξήθηκε η μέγιστη κατανάλωση οξυγόνου και το κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας, χωρίς αξιοσημείωτες ανεπιθύμητες ενέργειες ([35](#)).

2.6.4 Αυξητική ορμόνη και αναδιαμόρφωση αριστερής κοιλίας

Η ενεργοποίηση του άξονα αυξητικής ορμόνης/ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα-1 διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στην επούλωση του εμφράγματος, και η διέγερση του άξονα αυτού αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση στην καρδιακή αναγέννηση. Παλαιότερες πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι η εξωγενής χορήγηση αυξητικής ορμόνης ή ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα-1 βελτιώνει την αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας και την εξέλιξη σε χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια ([32](#), [33](#)). Διάφοροι μηχανισμοί μπορούν να εμπλέκονται, όπως η ελαττωμένη φλεγμονώδης απάντηση, η αυξημένη αγγειογένεση, η μειωμένη κυτταρική απόπτωση και η μείωση της δυσμενούς αναδιαμόρφωσης του εξωκυττάριου στηρικτικού ιστού. Οι μηχανισμοί αυτοί περιλαμβάνουν την αύξηση της μάζας των μυοκαρδιακών κυττάρων, απότοκος τόσο της αύξησης του όγκου τους, όσο και του αριθμού τους ([107](#)).

Δυο σημαντικές μελέτες διενεργήθηκαν από την ερευνητική ομάδα των Jayasankar και συν. ([118](#)) σε εμφραγματικούς επίμυες, με τη χρήση άμεσης μυοκαρδιακής έγχυσης αδενοϊού που περιείχε κωδικοποιημένες πληροφορίες για την παραγωγή αυξητικής ορμόνης. Στην ομάδα των πειραματοζώων που έλαβε την αγωγή αυτή παρατηρήθηκε διατήρηση της συστολικής και διαστολικής λειτουργίας του μυοκαρδίου, διατήρηση της διαμέτρου της αριστερής κοιλίας, αύξηση του πάχους τοιχώματός της, καθώς και αύξηση του μεγέθους των μυοκαρδιακών

κυττάρων. Σε μια δεύτερη μελέτη της ίδια ομάδας ([119](#)), χρησιμοποιώντας το ίδιο πειραματικό πρότυπο, η ομάδα της αυξητικής ορμόνης εμφάνισε βελτίωση των αιμοδυναμικών παραμέτρων και της συσταλτικότητας της αριστερής κοιλίας, καθώς και μείωση της αναδιαμόρφωσης, τρεις εβδομάδες μετά την πρόκληση του εμφράγματος.



Εικόνα 11. Α. Ιστολογικές τομές αριστερής κοιλίας επιμύων των τριών ομάδων μελέτης (D=διάμετρος, WT=πάχος τοιχώματος). Β. Διάμετρος αριστερής κοιλίας. Γ. Πάχος τοιχώματος. ([118](#))

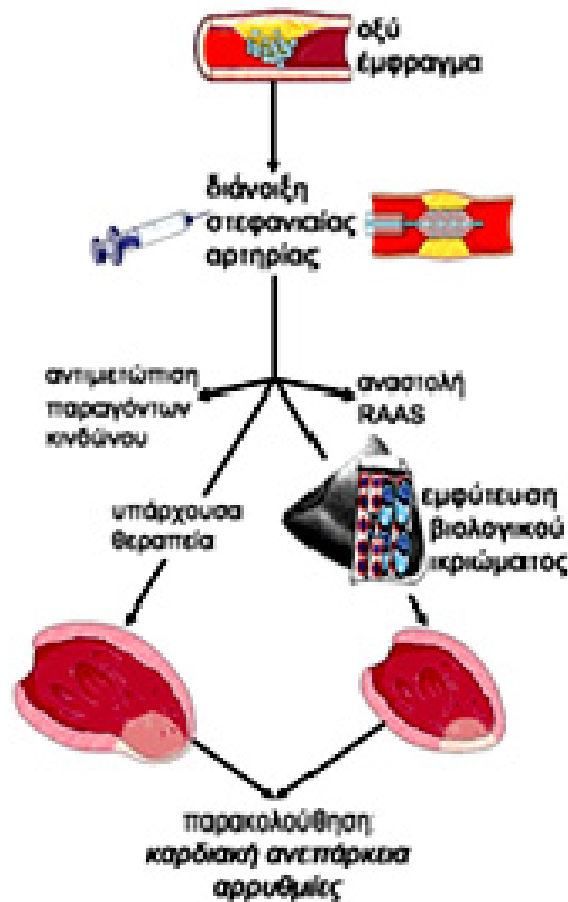
(Jayasankar, V., et al., J Mol Cell Cardiol, 2004. 36(4): p. 531-8)

Το κατά πόσο οι ευεργετικές αυτές επιδράσεις επιτυγχάνονται καλύτερα με την αυξητική ορμόνη ή τον ινσουλινομορφο αυξητικό παράγοντα-1 δεν είναι γνωστό. Προηγούμενες μελέτες έχουν συγκρίνει τις επιδράσεις του ινσουλινομορφου αυξητικού παράγοντα-1 και της αυξητικής ορμόνης στην πρώιμη αναδιαμόρφωση, χρησιμοποιώντας το ζωϊκό πρότυπο της μόνιμης απολίνωσης στεφανιαίου αγγείου σε επίμυες ([120](#)). Η χορήγηση των παραγόντων αυτών έγινε τοπικά στην πάσχουσα περιοχή και στην ενδιάμεση ζώνη με 5-7 ενδομυοκαρδιακές εγχύσεις, χρησιμοποιώντας βελόνη 27G. Η μελέτη αυτή κατέληξε στο συμπέρασμα ότι και οι δύο ουσίες είχαν κυτταροπροστατευτικές ιδιότητες και μείωσαν την έκπτυξη της εμφραγματικής περιοχής, αλλά η αυξητική ορμόνη παρήγαγε πιο ευεργετική αναδιαμόρφωση της εξωκυττάριας ουσίας, καθώς και της ενεργοποίησης του

συμπαθητικού νευρικού συστήματος. Τα ευρήματα αυτά μπορούν να εξηγηθούν από τη διπλή δράση της αυξητικής ορμόνης, δηλαδή το συνδυασμό της άμεσης ενέργειας της στα κοιλιακά μυοκαρδιακά κύτταρα με την έμμεση αύξηση των επιπέδων του ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα-1. Στο πειραματικό πρότυπο οξέως εμφράγματος του μυοκαρδίου με επαναιμάτωση σε χοίρους, έχει καταγραφεί μειωμένη αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας μετά από πρώιμη ενδοστεφανιαία χορήγηση αυξητικής ορμόνης, εκλεκτικά στην εμφραχθείσα περιοχή (43). Στους πιθανούς καρδιοπροστατευτικούς μηχανισμούς, η μελέτη αυτή προσέθεσε την αγγειογένεση, η οποία ήταν σημαντικά αυξημένη μετά τη θεραπεία με αυξητική ορμόνη.

2.7 ΚΥΡΙΑ ΥΠΟΘΕΣΗ ΚΑΙ ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

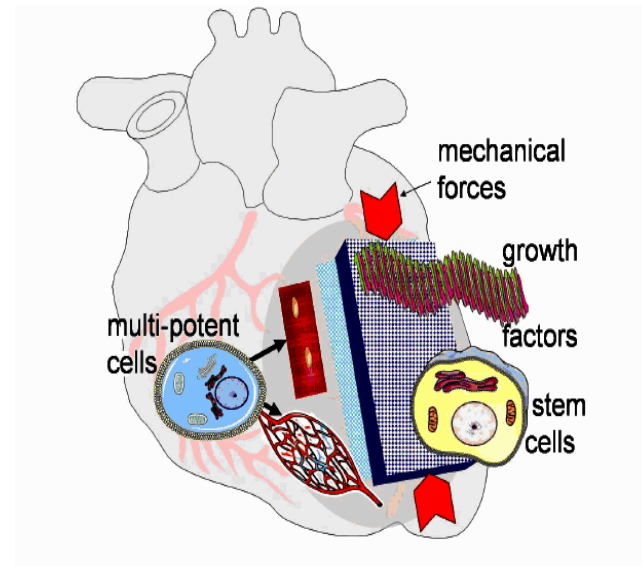
Η σύγχρονη αντιμετώπιση του οξέως εμφράγματος του μυοκαρδίου περιλαμβάνει την έγκαιρη διάνοιξη των αποφραχθέντων στεφανιαίων αρτηριών, με σκοπό την μείωση της έκτασης της μυοκαρδιακής βλάβης. Η αγωγή αυτή συνδυάζεται με σύνθετη φαρμακευτική αγωγή (στατίνες, αντιαιμοπεταλιακή αγωγή, αναστολείς του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης, αποκλειστές β-αδρενεργικών υποδοχέων), η οποία στοχεύει στην πρόληψη νέας στένωσης και θρόμβωσης των στεφανιαίων αγγείων, στη μείωση του προφορτίου και μεταφορτίου της αριστερής κοιλίας και στην άμβλυνση της νευροορμονικής ανταπόκρισης μετά το έμφραγμα. Τα θεραπευτικά αυτά μέτρα βελτιώνουν την πρόγνωση των ασθενών. Όμως, καμία από τις μέχρι σήμερα εγκεκριμένες θεραπείες δεν στοχεύει στην αποκατάσταση της λειτουργίας του παθολογικού μυοκαρδίου. Στην παρούσα διατριβή, εξετάστηκε μία θεραπευτική προσέγγιση με τελικό σκοπό όχι μόνο την πρόληψη της εμφάνισης καρδιακής ανεπάρκειας, αλλά και την υποστροφή της μυοκαρδιακής βλάβης. Οι τρέχουσες θεραπευτικές στρατηγικές και η πιθανή μελλοντική αντιμετώπιση φαίνονται παραστατικά στην εικόνα 12.



Εικόνα 12. Οι τρέχουσες θεραπευτικές στρατηγικές του εμφράγματος μυοκαρδίου και η πιθανή μελλοντική αντιμετώπιση σε εκτεταμένα εμφράγματα του μυοκαρδίου

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή αξιολογήθηκε μία θεραπευτική παρέμβαση, η οποία στοχεύει στην αναγέννηση του κοιλιακού μυοκαρδίου μετά από έμφραγμα, με τελικό στόχο τη βελτίωση της λειτουργικότητας της αριστερής κοιλίας. Η αντιμετώπιση περιλαμβάνει ένα βιοαπορροφήσιμο επικαρδιακό υλικό, που προκαλεί μικρού βαθμού μηχανικό περιορισμό της αριστερής κοιλίας. Η βασική υπόθεση είναι ότι η θεραπεία αυτή θα μπορούσε να βελτιώσει την αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας, δρώντας μόνο στην περίοδο αμέσως μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου, αποφεύγοντας έτσι και την μακροπρόθεσμη ιστική αντίδραση ξένου σώματος. Η νέα αυτή θεραπεία συνίσταται σε ένα συνθετικό βιοδιασπώμενο πολυμερές ικρίωμα από πολυαιθυλενογλυκόλη που τοποθετείται στο επικάρδιο της αριστερής κοιλίας και ένα φυσικό βιοϋλικό από αλγινικό οξύ σε μορφή

υδροπηκτώματος, που θα εγχύεται απευθείας στο μυοκάρδιο ή, τέλος, σε μορφή ικριώματος, που τοποθετείται στο επικάρδιο της εμφραγματικής περιοχής. Αυτά τα ικριώματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως φορείς, τόσο φαρμακευτικών ουσιών (όπως η αυξητική ορμόνη, που εξετάζεται στην παρούσα μελέτη), όσο και κυττάρων (αντικείμενο μελλοντικής έρευνας).



Εικόνα 13. Ιστοτεχνολογία του μυοκαρδίου, με σκοπό την υποστροφή μυοκαρδιακής βλάβης

Συνοπτικά, οι κύριοι στόχοι της παρούσας μελέτης ήταν:

- Να εξετάσει την επίπτωση, τα χαρακτηριστικά και τους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς εμφάνισης καρδιακής ανεπάρκειας μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου.
- Να αξιολογήσει τη θεραπευτική αποτελεσματικότητα και ασφάλεια της εμφύτευσης διαφόρων βιοδιασπώμενων ικριωμάτων στο επικάρδιο της αριστερής κοιλίας ή/και την απευθείας έγχυσή τους στο μυοκάρδιο.
- Να αξιολογήσει τη αποτελεσματικότητα της χορήγησης αυξητικής ορμόνης μέσω ενός ικριώματος αλγινικού οξέος και των επιδράσεών της στο μυοκάρδιο.

Αυτή η ολοκληρωμένη προσέγγιση συνδυάζει τις επιδράσεις της φυσιολογικής υπερτροφίας, του μηχανικού περιορισμού της διάτασης των κοιλιών και μπορεί να πολλαπλασιάσει τα οφέλη της κάθε μίας συνιστώσας παρέμβασης. Η υπό αξιολόγηση ερευνητική παρέμβαση αντιμετωπίζει βασικά στοιχεία της παθοφυσιολογίας μετά το έμφραγμα, όπως την απώλεια μυοκαρδιακών κυττάρων, την εξωκυττάρια αναδιαμόρφωση των στηρικτικών πρωτεϊνών, τις μορφολογικές μεταβολές της αριστερής κοιλίας στην εμφραχθείσα και μη εμφραχθείσα μυοκαρδιακή περιοχή, την αγγειογένεση, την ίνωση και το σχηματισμό υποστρώματος για κοιλιακές αρρυθμίες. Η πρόιμη εφαρμογή της θεραπείας μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου αναμένεται να αυξήσει περαιτέρω την αποτελεσματικότητά της. Η αποκατάσταση μέρους της καρδιακής λειτουργίας αναμένεται να μειώσει την τοιχωματική τάση και την αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας. Επίσης, οι καρδιοπροστατευτικές επιδράσεις της υπό αξιολόγηση θεραπευτικής παρέμβασης μπορεί να προκαλούν μείωση της έκτασης της εμφραγματικής περιοχής και συνεπώς και του υποστρώματος των κοιλιακών αρρυθμιών.

Ένας επιπλέον βασικός σκοπός της παρούσας διατριβής είναι η μελέτη των επιδράσεων της φυσιολογικής υπερτροφίας μετά την εξωγενή χορήγηση αυξητικής ορμόνης σε διάφορους αιμοδυναμικούς δείκτες, καθώς και σε δείκτες αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας. Η χορήγηση αυξητικής ορμόνης μέσω του εμφυτευμένου ικρίωματος πιθανόν να μεγιστοποιεί τα ευεργετικά αποτελέσματα στην υπερτροφία των μυοκαρδιακών κυττάρων, στη μείωση της αναδιαμόρφωσης της εξωκυττάριας ουσίας και της αριστερής κοιλίας, καθώς και στην αγγειογένεση. **Σημαντικό είναι ότι τα διάφορα στοιχεία της υπό αξιολόγηση θεραπείας μπορούν να μεταβάλλονται και συνεπώς να εξατομικεύονται.**

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Στην παρούσα μελέτη, ένας από τους κύριους στόχους ήταν η **σύνθεση βιοδιασπώμενων ικριωμάτων που θα προκαλούν ήπιο καρδιακό περιορισμό, εφαρμοζόμενα στο μυοκάρδιο αμέσως μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου**. Απαραίτητο ήταν τα υλικά που θα επιλεγούν να έχουν τις κατάλληλες μηχανικές ιδιότητες, βιοσυμβατότητα και βιοαποικοδομησιμότητα, όπως ένα υδροπήκτωμα. Έτσι, συντέθηκαν και μελέτηθηκαν δύο βιοϋλικά και το πειραματικό μέρος διακρίνεται σε δυο βασικές ενότητες:

Στην **πρώτη ενότητα** μελετήθηκε η εφαρμογή του υδροπηκτώματος πολυαιθυλενογλυκόλης/σεβακικού οξέος στο επικάρδιο της αριστερής κοιλίας εμφραγματικών επίμυων σε δύο μορφές: με μορφή υδροπηκτώματος, καθώς και με μορφή σύνθετου ικριώματος υδροπηκτώματος/γάζας.

Στη **δεύτερη ενότητα** μελετήθηκε η εφαρμογή υδροπηκτώματος αλγινικού οξέος, με ενδομυοκαρδιακή έγχυση, μόνο του ή σε συνδυασμό με αυξητική ορμόνη, καθώς και η τοποθέτησή του στο επικάρδιο σε μορφή σύνθετου ικριώματος υδροπηκτώματος/γάζας.

Έτσι, στην αρχή περιγράφεται η σύνθεση και ο φυσικοχημικός χαρακτηρισμός των δύο βιοϋλικών (σε ότι αφορά στα υλικά αυτά καθ' αυτά) και ακολουθεί η περιγραφή του πειραματικού πρωτοκόλλου στους επίμυες. Στη συνέχεια, για το κάθε βιοϋλικό, παρατίθεται η λεπτομερής περιγραφή της λήψης των μετρήσεων και τα πειραματικά αποτελέσματα που ελήφθησαν. Η ενότητα ολοκληρώνεται με συζήτηση των πειραματικών ευρημάτων συμπεριλαμβανομένων και των περιορισμών της μελέτης και των προτάσεων για μελλοντική έρευνα.

3.1 ΣΥΝΘΕΣΗ & ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΥΛΙΚΩΝ ΤΩΝ ΙΚΡΙΩΜΑΤΩΝ

3.1.1 Υδροπήκτωμα πολυαιθυλενογλυκόλης/σεβακικού οξέος

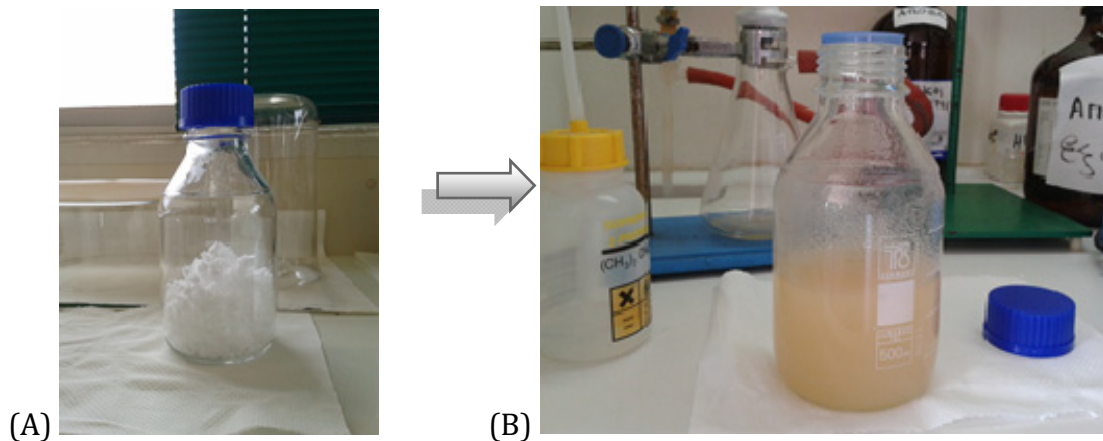
Το πρώτο υδροπήκτωμα που συντέθηκε ήταν βασισμένο στο βασικό κορμό του πολυμερούς PEGDA με την ενσωμάτωση του σεβακικού οξέος (το οποίο θα αναφέρεται εφεξής ως PEGSDA). Το υλικό αυτό παρασκευάστηκε σε δυο μορφές, (α) αυτή του υδροπηκτώματος PEGSDA, και (β) αυτή του σύνθετου βιολογικού ικριώματος PEGSDA σε γάζα οξικής κυτταρίνης (G-PEG).

3.1.1.1 Σύνθεση υδροπηκτώματος (hydrogel) PEGSDA

Στην ενότητα αυτή θα περιγραφεί η πορεία σύνθεσης του hydrogel PEGSDA και τα χαρακτηριστικά βήματα στην επεξεργασία του έως την τελική του μορφή. Η σύνθεση έγινε στο Εργαστήριο Κεραμικών και Σύνθετων Υλικών του Τμήματος Μηχανικών Επιστήμης Υλικών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

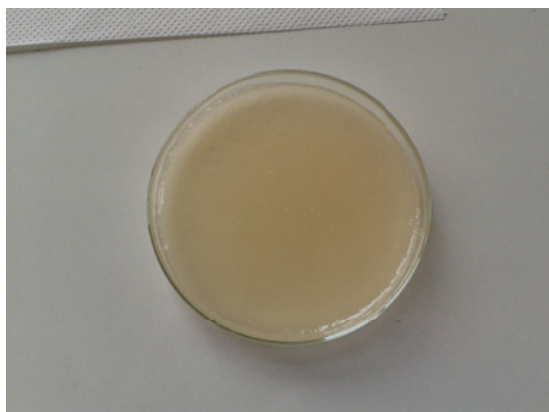
Αρχικά, 100g PEG σε μορφή λευκής σκόνης σε θερμοκρασία δωματίου ζυγίστηκαν και τοποθετήθηκαν σε γυάλινο δοχείο. Σε δοχείο των 500ml προστέθηκαν 200g οργανικού διαλύτη (CH_2Cl_2) και αναδεύτηκαν για περίπου 10min σε λουτρό πάγου στους 0-2°C. Εφόσον δεν παρατηρήθηκαν υπολείμματα λευκής σκόνης έπειτα από ένα χρονικό διάστημα 10 min, εξάγεται το συμπέρασμα ότι η πολυαιθυλενογλυκόλη είχε διαλυθεί πλήρως. Ακολούθως, προστέθηκαν 16,5 ml τριαιθυλαμίνης (Et_3N) και συνεχίστηκε η ανάδευση στους 0-2°C για ακόμη 10min. Δεν παρατηρήθηκε ιδιαίτερη αλλαγή στο χρώμα, χωρίς όμως αυτό να σημαίνει ότι η αντίδραση δεν είχε ολοκληρωθεί. Κατόπιν, προστέθηκαν 19ml χλωριδίου σεβακικού οξέος και συνεχίστηκε η ανάδευση για περίπου άλλα 10min στους 0-2°C. Το διάλυμα απέκτησε ένα ροζ ανοιχτό χρώμα αμέσως μετά την προσθήκη του χλωριδίου του σεβακικού οξέος, το οποίο σημαίνει την έναρξη της αντίδρασης. Το σεβακικό οξύ προστέθηκε για να μειωθεί η διόγκωση και να ενισχυθούν οι μηχανικές ιδιότητες του

βιοϋλικού, διότι ως υδροφοβικό στοιχείο εμποδίζει την υπερβολική απορρόφηση νερού στο δίκτυο του υδροπήκτωμα. Η ανάδευση συνεχίστηκε για ακόμη 24h σε θερμοκρασία δωματίου, έως ότου το διάλυμα γίνει ομοιογενές και η αντίδραση ολοκληρωθεί.



Εικόνα 14. (Α) Αρχική μορφή σκόνης PEG. (Β) Ομοιογενές διάλυμα PEG-σεβακικού οξέος, μετά την 24ωρη ανάδευση.

Εν συνεχεία, έλαβε χώρα διήθηση υπό κενό παρουσία πετρελαϊκού αιθέρα, προκειμένου να απομακρυνθεί ο διαλύτης. Η διήθηση είναι μία μέθοδος διαχωρισμού των στερεών που βρίσκονται σαν αιώρημα σε ένα ρευστό με τη χρήση κατάλληλης διεπιφάνειας, (διηθητικό μέσο, ή φίλτρο, ή διάφραγμα), η οποία είναι πορώδης και διαπερατή από το διαλύτη. Η διεπιφάνεια αυτή συγκρατεί ορισμένα από τα συστατικά του διαλύματος (όπως τα στερεά), ενώ επιτρέπει τη διέλευση καθαρού ρευστού. Για να πραγματοποιηθεί η διεργασία αυτή, θα πρέπει να εφαρμοστεί ορισμένη κινητήρια δύναμη στη διεπιφάνεια. Στο συγκεκριμένο πείραμα εφαρμόστηκε κενό. Κατά τη διάρκεια των πειραμάτων της διήθησης, η ταχύτητα με την οποία ο διαλύτης διαπερνούσε το διηθητικό μέσο (φίλτρο) ήταν ιδιαίτερα χαμηλή και, κατά συνέπεια, ο χρόνος διεξαγωγής του συγκεκριμένου πειράματος ήταν μεγάλος. Με σκοπό να μειωθεί ο χρόνος του πειράματος, καθαρίζαμε το φίλτρο ανά τακτά χρονικά διαστήματα και συλλέγαμε το υλικό όταν η ταχύτητα διαπέρασης του διαλύτη ήταν σχεδόν μηδενική. Όταν έλαβε τέλος η παραπάνω διαδικασία, λήφθηκε το υλικό PEGS, που φαίνεται στην εικόνα 15.



Εικόνα 15. Το υλικό PEGS

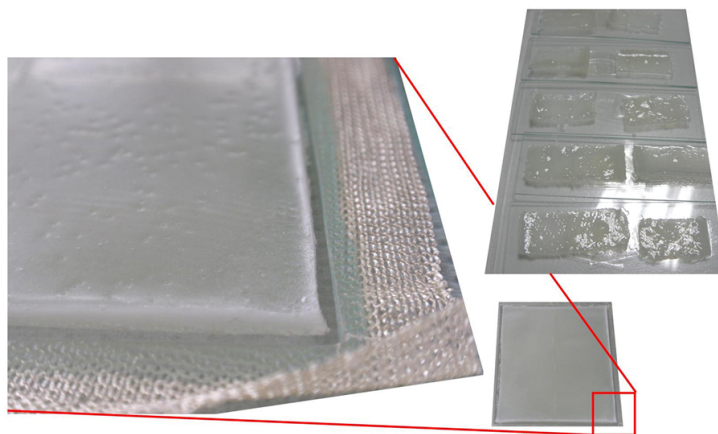
Στο υλικό PEGS προστέθηκαν 135g οργανικού διαλύτη (CH_2Cl_2) και συνεχίστηκε η ανάδευση για περίπου 10min σε λουτρό πάγου στους 0-2°C. Έπειτα, αφού το υλικό είχε γίνει ομοιογενές, κατά τη διάρκεια της ανάδευσης προστέθηκαν 21ml τριαιθυλαμίνης (Et_3N) και η ανάδευση συνεχίστηκε για ακόμη 10min στους 0-2°C. Στη συνέχεια, κατά τη διάρκεια της ανάδευσης, προστέθηκαν, επιπλέον, 12ml χλωριδίου ακρυλικού οξέος και συνεχίστηκε η ανάδευση στους 0-2°C για ακόμη 10min. Σε θερμοκρασία δωματίου, συνεχίστηκε η ανάδευση για ακόμη 24h. Στη συνέχεια, με τη διαδικασία της διήθησης υπό κενό (παρουσία πετρελαϊκού αιθέρα) απομακρύνθηκε ο διαλύτης, λαμβάνοντας έτσι το υλικό PEGSDA. Το υλικό PEGSDA αναδεύτηκε περαιτέρω για 90min, μαζί με ίση ποσότητα απιονισμένου νερού και αυξάνοντας λίγο τη θερμοκρασία, έως ότου έγινε ομοιογενής παχύρρευστη γέλη, όπως φαίνεται στην εικόνα 16.



Εικόνα 16. Το PEGSDA hydrogel

3.1.1.2 Κατασκευή σύνθετου ικρίωματος PEGSDA hydrogel σε γάζα οξικής κυτταρίνης (G-PEG)

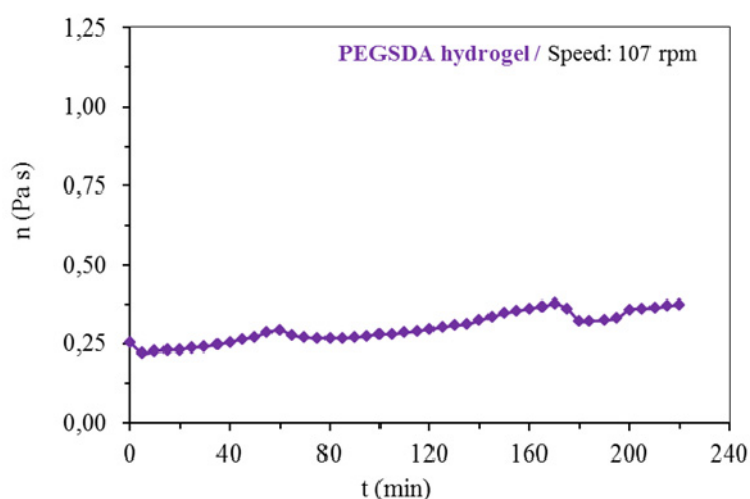
Στοχεύοντας σε ένα υλικό με κατάλληλες μηχανικές ιδιότητες, βιοσυμβατότητα και βιοαποικοδόμηση εναποτέθηκε hydrogel, από πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG) και σεβακικό διακρυλικό οξύ (SDA), σε εμπορικά διαθέσιμη αιμοστατική γάζα (Surgicel™, Johnson & Johnson, New Brunswick NJ, USA). Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι η γάζα οξικής κυτταρίνης διαθέτει την απαραίτητη σταθερότητα και ελαστικότητα, καθώς και ταχεία βιοαπορροφησιμότητα ([121](#)). Το σύνθετο αυτό βιοϋλικό κατασκευάστηκε ως εξής: το PEGSDA hydrogel εναποτέθηκε σε βιοδιασπώμενη γάζα οξικής κυτταρίνης και στερεοποιήθηκε με τη βοήθεια λάμπας UV και 3mg ένωσης irgacure (φωτοευαίσθητη ένωση που ξεκινά πολυμερισμό). Το σύνθετο αυτό βιοϋλικό, εφεξής, θα ονομάζεται χάριν συντομίας G-PEG. Προηγούμενος *in vitro* χαρακτηρισμός της γάζας έδειξε ότι εμφανίζει κατάλληλη ελαστικότητα και σταθερότητα, αλλά και γρήγορη βιοαποικοδόμηση ([121](#)). Επιλέχθηκε το PEGSDA, κυρίως για την ενισχυμένη μηχανική αντοχή και τη δυνατότητα βιοαποικοδόμησης. Λόγω των διαφορετικών αναλογιών των δύο κύριων συστατικών του, μπορούν να ελεγχθούν εύκολα το πάχος, το ιξώδες και την ελαστικότητα του ικρίωματος, μεταβάλλοντας τις συγκεντρώσεις του κάθε συστατικού. Αυτό αφορά τόσο το υδροπήκτωμα, όσο και το σύνθετο ικρίωμα με τη γάζα. Το τελικό ικρίωμα που δημιουργήθηκε είχε την απαραίτητη ευκαμψία και ελαστικότητα, ώστε να υποβάλλει σε ήπια επιθυμητή τάση την καρδιά του πειραματόζωου και να είναι εύχρηστο κατά τη διαδικασία τοποθέτησης. Τέλος, η γάζα κόπηκε σύμφωνα με το μέγεθος της καρδιάς του πειραματόζωου σε διαστάσεις 30x10x1,5mm, συνθέτοντας το ικρίωμα πολυαιθυλενογλυκόλης/σεβακικού οξέος (G-PEG) που φαίνεται στην εικόνα 17.



Εικόνα 17. Το G-PEG scaffold ([122](#))

3.1.1.3 Μελέτη δυναμικού ιξώδους PEGSDA Hydrogel

Στο διάγραμμα της εικόνας 18 παρατηρείται η εξάρτηση του δυναμικού ιξώδους με τη πάροδο του χρόνου υπό σταθερή διατμητική τάση. Δεν παρατηρείται έντονη επίδραση της ταχύτητας περιστροφής στην τιμή του ιξώδους του hydrogel. Επομένως, οι ιξωδοελαστικές του ιδιότητες δεν μεταβάλλονται αισθητά υπό την επίδραση διατμητικής τάσης και έτσι δεν αναμένεται κάποιος μηχανικός υποβιβασμός των ιδιοτήτων του συγκεκριμένου υδροπηκτώματος εάν αυτό υπόκειται στη συνεχή παλμική κίνηση της καρδιάς.



Εικόνα 18. Εξάρτηση του δυναμικού ιξώδους (η) στους 37°C του PEGSDA hydrogel από το χρόνο

3.1.2 Υδροπήκτωμα αλγινικού οξέος

Το δεύτερο βιοϋλικό που συντέθηκε ήταν υδροπήκτωμα αλγινικού οξέος. Το υλικό αυτό παρασκευάστηκε στις εξής μορφές: (α) αυτή του υδροπηκτώματος αλγινικού οξέος (alginate hydrogel), με ή χωρίς προσθήκη αυξητικής ορμόνης, και (β) στη μορφή σύνθετου ικριώματος υδροπηκτώματος σε γάζα οξικής κυτταρίνης (alginate scaffold).

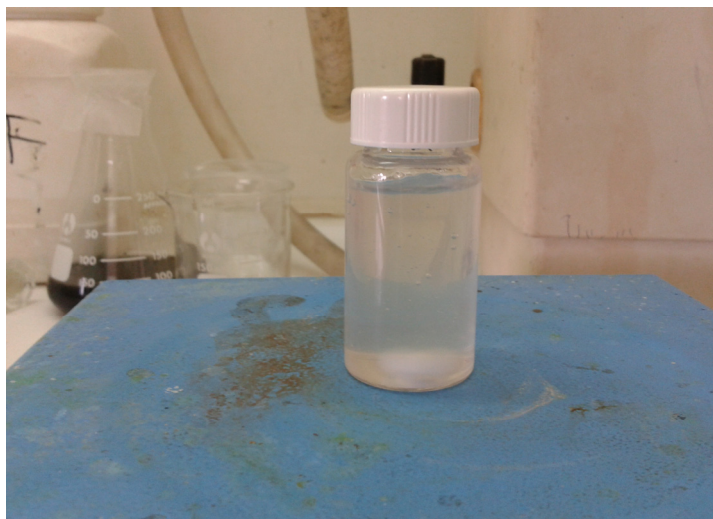
3.1.2.1 Σύνθεση αλγινικού υδροπηκτώματος

Στην ενότητα αυτή θα περιγραφεί η πορεία σύνθεσης του αλγινικού υδροπηκτώματος (alginate hydrogel) και τα χαρακτηριστικά βήματα στην επεξεργασία του έως την τελική του μορφή. Η σύνθεση έγινε στο Εργαστήριο Κεραμικών και Σύνθετων Υλικών του Τμήματος Μηχανικών Επιστήμης Υλικών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος διάλυσης/διάχυσης, διότι τα ιόντα ζελατινοποίησης (πηγή ιόντων CaCl_2) διαχύθηκαν με υψηλή ταχύτητα στο διάλυμα του αλγινικού οξέος, λόγω της αυξημένης διαλυτότητας του CaCl_2 στο νερό ($\text{CaCl}_2 \rightarrow \text{Ca}^{2+} + \text{Cl}^-$, Διαλυτότητα: 74,5 mg / 100 ml H_2O). Στο συγκεκριμένο πείραμα, η διάθεση ιόντων ασβεστίου στο διάλυμα του αλγινικού οξέος υποβοηθήθηκε και με τη δημιουργία ελαφρώς όξινου pH με την χρήση γλουκονολακτόνης.

Πιο συγκεκριμένα, η σύνθεση του αλγινικού υδροπηκτώματος έγινε ως εξής: Αρχικά, προετοιμάστηκε διάλυμα αλγινικού οξέος συγκέντρωσης 1 wt% με διάλυση αποστειρωμένης σκόνης αλγινικού οξέος (Alginate acid sodium salt, 180947, Sigma-Aldrich, St. Luis, MO, USA) σε εμπορικά διαθέσιμο φυσιολογικό ορό (0.9 wt% NaCl) χρησιμοποιώντας κυρίως μαγνητική ανάδευση (η διάλυση επίσης υποβοηθήθηκε και με τη χρήση λουτρού υπερήχων). Το διάλυμα αυτό ονομάστηκε διάλυμα Α. Ένα δεύτερο διάλυμα (διάλυμα Β) προετοιμάστηκε διαλύοντας D-Glucono-d-lactone (Gluconolactone, 62164-100G, Sigma Aldrich) and σκόνης αφυδατωμένου CaCl_2 (Calcium Chloride Dehydrated, 21074, Fluka Analytical, Sigma Aldrich) σε διάλυμα φυσιολογικού ορού (οι συγκεντρώσεις της γλουκονολακτόνης καθώς και του CaCl_2 ήταν 0,0084 M και 0.004 M, αντίστοιχα). Το διάλυμα Β εναποτέθηκε στάγδην στο διάλυμα Α, υπό συνεχή μαγνητική ανάδευση, χρησιμοποιώντας μικροπιπέτα

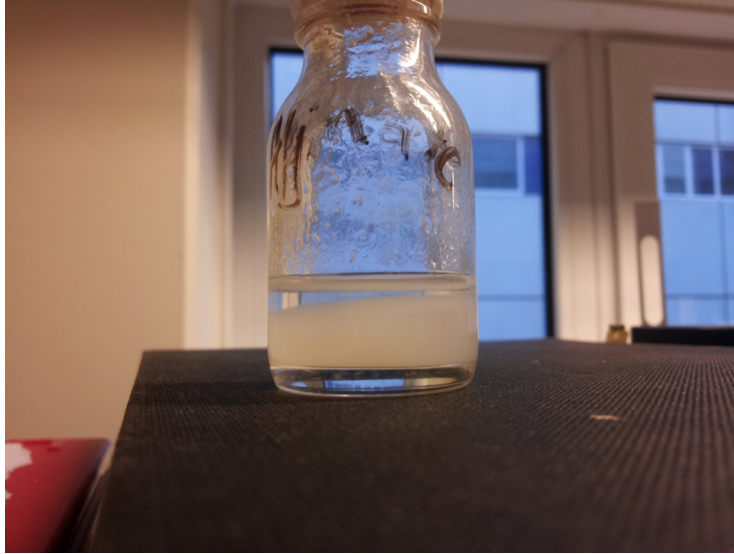
(ο όγκος της κάθε σταγόνας ήταν ~200 μ l) για τον καλύτερο δυνατό έλεγχο των διασταυρούμενων δεσμών καθώς και του σχηματισμού του τριδιάστατου δικτύου του υδροπηκτώματος. Το αλγινικό υδροπήκτωμα σχηματίστηκε ταχύτατα και είχε υψηλό ιξώδες.



Εικόνα 19. Το αλγινικό υδροπήκτωμα

Ικρίωμα με ενσωματωμένη αυξητική ορμόνη

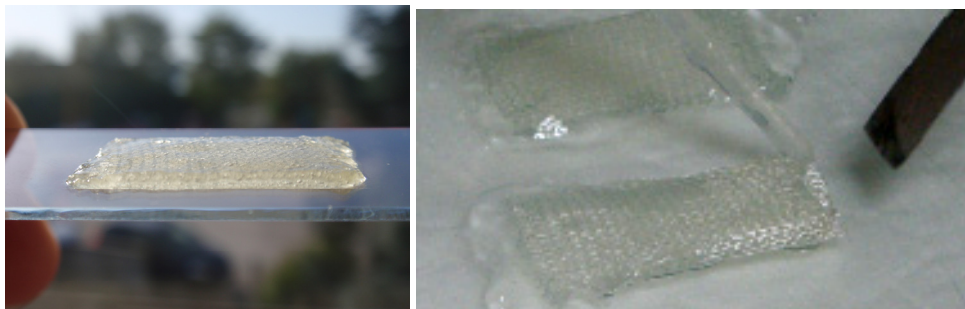
Για την παρασκευή ικρίωματος με ενσωματωμένη αυξητική ορμόνη (GH-alginate hydrogel), σκόνη GH (GH – S8648, Sigma Aldrich) διαλύθηκε σε φυσιολογικό ορό (0,9% NaCl). Το διάλυμα αυτό εναποτέθηκε στάγδην στο διάλυμα Α υπό συνεχή μαγνητική ανάδευση ~30 λεπτών ώστε να επιτευχθεί ένα ομοιογενές διάλυμα. Στη συνέχεια, προστέθηκε στάγδην και το διάλυμα Β (όπως περιγράφηκε προηγουμένως). Το τελικό διάλυμα περιείχε 0,5 μ g αυξητικής ορμόνης ανά 0,2ml, όπως έχει περιγραφεί και σε προηγούμενες μελέτες ([120](#)).



Εικόνα 20. Το GH-αλγινικού υδροπηκτώματος(κάτω στρώση) σε υδατικό περιβάλλον PBS (άνω στρώση), κατά τη διάρκεια των *in vitro* πειραμάτων βιοαποικοδόμησης

3.1.2.2 Κατασκευή σύνθετου ικρίωματος από αλγινικό υδροπήκτωμα και γάζα οξικής κυτταρίνης

Στοχεύοντας σε υλικό με κατάλληλες μηχανικές ιδιότητες, βιοσυμβατότητα και βιοαποικοδόμηση, εναποτέθηκε αλγινικό υδροπήκτωμα σε αιμοστατική γάζα οξικής κυτταρίνης. Το ικρίωμα που δημιουργήθηκε ήταν εύκαμπτο, ελαστικό και είχε όλα τα πλεονεκτήματα του αλγινικού υδροπηκτώματος, με επιπρόσθετη την ικανότητα ήπιου μηχανικού περιορισμού στην καρδιά του πειραματόζωου. Τέλος, το βιοϋλικό κοβόταν σύμφωνα με το μέγεθος της καρδιάς του πειραματόζωου σε διαστάσεις 30x10x1,5mm, συνθέτοντας το ικρίωμα που φαίνεται στην εικόνα 21.



Εικόνα 21. Παρασκευή του alginate scaffold, λίγο πριν την εμφύτευση

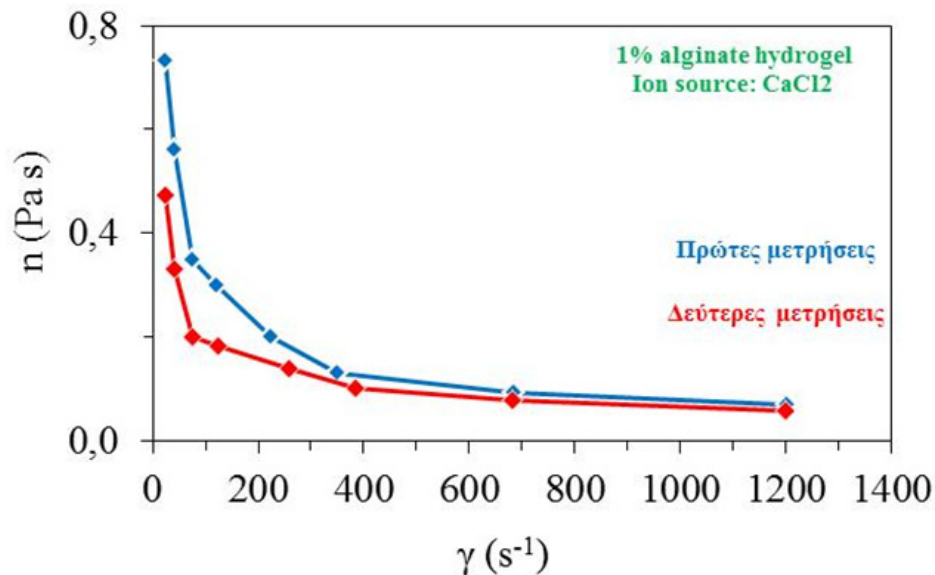
3.1.2.3 Μελέτη ιξωδοελαστικών ιδιοτήτων

Για τη διεξαγωγή των μετρήσεων του ιξώδους του ικριώματος, χρησιμοποιήθηκε το ιξωδόμετρο Bohlin Visco 88 της εταιρείας Malvern Instruments. Η αρχή λειτουργίας αυτού ιξωδομέτρου βασίζεται στο εξής: Το προς μέτρηση υγρό (καθαρό υγρό, διάλυμα, αιώρημα, υδροπήκτωμα) τοποθετείται σε ένα μεταλλικό κυλινδρικό δοχείο. Μέσα στο δοχείο εμβαπτίζεται συμπαγής μεταλλικός κύλινδρος ο οποίος βυθίζεται εξ ολοκλήρου μέσα στο υγρό. Η απόσταση μεταξύ των τοιχωμάτων του δοχείου και του κυλίνδρου είναι πάρα πολύ μικρή (περίπου 1 mm). Ο κύλινδρος αρχίζει να περιστρέφεται με συγκεκριμένη ταχύτητα μέσα στο υγρό. Όσο πιο μεγάλο ιξώδες έχει το υγρό, τόσο πιο μεγάλη αντίσταση έχει ο κύλινδρος να περιστραφεί. Όσο πιο λεπτόρευστο είναι το υγρό, τόσο πιο εύκολα ο κύλινδρος περιστρέφεται μέσα στο υγρό. Το ιξωδόμετρο μετράει αυτήν την αντίσταση στην περιστροφή του κυλίνδρου μέσα στο υγρό. Η μέθοδος αυτή θεωρείται ιδανική για μετρήσεις αρκετά παχύρευστων υγρών και εναιωρημάτων.

Στο διάγραμμα της παρακάτω εικόνας (22) φαίνεται η συμπεριφορά του δυναμικού ιξώδους του hydrogel υπό διάφορες ταχύτητες περιστροφής. Η λήψη των τιμών έγινε σταδιακά περνώντας από τις πιο χαμηλές έως τις πιο υψηλές ταχύτητες περιστροφής. Οι δεύτερες τιμές αποκτήθηκαν έπειτα από την ολοκλήρωση της λήψης των πρώτων τιμών, ακολουθώντας την ίδια διαδικασία. Στο παρακάτω διάγραμμα παρατηρείται ότι η ταχύτητα περιστροφής έχει έντονη επίδραση στην τιμή του ιξώδους και μειώνεται όσο πιο γρήγορα περιστρέφεται ο μεταλλικός κύλινδρος. Επίσης, παρατηρήθηκε υποβιβασμός των τιμών του δυναμικού ιξώδους κατά τη δεύτερη διαδικασία μέτρησης. Η θερμοκρασία του πειράματος παρέμενε σταθερή στους 37°C.

Αυτή η ελάττωση του ιξώδους μπορεί να αποδοθεί στην καταστροφή του δικτύου των δεσμών στο υδροπήκτωμα, όσο αυτό βρίσκεται μέσα στο δοχείο μέτρησης και υποβάλλεται σε ισχυρές διατμητικές τάσεις λόγω της περιστροφής του μεταλλικού κυλίνδρου, αλλά και της μικρής απόστασης μεταξύ του τοιχώματος του περιβλήματος και του περιστρεφόμενου κυλίνδρου. Επομένως, εκτός από την αμιγώς φυσικοχημική προσέγγιση, το πείραμα της μέτρησης του ιξώδους με τη συγκεκριμένη πειραματική διάταξη μπορεί ενδεχομένως να προσομοιάσει μία

επιταχυνόμενη κόπωση του βιοϋλικού όταν αυτό είναι εμφυτευμένο στο μυοκάρδιο. Η συγκεκριμένη εφαρμογή του υδροπηκτώματος στο μυοκάρδιο καθιστά το φυσικοχημικό χαρακτηρισμό του ιξώδους του ένα εν δυνάμει *in vitro* δείκτη της απόδοσής του στη συγκεκριμένη ανατομική περιοχή που τελικά αυτό θα εμφυτευθεί.



Εικόνα 22. Εξάρτηση του δυναμικού ιξώδους (η) στους 37°C του 1%Ca - alginate hydrogel από το ρυθμό διάτμησης (γ)

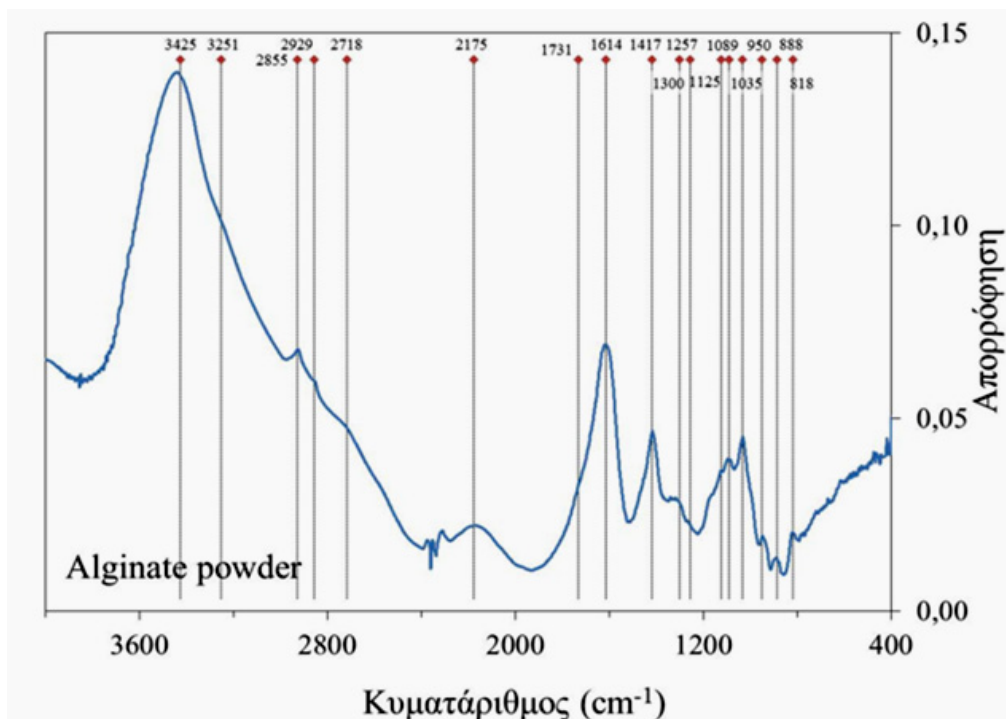
3.1.2.4 Δομικός χαρακτηρισμός με φασματοσκοπία υπέρυθρου (FT IR)

Η υπέρυθρη φασματοσκοπία θεωρείται μια από τις σημαντικότερες φασματοσκοπικές τεχνικές στη Χημεία και στην Επιστήμη Υλικών, λόγω της εύκολης λήψης φασμάτων και της σύγκρισής τους με φάσματα γνωστών ενώσεων. Η συγκεκριμένη τεχνική χρησιμοποιείται για το χαρακτηρισμό των υλικών, την πιστοποίηση της καθαρότητας των χημικών ουσιών, καθώς επίσης και για την παροχή πληροφοριών όσον αφορά στη μοριακή δομή και το περιβάλλον μιας ένωσης ή ενός υλικού. Όταν η υπέρυθρη ακτινοβολία προσπίπτει σε ένα υλικό, μπορεί να το διαπεράσει, να σκεδαστεί ή να απορροφηθεί από αυτό. Η απορροφημένη υπέρυθρη ακτινοβολία συνήθως διεγείρει μόρια σε υψηλότερες στάθμες δόνησης, που είναι

κβαντισμένες. Αυτό παρατηρείται όταν η ενέργεια της ακτινοβολίας είναι ίση με τη διαφορά δύο ενεργειακών δονητικών σταθμών.

Το δείγμα που μετρήθηκε ήταν σε στερεή μορφή (υδροπήκτωμα έπειτα από λυοφιλοποίηση – η μέθοδος περιγράφεται στην επομένη ενότητα της μορφολογικής παρατήρησης). Έτσι χρησιμοποιήθηκε η τεχνική των συμπιεσμένων διαφανών (στο IR) δισκίων KBr. Κάθε δισκίο παρασκευάστηκε ως εξής: Αναμίχθηκε σκόνη δείγματος (περίπου 5% κ.β.) και απολύτως στεγνή σκόνη KBr (95% κ.β.) σε γουδί από αχάτη μέχρι να σχηματιστεί ομοιογενές μίγμα λεπτόκκοκης σκόνης. Σημειωτέον ότι, η άλεση των δύο συστατικών πρέπει να είναι πολύ καλή για αποφυγή απόκτησης χαμηλής ποιότητας φασμάτων. Στη συνέχεια, το μίγμα των κόνεων τοποθετήθηκε σε στερεό πρότυπο και συμπιέστηκε μονοαξονικά (10 N) με υδραυλική πρέσα, ώστε να δημιουργηθεί συμπιεσμένο δισκίο διαμέτρου 1 cm και ύψους 1-1,5 mm. Το κάθε δείγμα παρεμβλήθηκε στην πορεία της δέσμης υπερύθρου φωτός του φασματομέτρου (Jasco, FT/IR-6200) και ελήφθη φάσμα διαπερατότητας και απορρόφησης του υλικού. Προηγουμένως, είχε καταγραφεί το φάσμα χωρίς την τοποθέτηση δείγματος, ώστε να αφαιρεθεί από το τελικό φάσμα. Τα τελικά φάσματα είναι ο μέσος όρος 32 φασμάτων, που μετρήθηκαν στην περιοχή 400-4000 cm^{-1} .

Για την καταγραφή του φάσματος IR του αλγινικού υδροπηκτώματος, χρησιμοποιήθηκε σκόνη από το λυοφιλοποιημένο δείγμα 1% Ca-Alginate Hydrogel. Επίσης, έγινε καταγραφή του φάσματος IR και σε δείγμα καθαρής σκόνης αλγινικού οξέος (εικόνα 23). Και τα δυο φάσματα είναι απολύτως όμοια μεταξύ τους, ως προς τη θέση των κορυφών απορρόφησης, και ως προς τη σχετική ένταση των κορυφών αυτών. Συνεπώς, όλα τα χαρακτηριστικά της δομής του αλγινικού οξέος παραμένουν αμετάβλητα μετά τις διεργασίες της συμπλοκοποίησης του αλγινικού οξέος με Ca^{2+} , της πήξης του διαλύματος στους -20°C και της λυοφιλοποίησης.



Εικόνα 23. Φάσμα απορρόφησης δονητικής φασματοσκοπίας IR της σκόνης του αλγινικού οξέος. Το φάσμα είναι όμοιο με το φάσμα του 1% Ca-alginate hydrogel.

Για την ταυτοποίηση των κορυφών του φάσματος IR, από τη συνεργασία με το Εργαστήριο Κεραμικών και Σύνθετων Υλικών του Τμήματος Μηχανικών Επιστήμης Υλικών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, προέκυψαν (από την ευγενική χορηγία του Επίκουρου Καθηγητή κ. Δ. Παπαγιάννη) οι θεωρητικοί υπολογισμοί της δομής του αλγινικού οξέος και των αντίστοιχων φασμάτων δόνησης αυτής της δομής με τη μέθοδο DFT σε επίπεδο θεωρίας B3LYP/6-31+G(d,p). Από τη σύγκριση των πειραματικά καταγεγραμμένων φασμάτων και των θεωρητικά υπολογισμένων φασμάτων προκύπτει συμφωνία και σύμπτωση των κορυφών. Έτσι, στο πειραματικά καταγεγραμμένο φάσμα IR διακρίνονται οι μεγάλης έντασης ευρείες κορυφές των υψηλών συχνοτήτων (3425, 3251 cm⁻¹), που οφείλονται σε δονήσεις τάσης των ατόμων του H στις μονάδες του OH. Στη συνέχεια, διακρίνεται η κορυφή στην περιοχή 2700-2900 cm⁻¹ λόγω των δονήσεων τάσης των ατόμων του H στους δεσμούς C-H. Η ισχυρή και αιχμηρή κορυφή δόνησης του διπλού δεσμού C=O της καρβοξυλομάδας έχει μέγιστο στους 1614 cm⁻¹. Τέλος, στις μικρότερες συχνότητες

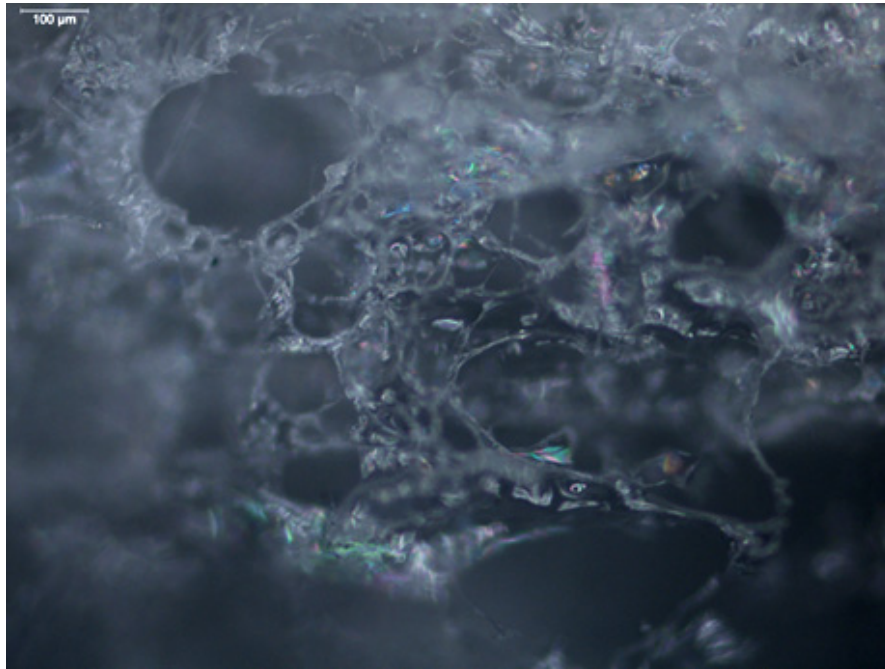
παρατηρούνται πολλές μικρές κορυφές που οφείλονται στις δονήσεις κάμψης του σκελετού των μορίων M και G.

3.1.2.5 Μορφολογικός χαρακτηρισμός

Η τρισδιάστατη δομή του gel μπορεί να διατηρηθεί εάν από το δείγμα αφαιρεθεί όλο το νερό. Η πιο κατάλληλη μέθοδος για αυτό είναι η μέθοδος της εξάχνωσης, που είναι γνωστή ως λυοφιλοποίηση. Είναι γνωστό ότι εάν το δείγμα ψυχθεί αρκετά και όλο το νερό παγώσει, τότε, υπό χαμηλή πίεση, μπορεί ο πάγος να μετατρέπεται απευθείας σε αέριο υδρατμό χωρίς να μεσολαβεί ο σχηματισμός υγρής φάσης. Τα υδροπηκτώματα που επρόκειτο να λυοφιλοποιηθούν, τοποθετούνταν σε ποτήρι ζέσεως, το οποίο τοποθετούνταν στην κατάψυξη (-20°C) ώστε να παγώσει πλήρως. Στη συνέχεια, το παγωμένο δείγμα τοποθετούνταν στη συσκευή λυοφιλοποίησης για 1-2 ημέρες μέχρι να εξαχνωθεί όλος ο πάγος. Στην πειραματική διαδικασία απαιτείται προσοχή ώστε το δοχείο που περιέχει το παγωμένο υδροπηκτώμα να σφραγιστεί με παραφίλμ στο οποίο μετά ανοίγονται οπές με λαβίδα, οι οποίες επιτρέπουν την διέλευση του ατμού προς την αντλία. Το δε παραφίλμ χρειάζεται για να συγκρατήσει το πολύ ελαφρύ gel (ή τη σκόνη) μετά την πλήρη απομάκρυνση του νερού μέσα στο δοχείο και να μην παρασυρθεί προς την αντλία. Η συσκευή της λυοφιλοποίησης έχει ένα κεντρικό κώδωνα ο οποίος είναι συνδεδεμένος με μία αντλία κενού και ένα ψυγείο που λειτουργεί στους -60°C και ψύχει όλο το κώδωνα στη θερμοκρασία αυτή. Το δείγμα μπορεί να τοποθετηθεί είτε μέσα στον κεντρικό κώδωνα είτε με ειδικές υποδοχές μέσα σε ειδικά δοχεία.

Οπτική Μικροσκοπία

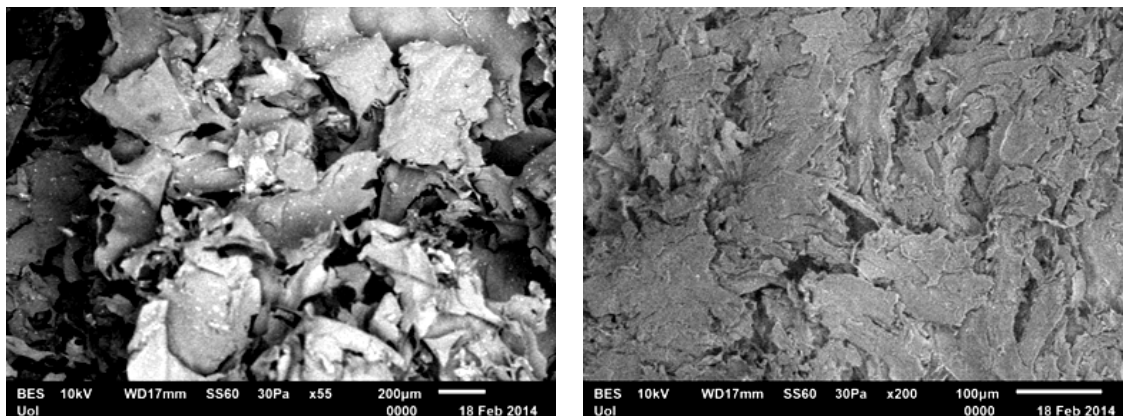
Το οπτικό μικροσκόπιο που χρησιμοποιήθηκε είναι το Optical Microscopy Leica DM-4000M 1000x με επεξεργασία εικόνας. Η φωτογραφία ελήφθη έπειτα από λυοφιλοποίηση του ικριώματος. Στην εικόνα 24 διαρκίνεται ευκρινώς το τεράστιο πορώδες στο εσωτερικό του ικριώματος. Το μεγάλο αυτό πορώδες είναι ιδανικό τόσο για την επαγωγή της αγγείωσης κατά την εμφύτευση (όπως προαναφέρθηκε) όσο και για την *in vitro* καλλιέργεια βλαστοκυττάρων στο εσωτερικό του με στόχο την τελική εμφύτευση στο εμφραγματικό μυοκάρδιο επάγοντας την αναγέννηση του νεκρωθέντος ιστού.



Εικόνα 24. Εικόνα του λυοφιλοποιημένου ικριώματος από οπτικό μικροσκόπιο

Ηλεκτρονική Μικροσκοπία Σάρωσης (SEM)

Στις παρακάτω εικόνες παρουσιάζονται φωτογραφίες από ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM) και απεικονίζουν τη μικροδομή του λυοφιλοποιημένου αλγινικού υδροπηκτώματος (Εικόνα 25α) σε σύγκριση με την αντίστοιχη μικροδομή λυοφιλοποιημένου υγιούς ιστού μυοκαρδίου (Εικόνα 25β). Για τη μελέτη της εξωκυττάριας ουσίας του μυοκαρδίου, απομονώθηκε υγιής καρδιά από επίμυες και ακολούθησε καθαρισμός του εγκλωβισμένου αίματος με φυσιολογικό ορό (έπειτα από καθετηριασμό της αορτής). Στη συνέχεια, έγινε απομόνωση του μυοκαρδίου της αριστερής κοιλίας και τοποθετήθηκε στους -20°C . Τέλος, ο παγωμένος ιστός λυοφιλοποιήθηκε για 24 ώρες.



(α)

(β)

Εικόνα 25. Εικόνα από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (α) λυοφιλοποιημένου ικριώματος και (β) υγιούς εξωκυττάριας μήτρας μυοκαρδίου.

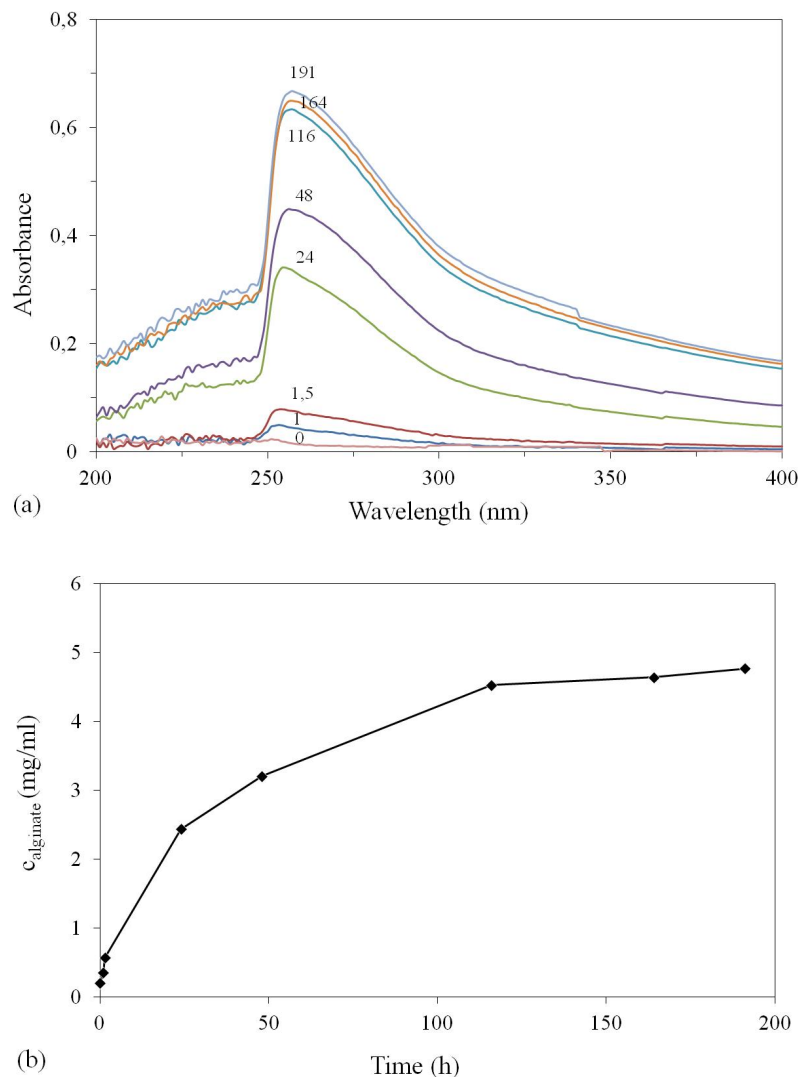
Παρατηρώντας τις δύο αυτές εικόνες από το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο μπορούμε να διαπιστώσουμε την παρόμοια «φυλλοειδή» μορφολογία του alginate hydrogel και της υγιούς εξωκυττάριας μήτρας του μυοκαρδίου. Εφόσον ένας από τους στόχους των πειραμάτων είναι η σύνθεση ικριώματος ως μια συνθετική εξωκυττάρια μήτρα, η ομοιότητα της μικροδομής του ικριώματος με το μυοκάρδιο αποτελεί ένα σημαντικό πλεονέκτημα για το ικρίωμα που κατασκευάστηκε.

3.1.2.6 In vitro έλεγχος βιοαποικοδόμησης (Φωτομετρία UV Vis)

Η βιοαποικοδόμηση του υδροπηκτώματος μελετήθηκε μετά από τοποθέτησή του σε ποτήρι ζέσεως, και ακολούθως, εναπόθεση στην επιφάνεια του πηκτώματος φυσιολογικού ορού. Το δοχείο σφραγίστηκε και τοποθετήθηκε σε επωαστήριο στους 37°C. Καθημερινά, γινόταν λήψη (με χρήση σύριγγας) δείγματος (3 ml) από το υπερκείμενο υγρό και καταγραφόταν το φάσμα σε φωτόμετρο ορατού υπεριώδους (UV-Vis mini 1240, Spectrophotometer, Shimadzu).

Τα αποτελέσματα φαίνονται στα διαγράμματα της Εικόνας 26. Στα φάσματα απορρόφησης (Εικ. 26α) παρατηρείται μία ζώνη απορρόφησης στο διάστημα 240-300 nm με μέγιστο ~250 nm, η οποία αποδίδεται στα συστατικά του αλγινικού υδροπηκτώματος που έχουν περάσει από το υδροπήκτωμα στη φάση του νερού.

Επίσης παρατηρείται ότι η ένταση των φασμάτων αυξάνεται με το χρόνο εμφάνισης του πηκτώματος στο νερό. Με τη χρήση πρότυπης καμπύλης (από μέτρηση απορρόφησης υδροπηκτώματος 1%), από τις τιμές της απορρόφησης στο μέγιστο απορρόφησης του κάθε φάσματος υπολογίστηκε η συγκέντρωση των συστατικών του αλγινικού οξέος στη φάση του νερού (Εικ. 26b). Στο διάγραμμα αυτό, φαίνεται καθαρά ότι το υδροπήκτωμα του αλγινικού οξέος αποσυντίθεται σταδιακά με το χρόνο. Η διάλυση είναι πιο έντονη στις πρώτες 24 ώρες και ολοκληρώνεται περίπου σε μία εβδομάδα.

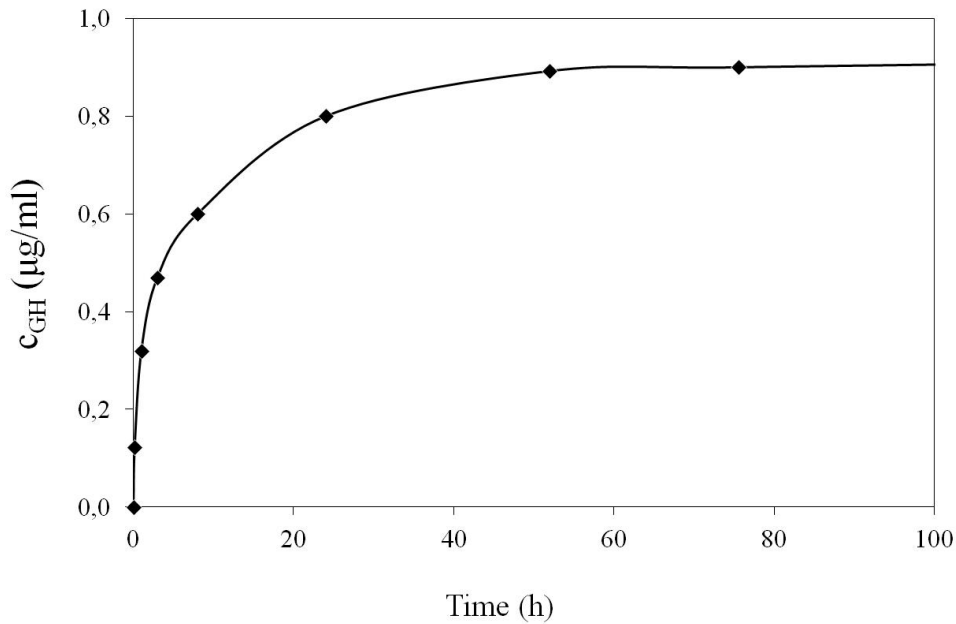


Εικόνα 26. Αποικοδόμηση υδροπηκτώματος αλγινικού οξέος με το χρόνο εμφάνισης σε νερό στους 37°C, (a) φάσματα ορατού-υπεριώδους, και (b) συγκέντρωση προϊόντων διάλυσης αλγινικού υδροπηκτώματος (υπολογισμένα στο μέγιστο της απορρόφησης των φασμάτων).

3.1.2.7 Απελευθέρωση αυξητικής ορμόνης από το υδροπήκτωμα του αλγινικού οξέος

Η πειραματική διαδικασία σε αυτό το πείραμα ήταν ακριβώς όπως και στην περίπτωση της μελέτης αποικοδόμησης του υδροπηκτώματος που περιγράφηκε στην προηγούμενη παράγραφο (τοποθέτηση υδροπηκτώματος σε ποτήρι ζέσεως, εναπόθεση στην επιφάνειά του φυσιολογικού ορού, σφράγιση και τοποθέτηση σε επωαστήριο στους 37°C, λήψη (με χρήση μικροπιπέτας) δείγματος (0,5 ml) από το υπερκείμενο υγρό). Οι μετρήσεις γίνονταν με καταγραφή σε φθοροσίμετρο (RF-5301 PC, Spectrophotometer, Shimadzu) σε βέλτιστες συνθήκες που προσδιορίστηκαν με μετρήσεις που έγιναν πριν το κυρίως πείραμα (μήκος κύματος διέγερσης 280 nm και εκπομπής 329 nm). Για το μηδενισμό του οργάνου (baseline) χρησιμοποιήθηκε αποσταγμένο νερό ενώ για την πρότυπη καμπύλη χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα αυξητικής ορμόνης διαφορετικών συγκεντρώσεων. Η φασματοσκοπία με φθοροσιμετρία είναι ιδανική μέθοδος για ανίχνευση πρωτεϊνών που περιέχουν τρυπτοφάνη και τυροσίνη ακόμα και σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις, όπως αυτές που ανιχνεύτηκαν στην παρούσα μελέτη. Μετρήσεις έγιναν και με υδροπήκτωμα χωρίς καθόλου αυξητική ορμόνη.

Τα αποτελέσματα φαίνονται στο διάγραμμα της εικόνας 28. Παρατηρείται ότι η αυξητική ορμόνη έχει απελευθερωθεί γρήγορα σε διάστημα μίας ημέρας. Το εύρημα αυτό μπορεί να συγκριθεί με τα αποτελέσματα της αποδόμησης του υδροπηκτώματος που παρουσιάστηκαν στην προηγούμενη ενότητα όπου βρέθηκε ότι η διάλυση του αλγινικού οξέος λαμβάνει χώρα πιο έντονα στην πρώτη ημέρα.



Εικόνα 27. Ρυθμός απελευθέρωσης αυξητικής ορμόνης από το υδροπήκτωμα αλγινικού οξέος

3.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ

Στην διατριβή χρησιμοποιήθηκε το πειραματικό πρότυπο εμφράγματος του μυοκαρδίου σε επίμυες. Το πρότυπο αυτό χρησιμοποιείται ευρέως, καθώς προσφέρει σαφή πλεονεκτήματα στη μελέτη της καρδιακής λειτουργίας. Μετά την απολίνωση της στεφανιαίας αρτηρίας, οι επίμυες εμφανίζουν αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας και καρδιακή ανεπάρκεια, που προσομοιάζουν πολύ με τα ευρήματα στον άνθρωπο.

Οι επίμυες (τύπου Wistar) στεγάστηκαν σε μεμονωμένα κλουβιά σε κατάλληλες εργαστηριακές συνθήκες ελεγχόμενης θερμοκρασίας, υγρασίας και φυσιολογικού κύκλου ημέρας/νύχτας, με ελεύθερη χορήγηση τροφής και νερού. Η φροντίδα των πειραματοζώων και οι πειραματικές μέθοδοι ήταν σύμφωνες με τις αρχές που περιγράφονται στη Διακήρυξη του Ελσίνκι και με την Οδηγία 63/2010 της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Όλες οι χειρουργικές επεμβάσεις πραγματοποιήθηκαν στις ειδικές χειρουργικές αίθουσες του Πειραματικού Εργαστηρίου του Ερευνητικού Καρδιαγγειακού Ινστιτούτου υπό άσηπτες συνθήκες. Ειδική μέριμνα έγινε για τη

χρήση των κατάλληλων αναισθητικών και αναλγητικών παραγόντων για την εξάλειψη του πόνου και της κακουχίας των πειραματοζώων κατά τις χειρουργικές επεμβάσεις και μετά από αυτές. Ακολουθήθηκαν αυστηρά όλες οι εθνικές και διεθνείς οδηγίες πειραματισμού σε ζωϊκά πρότυπα και χορηγήθηκε άδεια από τις τοπικές κρατικές αρχές.

3.3 ΠΡΟΚΛΗΣΗ ΕΜΦΡΑΓΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ

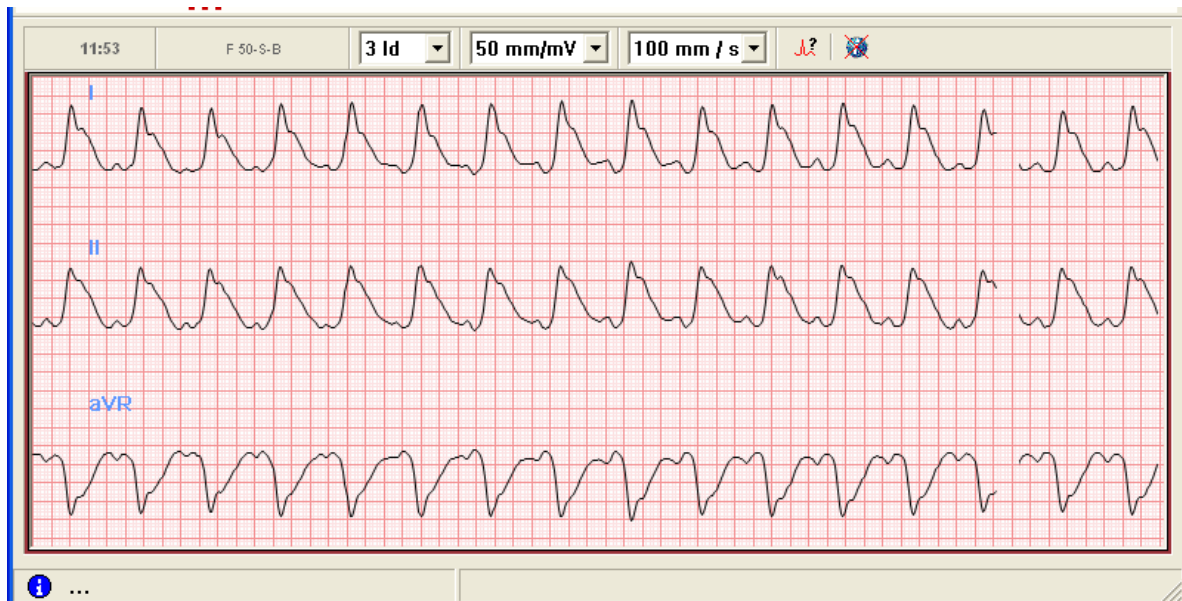
Η πειραματική διαδικασία πρόκλησης εμφράγματος του μυοκαρδίου είναι κοινή και στα δύο μέρη της μελέτης και χρησιμοποιείται ευρέως ([42](#), [47](#)). Έπειτα από αναισθησία με μείγμα ισοφλουρανίου και οξυγόνου σε ειδικό θάλαμο, τα ζώα διασωληνώνονταν και ακολουθούσε μηχανικός αερισμός, χρησιμοποιώντας έναν ειδικό αναπνευστήρα για τρωκτικά (model 7025, Ugo Basile, Comerio, VA, Italy). Η αναισθησία διατηρούνταν με μείγμα οξυγόνου και ισοφλουρανίου.



Εικόνα 28. Επίμυς υπό αναισθησία με μίγμα οξυγόνου και ισοφλουρανίου

Μετά από αριστερή πλάγια θωρακοτομή, παρασκευαζόταν η καρδιά και αφαιρούνταν το περικάρδιο. Η αριστερή στεφανιαία αρτηρία απολινωνόταν χρησιμοποιώντας ένα ράμμα 6-0, τοποθετούμενο μεταξύ του κώνου της πνευμονικής αρτηρίας και του ωτίου του αριστερού κόλπου. Η τεκμηρίωση του εμφράγματος γινόταν με την παρουσία ανάσπασης του διαστήματος ST, σε περισσότερες από δύο

απαγωγές, σε ειδικά τροποποιημένο ηλεκτροκαρδιογράφημα 6 απαγωγών (QRS-Card PC-ECG, Pulse Biomedical Inc., Norristown, PA, USA).



Εικόνα 29. Καταγραφή ηλεκτροκαρδιογραφήματος μετά από περίδεση της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας

Έπειτα από 15 λεπτά, ακολουθούσε η εμφύτευση των βιοϋλικών. Η συρραφή του θωρακικού τοιχώματος γινόταν σε δυο επίπεδα. Ο πνευμοθώρακας εκκενώνετο, επιτρέποντας έτσι στους επίμυες να ανακτήσουν αυτόματη αναπνοή. Τέλος, με την διακοπή του μίγματος αναισθησίας των πειραματοζώων, γινόταν η αφύπνισή τους. Πριν την επέμβαση, και για 5 ημέρες μετά από αυτήν, χορηγείτο ενδομυϊκά προφυλακτική αντιβιοτική αγωγή με 15mg/kg κεφαζολίνης. Επίσης, χορηγείτο μια εφάπαξ δόση βουπρενορφίνης (0,05mg/kg) ως αναλγησία, καθώς δεν επηρεάζει τη φλεγμονώδη αντίδραση μετά το έμφραγμα.

3.4 ΠΡΩΤΟ ΜΕΡΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ: ΕΜΦΥΤΕΥΣΗ

ΙΚΡΙΩΜΑΤΩΝ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟ ΥΔΡΟΠΗΚΤΩΜΑ

ΠΟΛΥΑΙΘΥΛΕΝΟΓΛΥΚΟΛΗΣ

3.4.1 Υλικό και Μέθοδοι

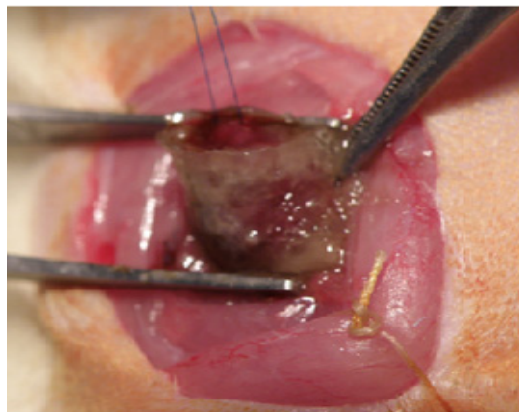
Στο πρώτο μέρος της μελέτης χρησιμοποιήθηκε η πολυαιθυλενογλυκόλη με διακρυλικό οξύ (PEGDA). Συγκεκριμένα, βασικός κορμός ήταν το πολυμερές PEGDA με ενσωμάτωση του σεβακικού οξέος (PEGSDA) και παρασκευάστηκαν δυο μορφές, αυτή του υδροπηκτώματος PEGSDA και αυτή του σύνθετου βιολογικού ικριώματος PEGSDA hydrogel σε γάζα οξικής κυτταρίνης (G-PEG). Το PEGSDA επιλέχθηκε κυρίως για την μηχανική του αντοχή και την παρατεταμένη βιοαποικοδομησιμότητα (71). Το hydrogel PEGSDA εφαρμόσθηκε με προσοχή στο επικάρδιο της αριστερής κοιλίας, ενώ το G-PEG τοποθετήθηκε στο επικάρδιο περιμετρικά με προσεκτική σταθεροποίηση, όπως σε προηγούμενες εφαρμογές (75). Όλα τα βιολογικά ικρίωματα που μελετήθηκαν αποστειρώθηκαν με τη χρήση υπεριώδους ακτινοβολίας.

3.4.1.1 Εμφύτευση του ικριώματος βιολογικών υλικών

Το βιολογικό ικρίωμα εμφυτευόταν στο επικάρδιο 15 λεπτά μετά την απόφραξη του στεφανιαίου αγγείου. Το ικρίωμα (PEGSDA hydrogel σε γάζα - G-PEG) τυλιγόταν γύρω από την καρδιά, από τη βάση ως την κορυφή της και σταθεροποιούνταν με απορροφήσιμο ράμμα τελικο-τελικά. Ιδιαίτερη έμφαση δινόταν στον παράλληλο προσανατολισμό του ικριώματος με τις ίνες του κοιλιακού μυοκαρδίου.

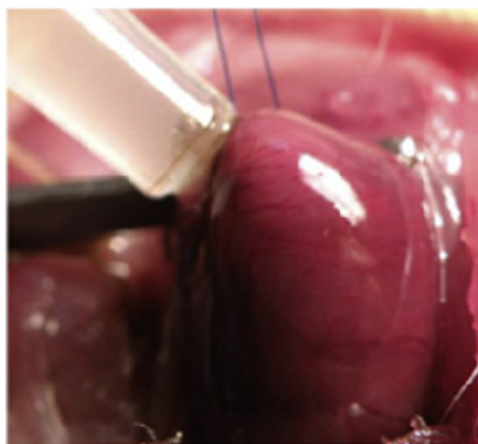


Εικόνα 30. Εμφύτευση G-PEG στο επικάρδιο (1)



Εικόνα 31. Εμφύτευση G-PEG στο επικάρδιο (2)

Το PEGSDA hydrogel (1ml) απλώνόταν προσεκτικά στο προσθιοπλάγιο τοίχωμα της αριστερής κοιλίας.

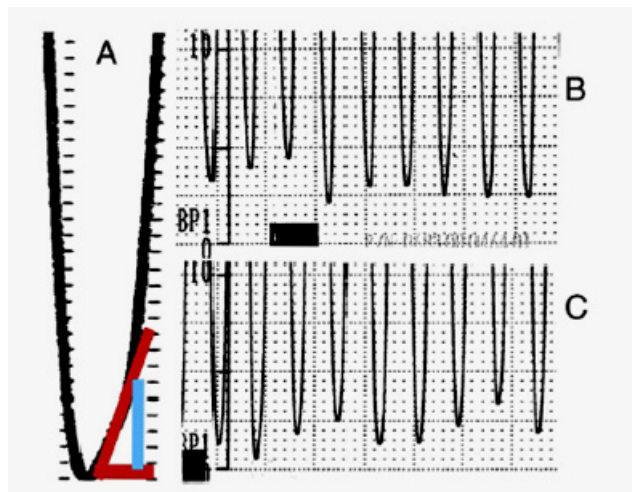


Εικόνα 32. Τοποθέτηση PEGSDA Hydrogel στο επικάρδιο

Η μετεγχειρητική πορεία των πειραματοζώων παρακολουθούνταν και καταγραφόταν συνεχώς.

3.4.1.2 Εκτίμηση της πλήρωσης της αριστερής κοιλίας

Οι μετρήσεις των πιέσεων της αριστερής κοιλίας έγιναν πριν και μετά την εμφύτευση του G-PEG, με έναν καθετήρα 18G που τοποθετούνταν στην κορυφή της αριστερής κοιλίας και οι μετρήσεις αποθηκεύοντο μέσω του καταγραφικού συστήματος Fukuda Denshi/Datascope – model IB5006. Ως δείκτες της διαστολικής πλήρωσης, μετρήθηκαν η τελοδιαστολική πίεση της αριστερής κοιλίας (EDP) και η κλίση της πρώιμης διαστολικής πίεσης.



Εικόνα 33. Διαστολική πίεση. (Α) Μετρήσεις διαστολικής πίεσης. Παραδείγματα πριν (Β) και μετά (C) την εμφύτευση του G-PEG.(122)

Οι μετρήσεις σαρώθηκαν και μεγεθύνθηκαν κατά 600%, με τη χρήση του Image Tool (University of Texas Health Science Center in San Antonio, USA) και λήφθηκε ο μέσος όρος τιμών από 10 συνεχείς καρδιακές συστολές.

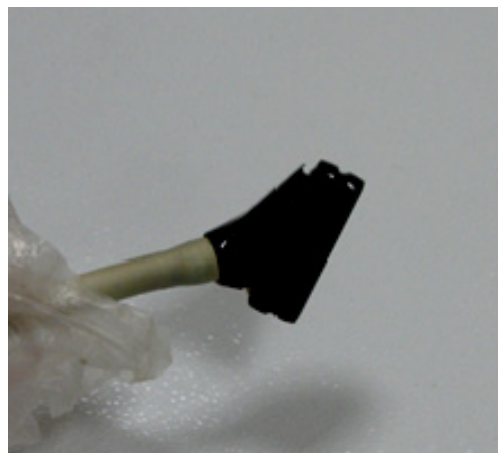
3.4.1.3 Θνητότητα

Η θνητότητα καταγραφόταν αμέσως μετά τη χειρουργική επέμβαση και, μετέπειτα, καθημερινά μέχρι το τέλος της περιόδου παρατήρησης. Τα ποσοστά θνητότητας συγκρίθηκαν ξεχωριστά στις ομάδες μελέτης με έμφραγμα και σε εκείνες

χωρίς έμφραγμα. Όλα τα πειραματόζωα επιθεωρούνταν καθημερινώς για σημεία βακτηριακής μόλυνσης και οι περιπτώσεις αυτές αποκλείονταν από την μελέτη.

3.4.1.4 Υπερηχοκαρδιογραφική ανάλυση

Η υπερηχογραφική μελέτη πραγματοποιείτο 15 ημέρες μετά την πρόκληση του εμφράγματος. Ακολουθήθηκε η διαδικασία που περιγράφηκε σε προηγούμενες μελέτες ([123](#)). Συγκεκριμένα, οι επίμυες αναισθητοποιούνταν με ενδομυϊκή ένεση κεταμίνης (100mg/kg) και σταθεροποιούνταν σε ύπτια θέση. Η θερμοκρασία του σώματός τους διατηρούνταν στους 37°C σε όλη τη διαδικασία, μέσω θερμαινόμενης πλάκας. Μετά την εφαρμογή της γέλης υπερήχων στην προκάρδια περιοχή, ένας μετατροπέας 14 MHz, ενός ψηφιακού υπερηχογράφου (Vivid 7, GE Healthcare, UK) χρησιμοποιήθηκε για την απεικόνιση την αριστερής κοιλίας σε κορυφαία προβολή, καθώς και σε παραστερνική προβολή κατά μήκος του επιμήκους/μακρού και του εγκάρσιου/βραχέος άξονα. Η ανάλυση έγινε χωρίς γνώση της θεραπείας του κάθε πειραματοζώου.



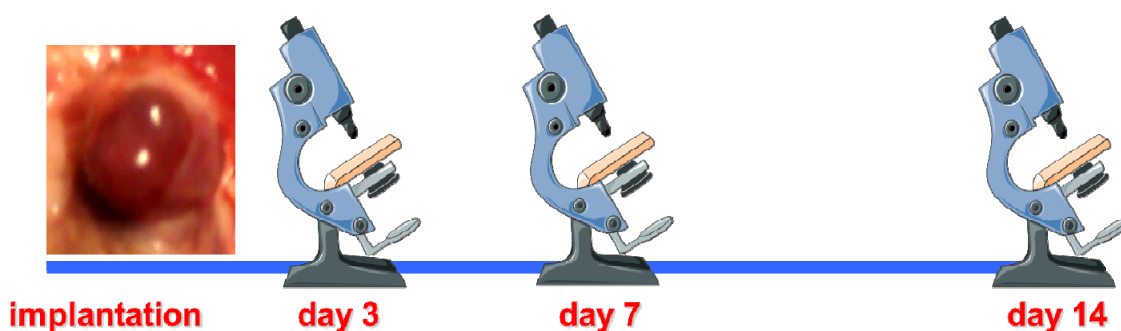
Εικόνα 34. Ο μετατροπέας υπερήχων που χρησιμοποιήθηκε

Για όλες τις μετρήσεις, υπολογίστηκε ο μέσος όρος δέκα διαδοχικών καρδιακών κύκλων και όλες οι παράμετροι μετρούντο σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες της Αμερικανικής Εταιρείας Ηχοκαρδιογραφίας. Μετρούντο η διάμετρος της κοιλίας και το πάχος του τοιχώματος και εκτιμήθηκε η συστολική και διαστολική λειτουργία. Συγκεκριμένα, μετρήθηκαν ο επιμήκης και ο εγκάρσιος άξονας της αριστερής κοιλίας, η εσωτερική τελοδιαστολική (LVIDd) και

τελοσυστολική (LVIDs) διάμετρος της αριστερής κοιλίας και το τελοδιαστολικό πάχος του οπισθίου τοιχώματος (PWd). Η ταχύτητα της συστολής του οπισθίου τοιχώματος (PWSV) μετρήθηκε με καταγραφή διδιάστατων M-mode εικόνων στο μέσον της αριστερής κοιλίας. Το κλάσμα εξώθησης (EF) υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας την τροποποιημένη εξίσωση του Simpson. Ο δείκτης σφαιρικότητας (sphericity index) ορίστηκε ως επιμήκης/εγκάρσιος άξονας και ο δείκτης τοιχωματικής τάσης (WTI) ορίστηκε ως $(LVIDd/2 \times PWd)$.

3.4.1.5 Ιστολογική εκτίμηση

Μετά το πέρας συγκεκριμένου χρόνου από την εμφύτευση (στις 3, 7 και 15 ημέρες), τα πειραματόζωα υπό αέριο αναισθησία, διασωληνώνονταν και γινόνταν μακροσκοπική εκτίμηση της καρδιάς. Έπειτα, θανατώνονταν με τη χρήση χλωριούχου καλίου, προκειμένου να ληφθούν δείγματα καρδιακού ιστού στην διαστολή.



Εικόνα 35. Σχεδιάγραμμα Ιστολογικής ανάλυσης

Κατόπιν λήφθηκαν κατάλληλες τομές της αριστερής κοιλίας, που περιελάμβαναν, τόσο εμφραγματικό, όσο και μη εμφραγματικό μυοκάρδιο. Τα παρασκευάσματα υποβάλλονταν σε έκπλυση με φυσιολογικό ορό, μονιμοποιούνταν σε διάλυμα 10% ουδέτερης φορμόλης και αποστέλλονταν για ιστοπαθολογική εξέταση.

Οι τομές επωάστηκαν σε διάλυμα αιθανόλης και κατόπιν ενσωματώθηκαν σε μπλοκ παραφίνης. Κατόπιν, λήφθηκαν 3 διαδοχικές τομές (πάχους 3-4μm) από κάθε μπλοκ και βάφτηκαν με χρώση αιμοτοξυλίνης-ηωσίνης για μορφολογική αξιολόγηση. Επιπρόσθετες τομές μελετήθηκαν ανοσοϊστοχημικά με τα ακόλουθα αντισώματα:

CD68, δείκτη για μακροφάγα - καλρετινίνη, δείκτη για μεσοθηλιακά – βιμεντίνη, δείκτη για μεσεγχυματικά κύτταρα). Όλες οι τομές μελετήθηκαν χωρίς να αποκαλυφθεί η ομάδα του κάθε δείγματος.

Η αντίδραση ξένου σώματος βαθμολογήθηκε με βαθμονόμηση από 0-3, ανάλογα με το αν ήταν απύουσα (0) – ήπια (1) – μέτρια (2) ή έντονη (3). Εάν υπήρχε σημαντική διήθηση από ουδετερόφιλα προθέτονταν ακόμη ένας βαθμός. Παρόμοια βαθμονόμηση χρησιμοποιήθηκε και στην εκτίμηση της ινοβλαστικής αντίδρασης. Η ιστολογική εκτίμηση έγινε χωριστά για την ομάδα των εμφραγματικών, από την ομάδα των μη εμφραγματικών πειραματοζώων.

Η ιστολογική εξέταση επικεντρώθηκε, (α) στην ανεύρεση και αξιολόγηση της τοπικής φλεγμονώδους αντίδρασης, (β) στον έλεγχο και την εκτίμηση του τύπου, του βαθμού και της έκτασης της ιστικής αντίδρασης στις ανατομικές περιοχές όπου έχει τοποθετηθεί το βιο-διασπώμενο ικρίωμα σε κάθε χρονικό στάδιο (κατά την 3η, 7η και 14η ημέρα από την εμφύτευση) και (γ) στην αξιολόγηση της ίνωσης.

3.4.1.6 Στατιστική Ανάλυση

Όλα τα αποτελέσματα αναφέρονται ως μέσος όρος $\pm$ τυπικό σφάλμα. Οι διαφορές μεταξύ των ποσοτικών μεταβλητών συγκρίθηκαν χρησιμοποιώντας την ανάλυση μεταβλητότητας, ακολουθούμενη από την post-hoc εφαρμογή Newman Keuls πολλαπλών σταδίων. Οι ποιοτικές μεταβλητές συγκρίθηκαν με την δοκιμασία δύο πλευρών κατά Fisher. Δημιουργήθηκαν καμπύλες επιβίωσης κατά Kaplan-Meier για κάθε ομάδα, και η ετερογένεια μελετήθηκε με την δοκιμασία χ^2 , ξεχωριστά για την εμφραγματική και μη εμφραγματική ομάδα. Το επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε στο 0,05.

3.4.2 Αποτελέσματα

Η αξιολόγηση πραγματοποιήθηκε σε ένα σύνολο 230 επιμύων τύπου Wistar, βάρους 358 ± 7 gr. Ο αρχικός χαρακτηρισμός του G-PEG διενεργήθηκε σε 20 επίμυες. Κατά τη φάση αυτή σταθεροποιήθηκε η μέθοδος εμφύτευσης του βιοϋλικού και αξιολογήθηκαν οι επιδράσεις του στην διαστολική πλήρωση της αριστερής κοιλίας.

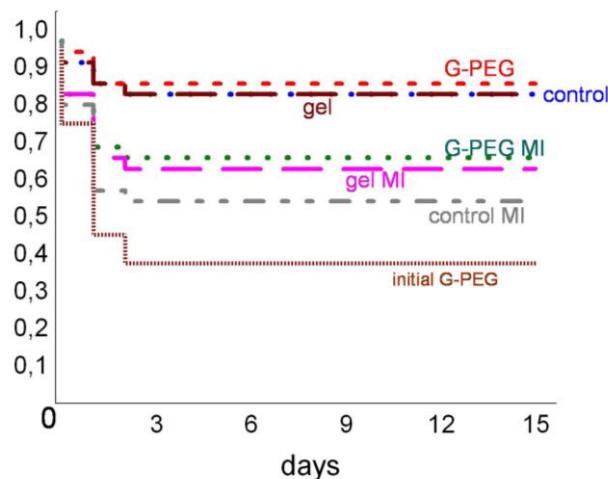
Οι ομάδες των επίμυων διαχωρίστηκαν ως εξής:

- (A) Ομάδα με εμφύτευση G-PEG (n=35),
- (B) Ομάδα με εμφύτευση PEGSDA hydrogel (n=35),
- (C) Ομάδα ελέγχου (n=35),
- (D) Ομάδα εμφραγματικών επίμυων με εμφύτευση G-PEG (n=35),
- (E) Ομάδα εμφραγματικών επίμυων με εμφύτευση PEGSDA hydrogel (n=35),
- (F) Ομάδα εμφραγματικών επίμυων χωρίς βιοϋλικό (n=35).

Η περίοδος παρατήρησης ήταν 15 ημέρες.

3.4.2.1 Θνητότητα

Οι καμπύλες Kalpan-Meier φαίνονται στη εικόνα 34. Δεν παρατηρήθηκε ετερογένεια εντός των ομάδων A-C ($\chi^2=0.13$, $p=0.93$) ή μεταξύ των ομάδων D-F ($\chi^2=0.86$, $p=0.64$). Πρέπει να σημειωθεί ότι παρατηρήθηκε σημαντική θνητότητα στην έναρξη του πειράματος κατά το αρχικό στάδιο χαρακτηρισμού του G-PEG ($\chi^2=13.3$, $p=0.0038$ σε ομάδες χωρίς έμφραγμα του μυοκαρδίου).



Εικόνα 36. Σύγκριση της θνητότητας μεταξύ των ομάδων. Η αρχική τοποθέτηση του G-PEG σχετίστηκε με αυξημένη θνητότητα.(122)

3.4.2.2 Εκτίμηση διαστολικής πλήρωσης

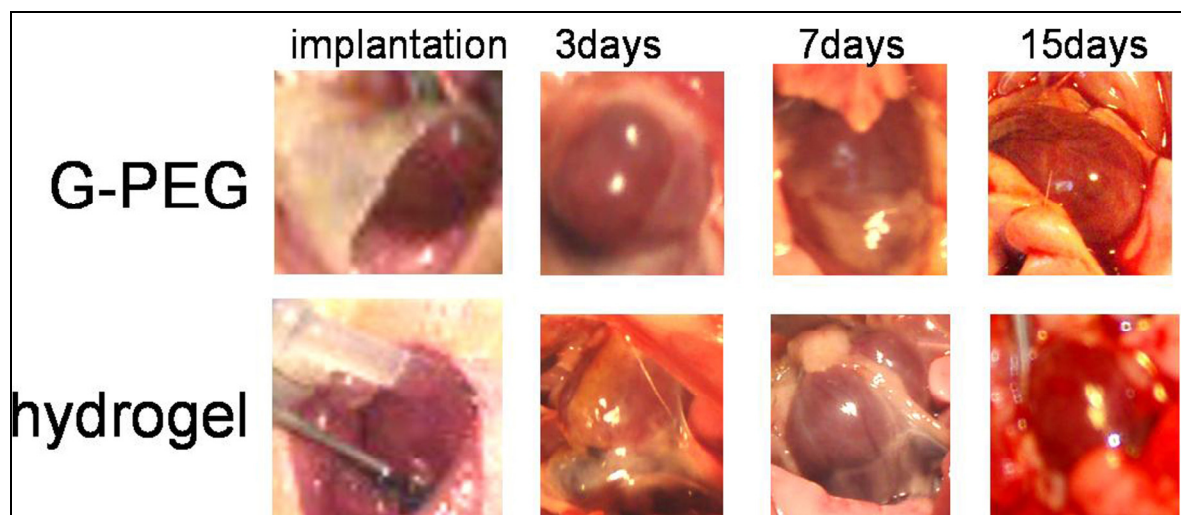
Οι δείκτες της διαστολικής πλήρωσης της αριστερής κοιλίας ήταν παρόμοιοι πριν και μετά την εμφύτευση του G-PEG. Δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά στην τελοδιαστολική πίεση ($3.5 \pm 0.4 \text{ mmHg}$ έναντι $3.4 \pm 0.3 \text{ mmHg}$, $p=0.50$) ή στην αύξηση της κλίσης της διαστολικής πίεσης ($85.3^\circ \pm 1.0^\circ$ versus $84.9^\circ \pm 1.2^\circ$, $p=0.69$). Χαρακτηριστικά παραδείγματα μετρήσεων φαίνονται στην εικόνα 33.

3.4.2.3 Βακτηριακή λοίμωξη

Την 3^η ημέρα παρατηρήθηκαν σημεία φλεγμονής σε 2 επίμυες (3,7%) με εμφυτευμένο G-PEG και σε 1 επίμυ με εμφυτευμένο υδροπήκτωμα (1,9%). Την 7^η ημέρα, εμφανίστηκε λοίμωξη σε 1 επίμυ με G-PEG (2,3%) και σε 1 με υδροπήκτωμα (2,7%). Οι διαφορές ανάμεσα στις δύο ομάδες δεν ήταν στατιστικά σημαντικές.

3.4.2.4 Σταθερότητα και αποδόμηση του βιοϋλικού

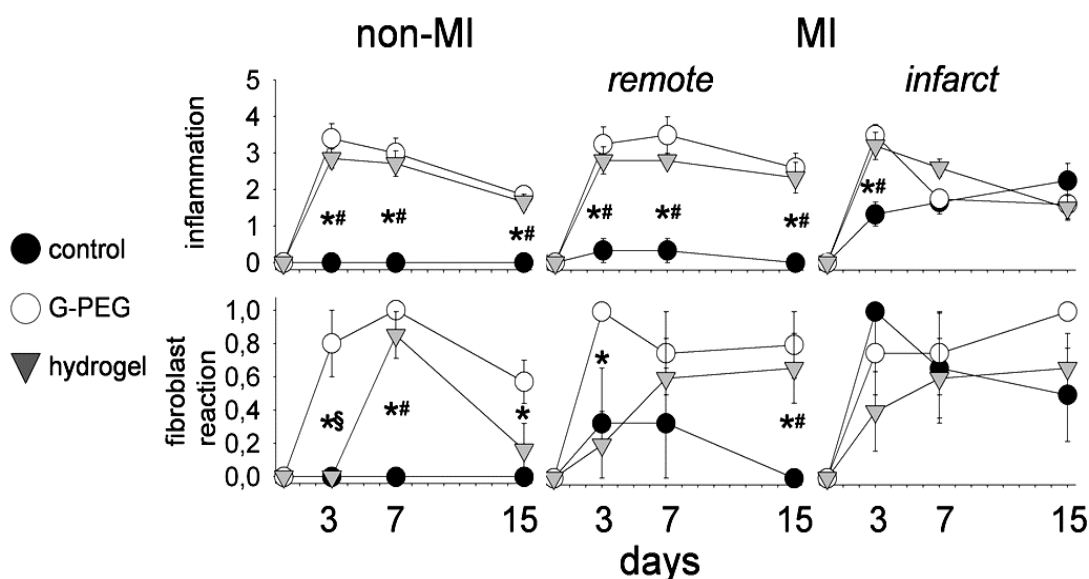
Το G-PEG βρέθηκε μετατοπισμένο στο θώρακα 1 επίμυ (1,8%) την 3^η ημέρα και αποκλείστηκε από περαιτέρω μελέτη. Την 3^η ημέρα και τα δυο βιοϋλικά ανιχνεύοντο μακροσκοπικά σε όλα τα πειραματόζωα. Την 7^η ημέρα, το G-PEG βρέθηκε σε 4 (44,4%) και το hydrogel σε 7 (58,3%) δείγματα. Κανένα από τα δύο βιοϋλικά δεν ανιχνεύθηκε την 15^η ημέρα.



Εικόνα 37. Η χρονική πορεία της αποδόμησης των δύο βιοϋλικών

3.4.2.5 Φλεγμονώδης αντίδραση ξένου σώματος

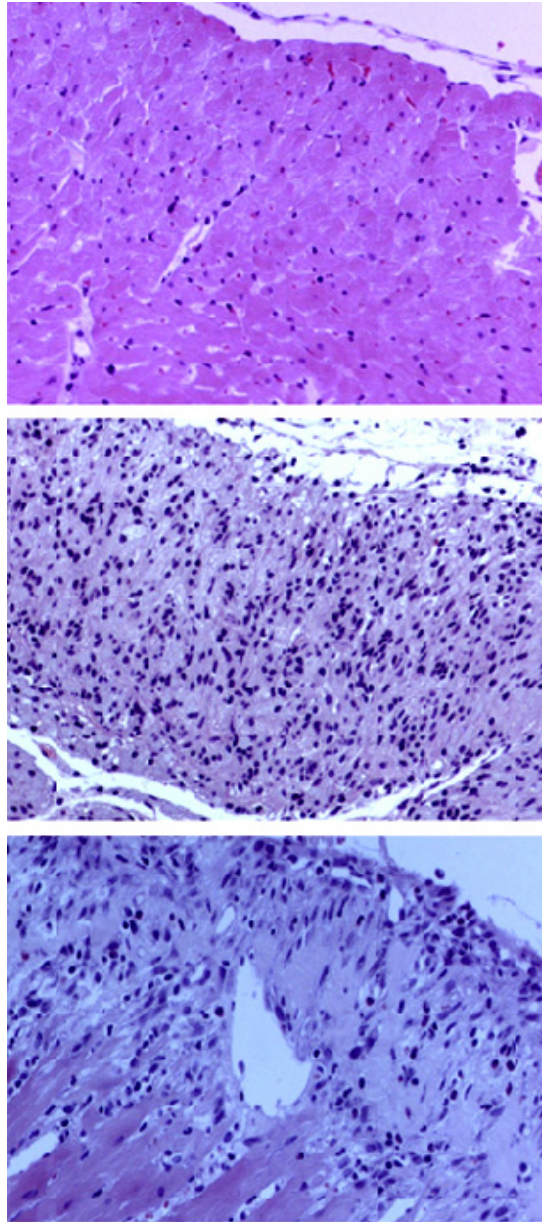
Η φλεγμονώδης αντίδραση ξένου σώματος φαίνεται στην εικόνα 38. Στις ομάδες χωρίς έμφραγμα παρατηρήθηκε μια διακύμανση στην βαθμονόμηση της φλεγμονής ($p<0,0001$) την 3^η, 7^η και 15^η ημέρα, λόγω των υψηλότερων τιμών και στα δυο βιοϋλικά, χωρίς διαφορές ανάμεσα τους. Στις ομάδες με έμφραγμα, μια παρόμοια αντίδραση ($p<0,01$) υπήρξε στη μη εμφραγματική ζώνη, ενώ στην εμφραγματική ζώνη η φλεγμονώδης αντίδραση ξένου σώματος παρατηρήθηκε μόνο την 3^η ημέρα ($p=0,0065$).



Εικόνα 38. Φλεγμονώδης αντίδραση ξένου σώματος. Βαθμονόμηση φλεγμονής και ινοβλαστική αντίδραση ($p<0,05$ μεταξύ G-PEG και controls * - μεταξύ hydrogel και controls # - μεταξύ των δυο βιοϋλικών §)([122](#))

Σημαντική ινοβλαστική αντίδραση παρατηρήθηκε την 3^η ημέρα στις ομάδες μελέτης χωρίς έμφραγμα του μυοκαρδίου μόνο μετά την εμφύτευση του G-PEG και παρέμεινε υψηλότερη, συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, την 7^η και 15^η ημέρα ($p=0,019$ και $p=0,033$, αντίστοιχα). Αντίθετα, ινοβλαστική αντίδραση παρατηρήθηκε μόνο την 7^η ημέρα μετά την εμφύτευση του υδροπηκτώματος. Στις ομάδες μελέτης που είχε προηγηθεί έμφραγμα του μυοκαρδίου, η μη εμφραγματική περιοχή εμφάνισε παρόμοια χαρακτηριστικά και στις δύο ομάδες μελέτης βιοϋλικών,

σημειώνοντας σημαντικές διαφορές συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου την 3^η και την 15^η ημέρα. Στην εμφραγματική περιοχή, ινοβλαστική αντίδραση παρατηρήθηκε σε όλες τις ομάδες μελέτης.

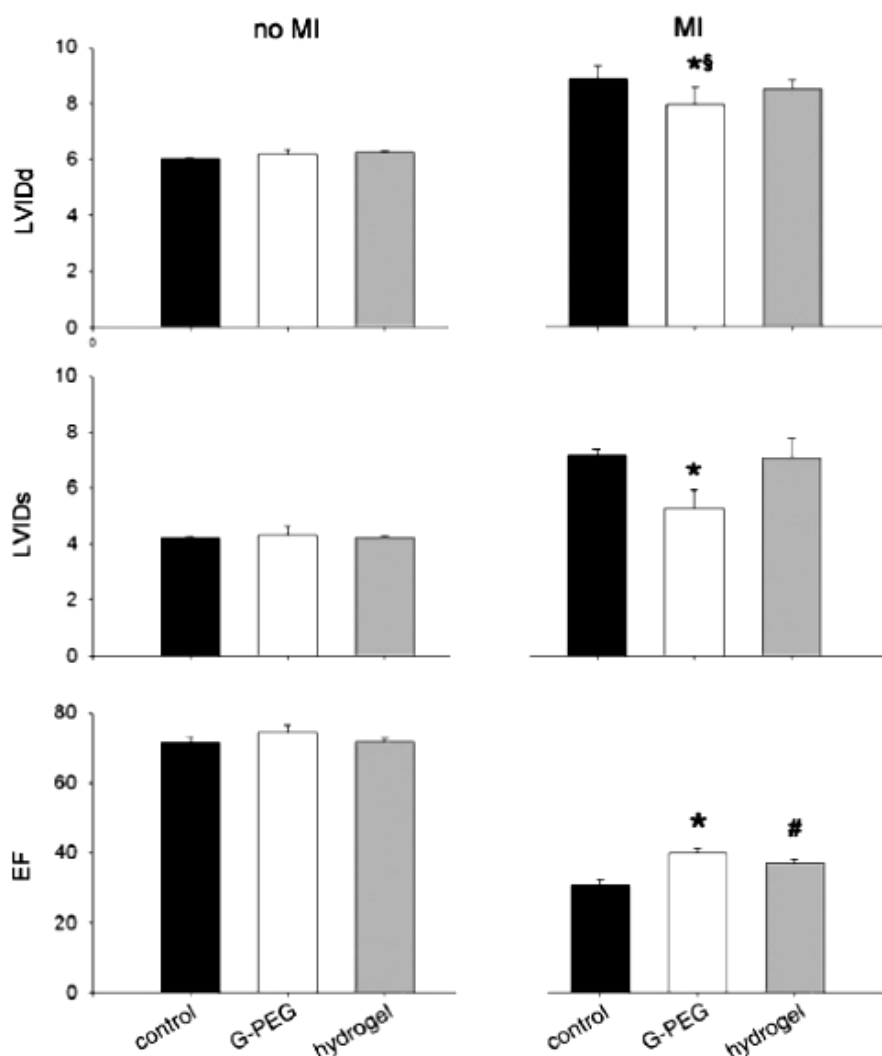


Εικόνα 39. Ινοβλαστική αντίδραση την 7^η μέρα παρατήρησης σε υγιές μυοκάρδιο ομάδας ελέγχου (επάνω), σε μυοκάρδιο με PEGSDA scaffold (μέσον) και σε μυοκάρδιο με hydrogel (κάτω).

3.4.2.6 Υπερηχοκαρδιογραφική ανάλυση

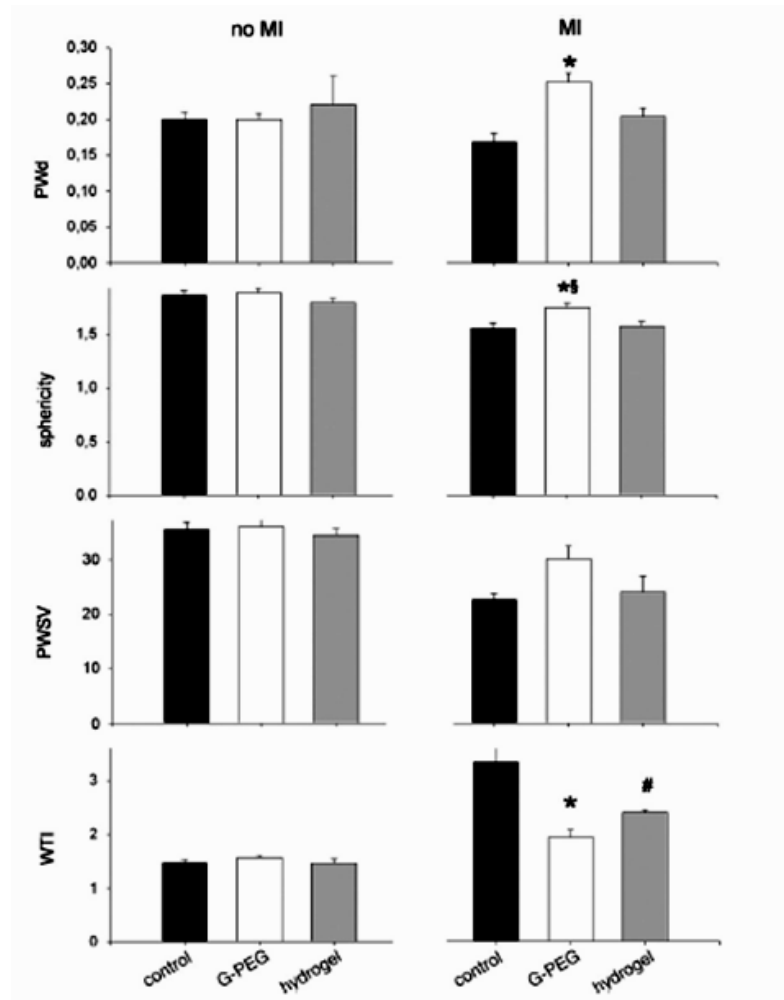
Στις ομάδες πειραματοζώων χωρίς έμφραγμα του μυοκαρδίου δεν παρατηρήθηκε σημαντική διακύμανση τιμών. Στις ομάδες με έμφραγμα του μυοκαρδίου, η **τελοδιαστολική διάμετρος της αριστερής κοιλίας (LVIDd)** ήταν μικρότερη στην ομάδα του G-PEG σε σύγκριση τόσο με την ομάδα ελέγχου ($p=0,0054$) όσο και με την ομάδα του υδροπηκτώματος ($p=0,044$). Η **τελοσυστολική διάμετρος της αριστερής κοιλίας (LVIDs)** ήταν μικρότερη στην ομάδα του G-PEG σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($p=0,038$), αλλά η διαφορά μεταξύ της ομάδας του G-PEG και του υδροπηκτώματος ήταν οριακής σημαντικότητας ($p=0,067$). Το **κλάσμα εξώθησης** ήταν μεγαλύτερο στην ομάδα του G-PEG ($p=0,0031$) και του υδροπηκτώματος ($p=0,017$), συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, χωρίς διαφορές ανάμεσά τους.

Εικόνα 40.
Διαστάσεις και
λειτουργία
αριστερής κοιλίας.
(LVIDd:εσωτερική
τελοδιαστολική
διάμετρος,
LVIDs:εσωτερική
τελοσυστολική
διάμετρος,
EF:κλάσμα
εξώθησης)-(p<0,05
μεταξύ G-PEG και
controls * - μεταξύ
υδροπηκτώματος
και controls # -
μεταξύ των δυο
βιοϋλικών §)(122)



Ο δείκτης τοιχωματικής τάσης (WTI) ήταν χαμηλότερος και για τις δυο ομάδες των βιοϋλικών, χωρίς διαφορά ανάμεσά τους. Το **τελοδιαστολικό πάχος του οπισθίου τοιχώματος (PWd)** είχε υψηλότερες τιμές στην ομάδα το G-PEG σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου ($p=0,0023$), όμως η διαφορά μεταξύ των δυο υλικών ήταν οριακής σημαντικότητας ($p=0,072$). Ο **δείκτης σφαιρικότητας** ήταν υψηλότερος στην ομάδα του G-PEG συγκριτικά με την ομάδα του υδροπηκτώματος ($p=0,029$) ή την ομάδα ελέγχου ($p=0,038$). Η διαφορά της **ταχύτητας συστολής του οπισθίου τοιχώματος (PWSV)** μεταξύ της ομάδας του G-PEG και της ομάδας ελέγχου ήταν οριακής σημαντικότητας ($p=0,053$), όπως και αυτή μεταξύ των δύο βιοϋλικών ($p=0,060$).

Εικόνα 41. Δείκτες αναδιαμόρφωσης. (PWd: τελοδιαστολικό πάχος οπισθίου τοιχώματος, PWSV: ταχύτητα σύσπασης του οπισθίου τοιχώματος, WTI: δείκτης τοιχωματικής τάσης)-(p<0,05 μεταξύ G-PEG και controls * - μεταξύ υδροπηκτώματος και controls # - μεταξύ των δυο βιοϋλικών §)([122](#))



3.4.3 Συζήτηση

Η αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου αποτελεί παράγοντα πτωχής πρόγνωσης, παρά τις εφαρμοζόμενες θεραπείες. Προς την κατεύθυνση αυτή λοιπόν αναπτύχθηκαν βιοϋλικά με μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον. Σε πειραματικές ([124](#), [125](#)) και κλινικές ([78](#)) μελέτες αποδείχθηκε ότι ο περιορισμός της αριστερής κοιλίας διατήρησε τον όγκο και τη λειτουργία της, αλλά η πιθανή αντίδραση ξένου σώματος μακροπρόθεσμα, περιόρισε την εφαρμογή του.

Στην διατριβή εξετάστηκε η υπόθεση ότι ο περιορισμός της αριστερής κοιλίας κατά την οξεία φάση, αμέσως μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου, θα μπορούσε να έχει ευεργετικά αποτελέσματα, αποφεύγοντας τη μακροπρόθεσμη αντίδραση ξένου σώματος. Χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο πρόκλησης εμφράγματος σε επίμυες, με τη χρήση ενός βιοαποικοδομήσιμου ικριώματος. Παρατηρήθηκε μείωση του όγκου της αριστερής κοιλίας (κατά 20% περίπου) και αύξηση του κλάσματος εξώθησης (κατά 30% περίπου) έπειτα από μεσοπρόθεσμη παρατήρηση. Η αντίδραση ξένου σώματος ενεργοποιήθηκε νωρίς, αλλά με επακόλουθη ύφεση.

Αποδόμηση βιολογικών ικριωμάτων.

Προηγούμενος χαρακτηρισμός πολυανυδρογλυκουρονικού οξέος *in vitro* έδειξε ότι διαθέτει κατάλληλες μηχανικές και χημικές ιδιότητες, αλλά μικρό διάστημα αποδόμησης ([121](#)). Η κατάλληλη δομή PEGSDA υδροπηκτώματος έχει περιγραφεί *in vitro* και παρατείνει την αποδόμηση. Στην παρούσα μελέτη βρέθηκε ότι και τα δύο υπό εξέταση βιοϋλικά (G-PEG και hydrogel) ήταν παρόντα μακροσκοπικά την 3^η ημέρα, παρουσίασαν περίπου 50% βιοδιάσπαση/απορρόφηση την 7^η ημέρα και 100% στις 15 ημέρες μετά την εμφύτευση.

Περίοδος αναδιαμόρφωσης.

Στα πειράματα που διενεργήθηκαν στην παρούσα μελέτη, η περίοδος 7 ημερών ήταν αρκετή για να αμβλυνθεί η αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας, εύρημα που συνηγορεί στο ότι η περίοδος αμέσως μετά το έμφραγμα είναι κρίσιμη και, κατά συνέπεια, η αποτελεσματικότητα των εφαρμοζόμενων θεραπειών στο διάστημα αυτό είναι μεγάλη.

Η παθοφυσιολογική διεργασία μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου μπορεί να διαιρεθεί σε δύο φάσεις, την πρώιμη (<72h) και την όψιμη (>72h) (13). Η καταστροφή του κολλαγόνου μπορεί να συμβεί εντός ωρών από τη μυοκαρδιακή βλάβη και ευθύνεται για την μετακίνηση νεκρωμένων μυοϊνιδίων οδηγώντας σε έκπτυξη της εμφραγματικής περιοχής. Η όψιμη φάση, περιλαμβάνει αλλαγές στην αρχιτεκτονική ολόκληρου του μυοκαρδίου, που ενεργοποιούνται από την αύξηση της τοιχωματικής τάσης, έως ότου οι τάσεις διάτασης σταθεροποιηθούν με το σχηματισμό ουλής κολλαγόνου (126). Επομένως, η αναδιαμόρφωση της μη εμφραγματικής περιοχής καθορίζεται από τη μορφολογία της αριστερής κοιλίας και από τη διαδικασία επούλωσης του εμφράγματος, η οποία με τη σειρά της εξαρτάται από το σχηματισμό και την αποδόμηση του κολλαγόνου. Οι διαδικασίες αυτές στο πειραματικό πρότυπο του επίμυος εμφανίζουν την μέγιστη ένταση την 7^η ημέρα και σχεδόν ολοκληρώνονται τη 14^η ημέρα (127). Αν και η επταήμερη περίοδος δράσης του G-PEG περιλαμβάνει την «κρίσιμη» περίοδο αναδιαμόρφωσης, είναι αναγκαίες περισσότερες μελέτες για να εξετάσουν αν η επιπρόσθετη παράταση της απορρόφησης του βιοϋλικού βελτιώνει την αποτελεσματικότητά του.

Σημαντικό είναι ότι η περίοδος αναδιαμόρφωσης μεταβάλλεται από είδος σε είδος (127) και μπορεί να διαρκεί από 4 έως 6 εβδομάδες μετά το έμφραγμα σε μεγάλα ζωικά πρότυπα και στον άνθρωπο (43, 128). Το γεγονός αυτό καθιστά αναγκαία την τροποποίηση των ρυθμών αποδόμησης του βιοϋλικού, πριν την κλινική εφαρμογή του. Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι αυτό μπορεί να επιτευχθεί εύκολα με τη χρήση βιοϋλικών που βασίζονται σε hydrogel, δίνοντας ένα μεγάλο αριθμό τιμών, από μερικές μέρες έως 1 μήνα, και με τον τρόπο αυτό προσαρμογή της χρήσης του σε διαφορετικές εφαρμογές (129).

Φλεγμονώδης αντίδραση ξένου σώματος.

Η αντίδραση αυτή έχει μελετηθεί σε διάφορους ιστούς, όπου τα hydrogel έχουν εξαιρετική βιοσυμβατότητα (130). Όμως δεν υπάρχουν πολλές αντίστοιχες μελέτες στο μυοκάρδιο. Στην διατριβή συγκρίθηκε η φλεγμονώδης αντίδραση ξένου σώματος μετά την εμφύτευση του G-PEG και του hydrogel, με το δεύτερο να είναι ο «χρυσός κανόνας». Παρατηρήθηκαν παρόμοιες αντιδράσεις και στα δύο βιοϋλικά, που περιλαμβάνουν την πρώιμη φλεγμονή, σε συνδυασμό με διείσδυση

ουδετεροφίλων και μακροφάγων, με σταδιακή υποχώρηση. Την 15^η ημέρα δεν υπήρχε καμία αντίδραση δυσπροσαρμογής (οριζόμενη ως η εμμένουσα οξεία φλεγμονή, με ιστολογικά χαρακτηριστικά που δεν διακρίνονται από βακτηριακή φλεγμονή). Τα δεδομένα της μελέτης έπαιτα από εμφύτευση του G-PEG ή hydrogel ήταν σύμφωνα με τα στάδια της απορρόφησης του βιοϋλικού και παρόμοια με αυτά που περιγράφονται σε άλλους ιστούς ([129](#), [130](#)).

Αναδιαμόρφωση Αριστερής Κοιλίας.

Στη μελέτη παρουσιάζεται μείωση της αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας μετά την εμφύτευση του G-PEG, χωρίς στοιχεία επηρεασμένης διαστολικής πλήρωσης, αποτελέσματα που επικυρώνουν την αρχική υπόθεση. Η έκταση του περιορισμού ποικίλει στις διάφορες μελέτες, από τον περιορισμό του στην εμφραγματική περιοχή ([131](#)), έως γύρω από την αριστερή κοιλία ή γύρω και από τις δυο κοιλίες ([75](#), [125](#)). Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε η τελευταία μέθοδος, υποδηλώνοντας συσχέτιση της αποτελεσματικότητας του περιορισμού της καρδιάς στη μυοκάρδιο.

Ένα ενδιαφέρον εύρημα ήταν η ευεργετική επίδραση του hydrogel στην αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας. Η επίδραση αυτή οφείλεται κατά κύριο λόγο στις μηχανικές του ιδιότητες, παρέχοντας χαρακτηριστικά περιορισμού στο επικάρδιο. Αν και κατώτερο του G-PEG στην παρούσα μορφή του, η ευκολία στην τοποθέτηση του, δίνει έναυσμα για περαιτέρω μελέτες στον τομέα αυτό. **Λόγω των ιδιοτήτων αυτών, στο δεύτερο μέρος της διατριβής μελετήθηκε η εφαρμογή ενός ικριώματος υδροπηκτώματος.**

Οι αιμοδυναμικές επιδράσεις του παθητικού περιορισμού έχουν μελετηθεί στο παρελθόν και περιλαμβάνουν τη μείωση της τοιχωματικής τάσης και τη μείωση της μιτροειδικής ανεπάρκειας. Στην παρούσα μελέτη, παρατηρήθηκε η χαμηλότερη τιμή του δείκτη τοιχωματικής τάσης (WTI) 15 ημέρες μετά την εμφύτευση, εύρημα που συμφωνεί με τα μέχρι τώρα δεδομένα, καθώς αυτός ο υπερηχοκαρδιογραφικός δείκτης σχετίζεται με τις αιμοδυναμικές μετρήσεις ([123](#)).

Επιπρόσθετα στα παραπάνω, τα αποτελέσματα της μελέτης δίνουν έμφαση στην ιστολογική επίδραση του περιορισμού της αριστερής κοιλίας, σαν ένα σημαντικό ευεργετικό μηχανισμό.

- Το πρώτο σημαντικό σημείο είναι η παρατήρηση **ενισχυμένης φλεγμονώδους αντίδρασης ξένου σώματος στην εμφραγματική ζώνη** και με τα δυο βιοϋλικά την 3^η ημέρα μετά το έμφραγμα και την εμφύτευση. Αξιοσημείωτο είναι ότι η φλεγμονώδης αντίδραση ξένου σώματος μπορεί να ενισχύσει την επιδιόρθωση και να επισπεύσει την αναγεννητική φάση της επούλωσης (λόγω των κοινών μηχανισμών με την επούλωση του εμφράγματος ([132](#))), μειώνοντας την έκπτυξη της εμφραγματικής περιοχής.
- Το δεύτερο σημαντικό εύρημα ήταν ότι και τα δυο βιοϋλικά εμφάνισαν **ινοβλαστική αντίδραση** στη μη εμφραγματική περιοχή. Οι ινοβλάστες είναι πηγή κολαγόνου, που ανθίσταται στις δυνάμεις διάτασης και μειώνει την τοιχωματική τάση. Αυτή η αντίδραση εμφανίστηκε νωρίτερα στην ομάδα του G-PEG, πράγμα που μπορεί να εξηγήσει καλύτερα αποτελέσματα αυτού του υλικού. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με τα αποτελέσματα των Bowen και συν. ([133](#)), που κατέδειξαν πειραματικά αυξημένη περιεκτικότητα σε κολαγόνο στη μη εμφραγματική περιοχή, χρησιμοποιώντας ένα μη απορροφήσιμο πλέγμα. Είναι απαραίτητες περαιτέρω μελέτες για να την ανεύρεση του αιτίου που προκαλεί την ινοβλαστική αντίδραση στη μη εμφραγματική περιοχή.

3.5 ΔΕΥΤΕΡΟ ΜΕΡΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ: ΕΜΦΥΤΕΥΣΗ

ΙΚΡΙΩΜΑΤΩΝ ΜΕ ΒΑΣΗ ΤΟ ΥΔΡΟΠΗΚΤΩΜΑ

ΑΛΓΙΝΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

3.5.1 Υλικό και Μέθοδοι

Στο δεύτερο μέρος της μελέτης εξετάσθηκε η εφαρμογή ικρίωματος αλγινικού υδροπηκτώματος, με ενδομυοκαρδιακή έγχυση μόνο του ή σε συνδυασμό με αυξητική ορμόνη, καθώς και η τοποθέτησή του στο επικάρδιο σε μορφή ικρίωματος

σε γάζα οξικής κυτταρίνης (alginate scaffold). Το σύνθετο βιοϋλικό (alginate scaffold) κατασκευάστηκε λίγα λεπτά πριν από την εμφύτευση.



Εικόνα 42. Παρασκευή alginate scaffold, λίγο πριν την εμφύτευση.

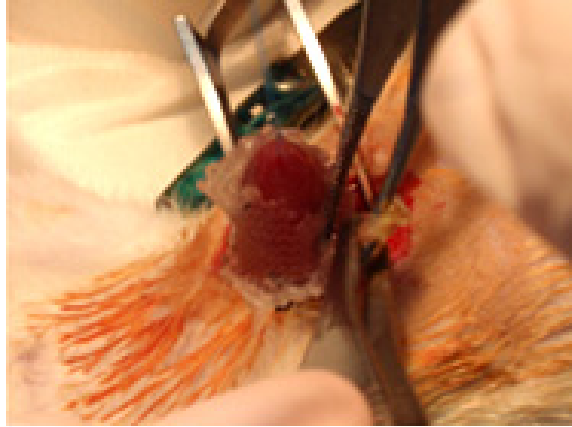
Όλα τα βιολογικά ικρίώματα που μελετήθηκαν αποστειρώθηκαν με τη χρήση υπεριώδους ακτινοβολίας.

3.5.1.1 Εμφύτευση ικρίωματος βιολογικών υλικών

Το βιολογικό ικρίωμα εμφυτευόταν στο επικάρδιο 15 λεπτά μετά την απόφραξη του στεφανιαίου αγγείου. Το alginate hydrogel (0,2ml) εφαρμόσθηκε με 6 ενδομυοκαρδιακές εγχύσεις στο πλαγιο-κορυφαίο τοίχωμα της αριστερής κοιλίας, ενώ το alginate scaffold τοποθετήθηκε στο επικάρδιο περιμετρικά (τυλίγοντας τις κοιλίες από τη βάση ως την κορυφή της καρδιάς) και σταθεροποιούνταν προσεκτικά με απορροφήσιμο ράμμα τελικο-τελικά.



Εικόνα 43. Εμφύτευση του alginate hydrogel στο μυοκάρδιο της αριστερής κοιλίας



Εικόνα 44. Εμφύτευση του alginate scaffold στο επικάρδιο γύρω από τις κοιλίες

Η μετεγχειρητική πορεία των πειραματοζώων παρακολουθούνταν και καταγραφόταν καθημερινά.

3.5.1.2 Υπερηχοκαρδιογραφική ανάλυση

Η υπερηχογραφική μελέτη γινόταν 3 εβδομάδες μετά την πρόκληση του εμφράγματος. Όπως και στο πρώτο μέρος της μελέτης, οι επίμυες αναισθητοποιούνταν με ενδομυϊκή ένεση κεταμίνης (100mg/kg) και σταθεροποιούνταν σε ύπτια θέση. Η θερμοκρασία του σώματός τους διατηρούνταν στους 37°C σε όλη τη διαδικασία, μέσω θερμαινόμενης πλάκας. Μετά την εφαρμογή της γέλης υπερήχων πάνω στην προκάρδια περιοχή, ένας μετατροπέας 14 MHz ενός ψηφιακού υπερηχογράφου (Vivid 7, GE Healthcare, UK) χρησιμοποιήθηκε για την απεικόνιση την αριστερής κοιλίας σε κορυφαία προβολή, καθώς και σε παραστερνική προβολή κατά μήκος του επιμήκους/μακρού και του εγκάρσιου/βραχέος άξονα. Η ανάλυση έγινε με αποκεκρυμένη την ομάδα στην οποία άνηκε ο κάθε επίμυς.

Όπως και στο πρώτο μέρος της μελέτης, για όλες τις μετρήσεις, υπολογίστηκε ο μέσος όρος δέκα διαδοχικών καρδιακών κύκλων, και όλες οι παράμετροι μετρήθηκαν σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες της Αμερικανικής Εταιρείας Ηχωκαρδιογραφίας (American Society of Echocardiography). Υπολογίστηκαν η διάμετρος της αριστερής κοιλίας και το πάχος του τοιχώματος, και εκτιμήθηκε η

συστολική και διαστολική λειτουργία. Συγκεκριμένα, μετρήθηκαν ο επιμήκης και ο εγκάρσιος άξονας της αριστερής κοιλίας, η εσωτερική τελοδιαστολική (LVIDd) και τελοσυστολική (LVIDs) διάμετρος της αριστερής κοιλίας και το τελοδιαστολικό πάχος του οπισθίου τοιχώματος (PWd). Η ταχύτητα συστολής του οπισθίου τοιχώματος (PWSV) μετρήθηκε με καταγραφή διδιάστατων M-mode στο μέσον της αριστερής κοιλίας. Το κλάσμα εξώθησης (EF) υπολογίστηκε χρησιμοποιώντας την τροποποιημένη εξίσωση του Simpson. Ο δείκτης σφαιρικότητας ορίστηκε ως επιμήκης/εγκάρσιος άξονας και ο δείκτης τοιχωματικής τάσης (WTI) ορίστηκε ως ο λόγος LVIDd/2xPWd.

3.5.1.3 Ανοσοϊστοχημική ανάλυση

Υπό αέριο αναισθησία με σεβοφλουράνιο, οι επίμυες θυσιάζοντο με θανατηφόρο δόση χλωριούχου καλίου, σταματώντας την καρδιακή λειτουργία με τις κοιλίες στη διαστολή. Μετά τη μακροσκοπική παρατήρηση των δειγμάτων και καταγραφή ευρημάτων, τα παρακευάσματα ξεπλένοντο με ουδέτερο υδατικό διάλυμα και μονιμοποιούνταν σε διάλυμα 10% φορμαλίνη για 24 ώρες. Έπειτα, σε 70% αιθανόλη εστάλησαν για ιστολογική ανάλυση. Τα δείγματα ενσωματώθηκαν σε παραφίνη και κόπηκαν κατά τον άξονά τους σε τομές πάχους 4μm. Επανενυδατώθηκαν και βάφτηκαν με χρώση αιματοξυλίνης-ηωσίνης για την αρχική μορφολογική εκτίμησή τους. Το μήκος και το πάχος της εμφραγματικής περιοχής υπολογίστηκαν μετά από τη χρώση Heidenhain AZAN trichrome, ενώ η περιεκτικότητα σε κολαγόνο μετρήθηκε με χρώση serius red. Επιπρόσθετες τομές χρησιμοποιήθηκαν για ανοσοϊστοχημική ανάλυση με τα ακόλουθα αντισώματα: μονοκλωνικό αντι-α-λείων-μυών-ακτίνης, για την ανίχνευση μυοϊνοβλαστών, μονοκλωνικό αντι-ED1 αντίσωμα για την ανίχνευση μακροφάγων, που ενισχύθηκε με τη διαδικασία ανάκτησης αντιγόνου και το σύμπλοκο Avidin/Biotin. Τα αγγεία βάφτηκαν με Griffonia simplicifolia BSI-B4 isolectin και η αγγειογένεση υπολογίστηκε μέσω της μέτρησης του συνολικού αριθμού αγγείων στην εμφραγματική και τις περιεμφραγματικές περιοχές. Εικόνες των τομών λήφθηκαν με camera και αναλύθηκαν με ειδικό πρόγραμμα (QWin 3.1. - Leica). Όλες οι μετρήσεις έγιναν από με αποκεκρυμένη την ομάδα του κάθε πειραματοζώου.

3.5.1.4 Στατιστική ανάλυση

Όλα τα αποτελέσματα αναφέρονται ως μέσος όρος $\pm$ τυπικό σφάλμα. Οι συνεχείς μεταβλητές εμφάνιζαν κανονική κατανομή, όπως προέκυψε από την δοκιμασία Kolmogorov-Smirnov. Οι διαφορές μεταξύ δυο μεταβλητών συγκρίθηκαν με Student t-test, ενώ οι διαφορές μεταξύ τριών ή περισσότερων μεταβλητών συγκρίθηκαν με ανάλυση μεταβλητότητας, ακολουθούμενη από την post-hoc δοκιμασία πολλαπλών επιπέδων κατά Duncan. Το επίπεδο της στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε ως μικρότερο του 0,05.

3.5.2 Αποτελέσματα

Η μελέτη διενεργήθηκε σε 48 επίμυες τύπου Wistar (ηλικίας 18-20 εβδομάδων, βάρους 333 ± 5 gr) με έμφραγμα του μυοκαρδίου, ενώ επιπλέον 6 (310 ± 15 gr) πειραματόζωα χρησιμοποιήθηκαν σαν ομάδα εικονικής επέμβασης. Οι επίμυες στεγάστηκαν σε μεμονωμένα κλουβιά σε κατάλληλες εργαστηριακές συνθήκες ελεγχόμενης θερμοκρασίας, υγρασίας και φυσιολογικού κύκλου ημέρας/νύχτας, με ελεύθερη χορήγηση τροφής και νερού. Η φροντίδα των πειραματοζώων και οι πειραματικές μέθοδοι ήταν σύμφωνες με τις αρχές που περιγράφονται στη Διακήρυξη του Ελσίνκι και με την Οδηγία 63/2010 της Ευρωπαϊκής Ένωσης.

Οι ομάδες μελέτης που δημιουργήθηκαν είναι οι εξής:

- (A) Ομάδα **εικονικής επέμβασης**, χωρίς έμφραγμα, χωρίς βιοϋλικό (n=6)
- (B) Ομάδα **ελέγχου**, με έμφραγμα και χωρίς θεραπεία (n=12)
- (C) Ομάδα με alginate hydrogel (εφεξής αναφερόμενη ως **alginate**), μετά από έμφραγμα (n=12)
- (D) Ομάδα με alginate hydrogel με GH (εφεξής αναφερόμενη ως **alginate+GH**), μετά από έμφραγμα (n=12)
- (E) Ομάδα με alginate scaffold εμφυτευόμενο γύρω από τις δύο κοιλίες (εφεξής αναφερόμενη ως **restraint**), μετά από έμφραγμα (n=12)

Γινόταν καταγραφή του σωματικού βάρους των πειραματοζώων στην αρχή και στο τέλος της πειραματικής διαδικασίας. Η εμφύτευση των βιοϋλικών γινόταν 15 λεπτά μετά την πρόκληση του εμφράγματος. Έπειτα από 3 εβδομάδες ακολουθούσε η ηχοκαρδιογραφική αξιολόγηση της αναδιαμόρφωσης, και, ακολούθως, οι επίμυες (υπό αναισθησία) θανατώνονταν με τη χορήγηση χλωριούχου καλίου και τα παρασκευάσματα φυλάσσονταν για ιστολογική μελέτη.

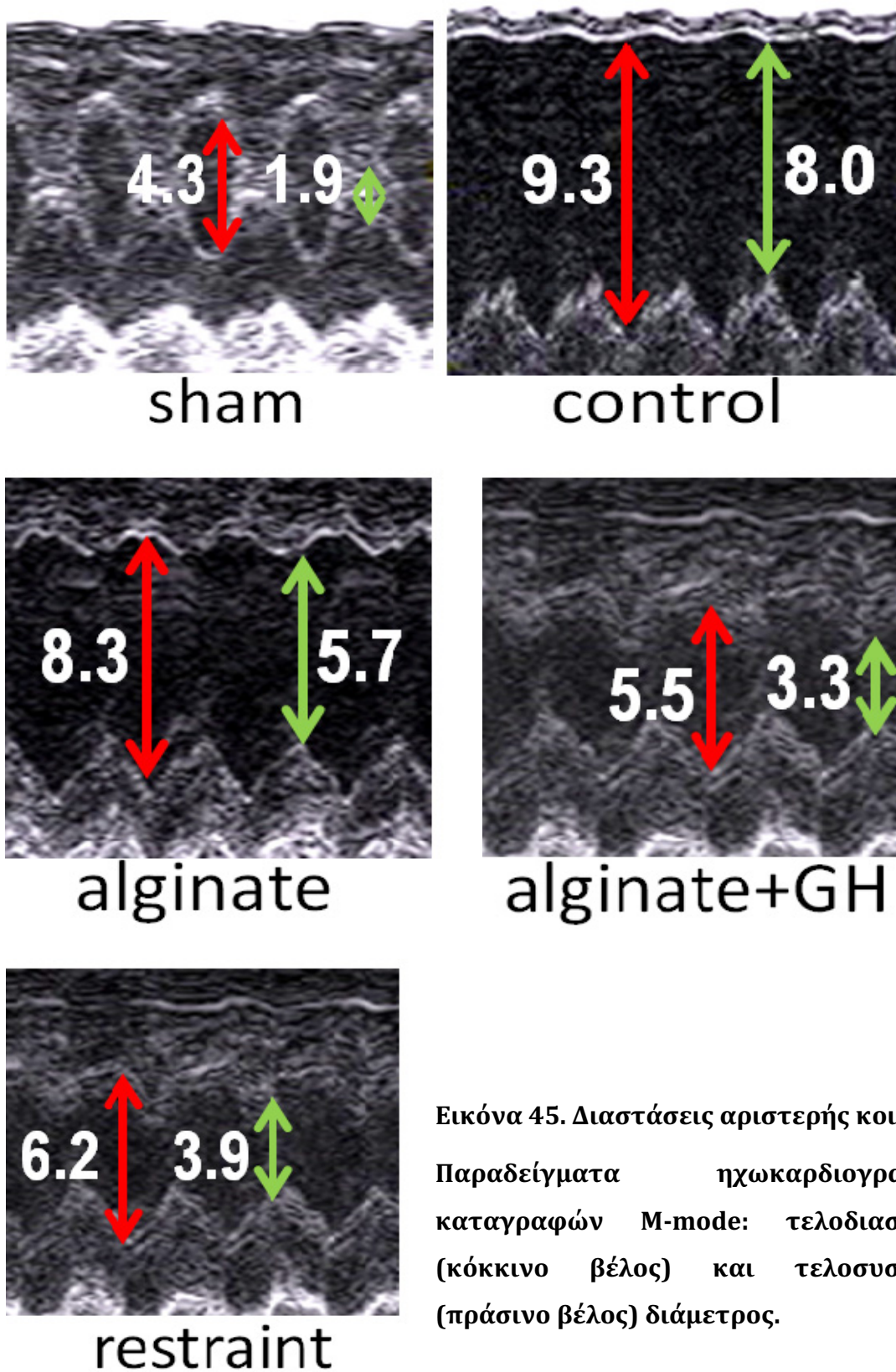
3.5.2.1 Απουσία συστηματικών επιδράσεων τοπικής χορήγησης αυξητικής ορμόνης

Ελέχθηκαν οι πιθανές συστηματικές επιδράσεις της αυξητικής ορμόνης. Ένας δείκτης της απουσίας συστηματικής επίδρασης της αυξητικής ορμόνης που χορηγήθηκε τοπικά στο μυοκάρδιο ήταν η διαφορά βάρους από την αρχή έως το τέλος της παρατήρησης. Η αύξηση του σωματικού βάρους μετά τη χορήγηση αυξητικής ορμόνης στην ομάδα alginate+GH ήταν $2,3 \pm 0,7\%$ του αρχικού σωματικού βάρους, σε σύγκριση με $3,2 \pm 0,9\%$ που παρατηρήθηκε στους επίμυες που δεν έλαβαν αυξητική ορμόνη. Η αύξηση αυτή ήταν σχεδόν ταυτόσημη στις δύο ομάδες πειραματοζώων.

3.5.2.2 Ηχοκαρδιογραφικά ευρήματα αναδιαμόρφωσης και λειτουργίας της αριστερής κοιλίας

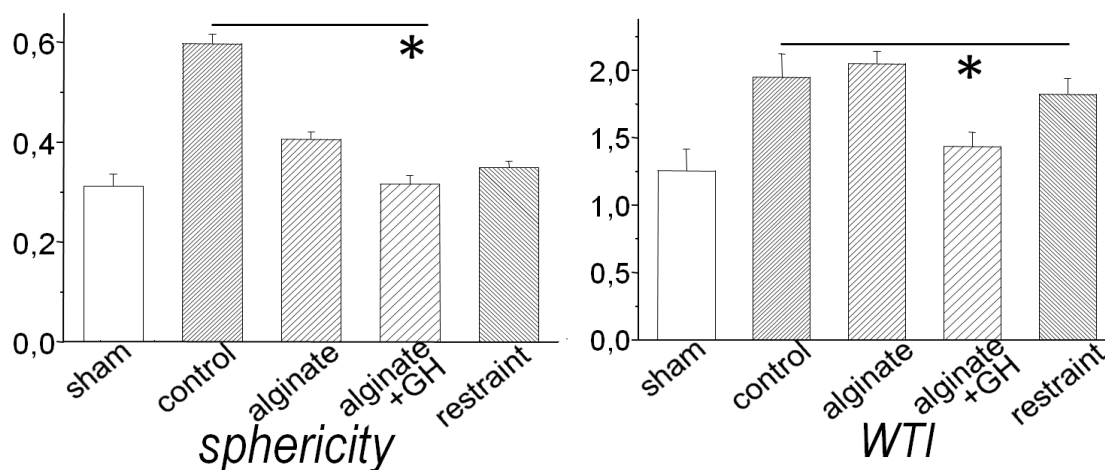
Η **τελοδιαστολική διάμετρος** της αριστερής κοιλίας ήταν μικρότερη στην ομάδα alginate+GH ($5,61 \pm 0,35\text{mm}$) σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου ($7,92 \pm 0,34\text{mm}$, $p < 0,001$) ή την ομάδα του alginate ($7,21 \pm 0,33\text{mm}$, $p = 0,002$). Οι τιμές ήταν παρόμοιες με εκείνες της ομάδας με alginate scaffold ($6,27 \pm 0,24\text{mm}$) ή της ομάδας εικονικής επέμβασης ($5,05 \pm 0,32\text{mm}$). Η **τελοσυστολική διάμετρος** στην ομάδα του alginate+GH ($3,12 \pm 0,21\text{mm}$) ήταν παρόμοια με της ομάδας εικονικής επέμβασης ($2,55 \pm 0,37\text{mm}$) και μικρότερη από αυτή της ομάδας ελέγχου ($6,28 \pm 0,48\text{mm}$, $p < 0,001$), της ομάδας του alginate μόνο ($4,58 \pm 0,38\text{mm}$, $p = 0,032$) ή της ομάδας του alginate scaffold ($4,33 \pm 0,47\text{mm}$, αν και οριακής σημαντικότητας $p = 0,060$). Παραδείγματα μετρήσεων (από ηχοκαρδιογραφικές καταγραφές M-mode) των διαστάσεων της αριστερής κοιλίας από τις πέντε ομάδες φαίνονται στην

παρακάτω εικόνα. Απεικονίζονται η τελοδιαστολική (κόκκινο βέλος) και τελοσυστολική (πράσινο βέλος) διάμετρος.



Εικόνα 45. Διαστάσεις αριστερής κοιλίας.

Παραδείγματα ηχοκαρδιογραφικών καταγραφών M-mode: τελοδιαστολική (κόκκινο βέλος) και τελοσυστολική (πράσινο βέλος) διάμετρος.



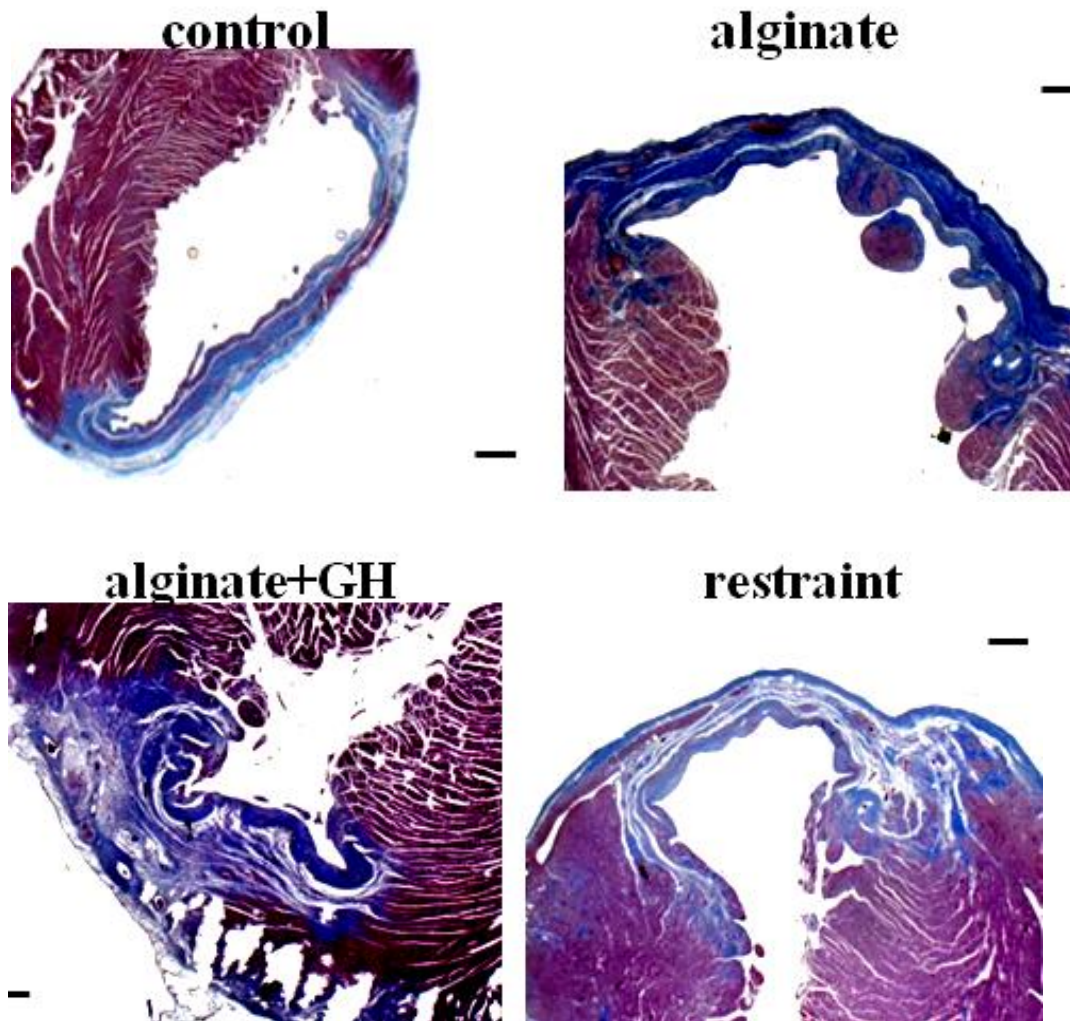
Εικόνα 46. Δείκτης σφαιρικότητας (sphericity index) και δείκτης τοιχωματικής τάσης (WTI) στις 5 ομάδες μελέτης. (* = στατιστικά σημαντική διαφορά)

Ο δείκτης σφαιρικότητας στην ομάδα του alginate+GH ($0,317 \pm 0,017$) ήταν σχεδόν ίδιος με αυτόν της ομάδας εικονικής επέμβασης ($0,312 \pm 0,025$), βελτιωμένος σε σχέση με την ομάδα ελέγχου ($0,598 \pm 0,019$, $p < 0,001$) ή την ομάδα του alginate ($0,406 \pm 0,015$, $p = 0,0023$) και συγκρίσιμος με την ομάδα του restraint ($0,350 \pm 0,012$). Όπως αναμενόταν, οι τιμές του κλάσματος εξώθησης ήταν χαμηλότερες στις εμφραγματικές ομάδες, σε σύγκριση με την ομάδα εικονικής επέμβασης ($69,4 \pm 1,9\%$). Μεταξύ των εμφραγματικών ομάδων, το κλάσμα εξώθησης ήταν μεγαλύτερο στην ομάδα alginate+GH ($50,7 \pm 1,5\%$), αν και οι διαφορές ήταν στατιστικά σημαντικές μόνο σε σύγκριση με την ομάδα του restraint ($38,9 \pm 3,2\%$, $p = 0,025$) και όχι με την ομάδα ελέγχου ($44,0 \pm 4,3\%$) ή του alginate ($42,1 \pm 2,5\%$).

Η ταχύτητα συστολής του οπισθίου τοιχώματος (PWSV) ήταν παρόμοια και στις τρεις ομάδες θεραπείας, όμως ο δείκτης τοιχωματικής τάσης (WTI) ήταν μικρότερος στην ομάδα alginate+GH ($1,436 \pm 0,106$) σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου ($1,951 \pm 0,174$, $p = 0,0081$), την ομάδα alginate ($2,052 \pm 0,093$, $p = 0,0023$) ή την ομάδα του restraint ($1,756 \pm 0,189$, $p = 0,033$).

3.5.2.3 Ιστολογικές μετρήσεις αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας

Το **κολλαγόνο** στην εμφραγματική και περι-εμφραγματική περιοχή ήταν παρόμοιο και στις τρεις ομάδες (ελέγχου: $32,31 \pm 6,95\%$, alginate: $36,24 \pm 8,74\%$, alginate+GH: $32,61 \pm 6,32\%$, restraint: $36,83 \pm 5,80\%$). Ομοίως, καμία διαφορά δεν παρατηρήθηκε στην **έκπτυξη της εμφραγματικής περιοχής** (αναφερόμενη ως ποσοστό του μήκους του μεσοκοιλιακού διαφράγματος) μεταξύ των τεσσάρων εμφραγματικών ομάδων. Αντίθετα, το **πάχος της εμφραγματικής περιοχής** (σε σύγκριση με τη μη εμφραγματική περιοχή) ήταν μεγαλύτερο στην ομάδα alginate+GH ($0,72 \pm 0,06$), συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου ($0,17 \pm 0,02$, $p < 0,001$), την ομάδα του alginate ($0,41 \pm 0,04$, $p = 0,0019$) ή του restraint ($0,45 \pm 0,04$, $p = 0,0038$).



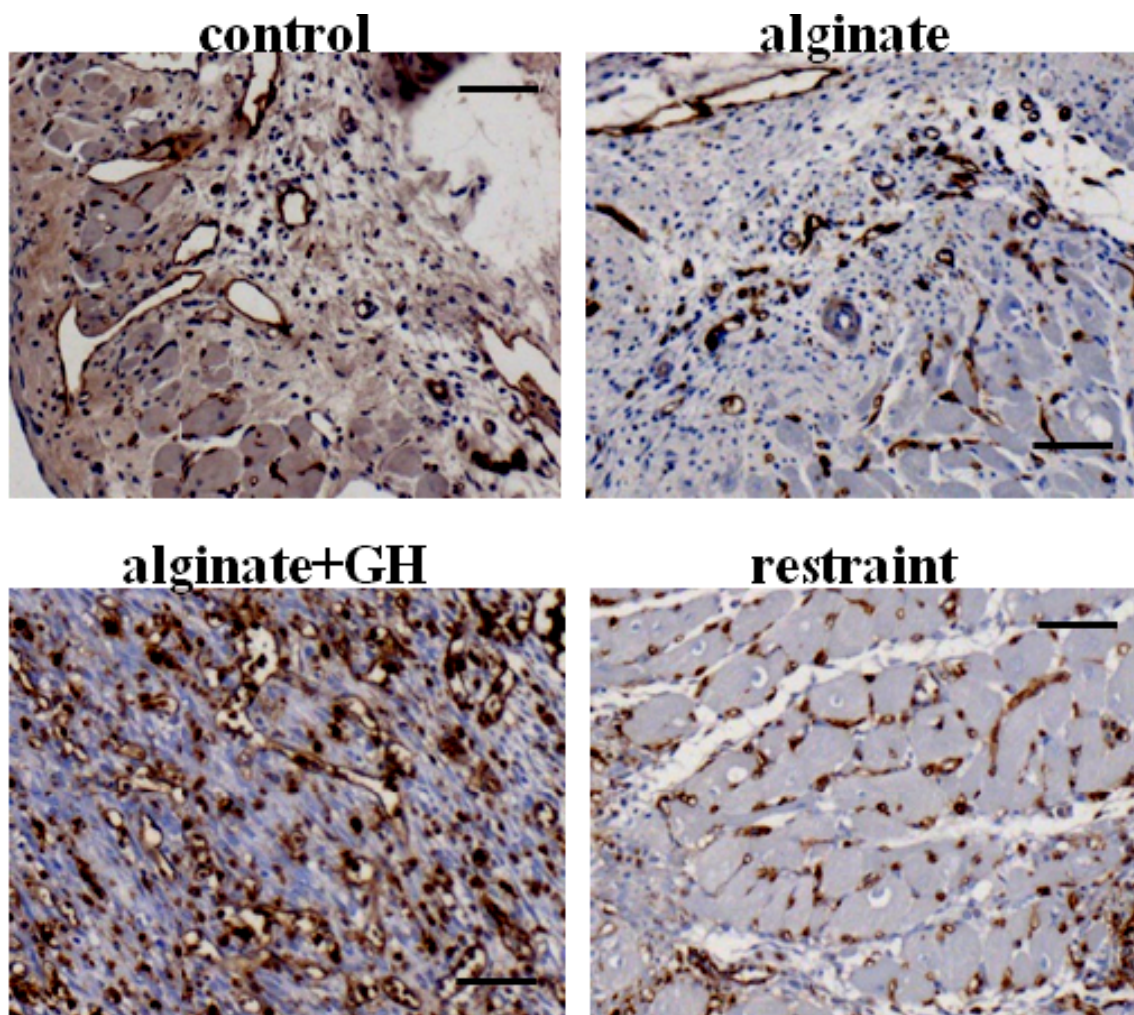
Εικόνα 47. Εμφραγματική περιοχή, έπειτα από χρώση Heidenhain's AZAN trichrome (κλίμακα: 500 μm).

3.5.2.4 Φλεγμονώδης αντίδραση ξένου σώματος

Υπήρξε χαμηλού βαθμού φλεγμονώδης αντίδραση σε όλες τις ομάδες και ίσως, λίγο πιο έντονη στις ομάδες με alginate και alginate+GH, χωρίς όμως σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων, λόγω των μεγάλων διαστημάτων εμπιστοσύνης.

3.5.2.5 Αγγειογένεση

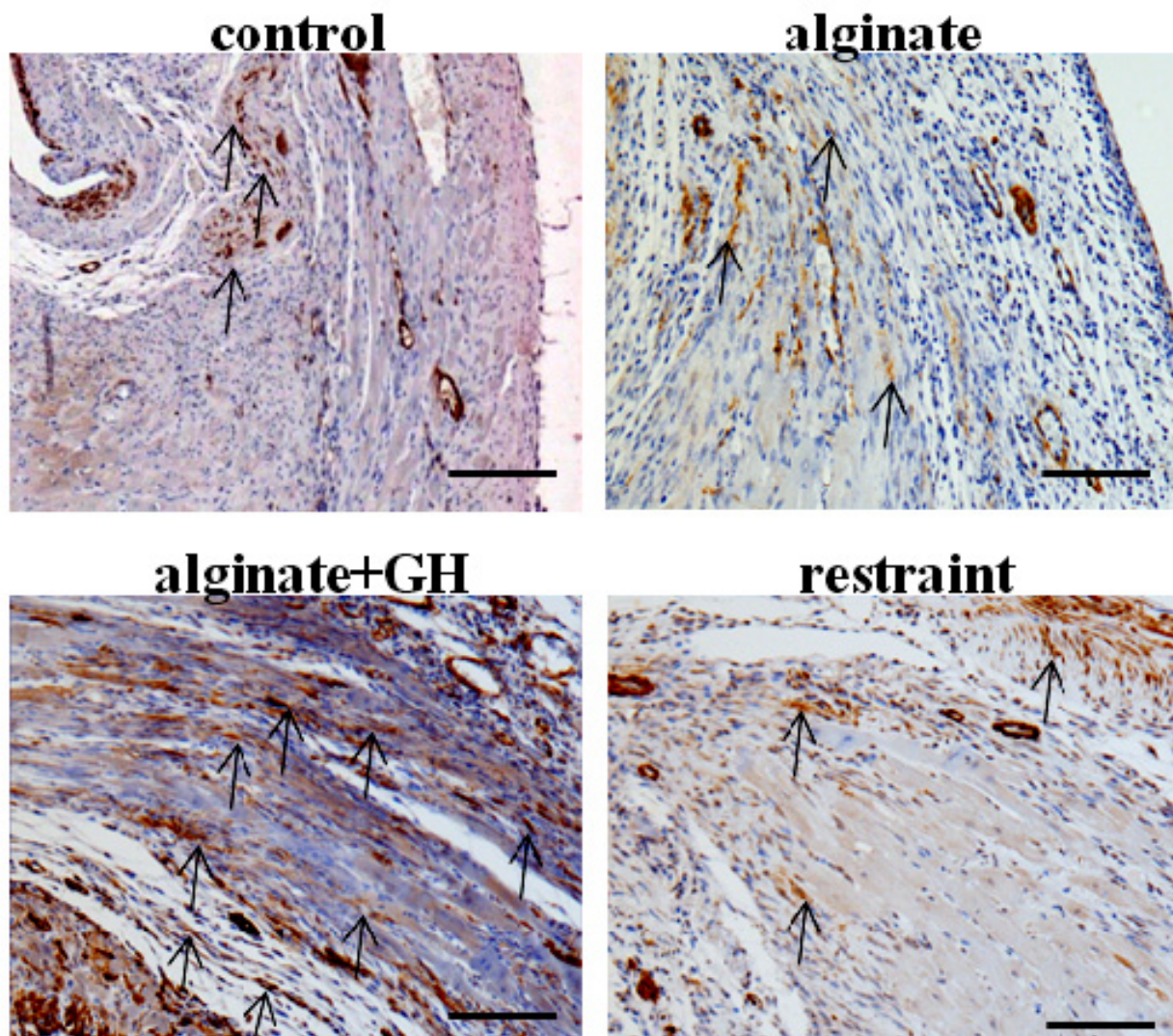
Η μικροαγγειακή πυκνότητα στην εμφραγματική περιοχή ήταν μεγαλύτερη στην ομάδα του alginate+GH ($6,93 \pm 0,55\%$) σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου ($3,61 \pm 0,44\%$, $p=0,0045$), την ομάδα του alginate ($3,76 \pm 0,44\%$, $p=0,0052$) ή την ομάδα του restraint ($3,88 \pm 1,11$, $p=0,0052$).



Εικόνα 48. Αγγειογένεση στην περιεμφραγματική περιοχή (χρώση λεκτίνης, κλίμακα:50μm).

3.5.2.6 Μυοϊνοβλαστική αντίδραση

Στην ομάδα του alginate+GH βρέθηκε αυξημένη παρουσία **μυοϊνοβλαστών**. Συγκεκριμένα, μετά τη χρώση για α-ακτίνη των λείων μυϊκών ινών, βρέθηκαν μεγαλύτερες τιμές στην ομάδα alginate+GH ($6,25 \pm 1,28\%$), σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου ($0,77 \pm 0,29\%$, $p=0,018$), ενώ οι τιμές της ομάδας του alginate ($2,74 \pm 1,22\%$) και της ομάδας του restraint ($2,63 \pm 1,06\%$) δεν διέφεραν από την ομάδα ελέγχου. Παρόλα αυτά, οι διαφορές μεταξύ της ομάδας του alginate+GH και των υπολοίπων ομάδων θεραπείας ήταν οριακής στατιστικής σημαντικότητας ($p=0,084$ και $p=0,087$ αντιστοίχως).



Εικόνα 49. Μυοϊνοβλαστική αντίδραση (χρώση για α-ακτίνη των λείων μυϊκών ινών για μυοϊνοβλάστες (βέλη), κλίμακα:50μm).

3.5.3 Συζήτηση

Η χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου αποτελεί παράγοντα κακής πρόγνωσης σε μεγάλο αριθμό ασθενών παγκοσμίως. Προς την κατεύθυνση αυτή, η πρόληψη της καρδιακής αναδιαμόρφωσης μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου παραμένει ένας σημαντικός θεραπευτικός στόχος και πεδίο έρευνας (74).

Η ανάπτυξη και η χρήση βιολογικών ικριωμάτων χωρίς ταυτόχρονη κυτταρική μεταμόσχευση αποτελεί πολλά υποσχόμενη εναλλακτική θεραπευτική αντιμετώπιση (134), αν και αδυνατούν να αντικαταστήσουν την απώλεια συσταλτού ιστού. Η θεώρηση αυτή βασίζεται στην ευκολία κατασκευής τους με χαμηλό κόστος, και στην απουσία αρρυθμιολογικών προβλημάτων, που είχαν προκύψει με την κυτταρική μεταμόσχευση (54). Στο δεύτερο μέρος της διατριβής εξετάσθηκαν οι επιδράσεις στο μυοκάρδιο εμφραγματικών επίμυων ενός ενέσιμου βιολογικού ικριώματος αλγινικού οξέος, με ή χωρίς αυξητική ορμόνη και ενός επικαρδιακού βιολογικού ικριώματος.

Περιορισμός της αριστερής κοιλίας.

Ο περιορισμός της αριστερής κοιλίας με ένα βιολογικό ικρίωμα αλγινικού υδροπηκτώματος απέτρεψε την διάταση της αριστερής κοιλίας και διατήρησε την αρχιτεκτονική και τη σφαιρικότητά της. Τα ευρήματα αυτά συμφωνούν με προηγούμενες μελέτες (122), όπως και με μελέτες σε πειραματικά πρότυπα μεγάλων ζώων (135), δείχνοντας μικρότερους όγκους αριστερής κοιλίας και βελτιωμένη αιμοδυναμική μετά τον παθητικό περιορισμό της. Η προσέγγιση αυτή έχει επεκταθεί και σε κλινικές μελέτες με ενθαρρυντικά πρώτα αποτελέσματα (136). Παρόλα αυτά, η επεμβατική τεχνική που απαιτείται για την εμφύτευση των ικριωμάτων αυτών περιορίζει τη δυνατότητα της χρήσης τους, κυρίως σε ασθενείς που υποβάλλονται σε χειρουργική επαναγγείωση.

Αλγινικό υδροπήκτωμα και αυξητική ορμόνη.

Η έγχυση αλγινικού υδροπηκτώματος στο εμφραγματικό μυοκάρδιο των επίμυων έχει αποδειχθεί ότι περιορίζει τις αλλαγές στο σχήμα και τις διαστάσεις της αριστερής κοιλίας μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου (137). Στο δεύτερο μέρος της

διατριβής, φάνηκε ότι η παρατεταμένη χρήση αυξητικής ορμόνης, μέσω ενός ικρίωματος αλγινικού υδροπηκτώματος, προσφέρει πρόσθετο όφελος στα ήδη αποδεδειγμένα ευεργετικά αποτελέσματα της τοπικής χορήγησης αυξητικής ορμόνης στην αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας (43, 118). Η καμπύλη αύξησης του σωματικού βάρους των επίμυων πριν και μετά τη χορήγηση alginate+GH δείχνει την απουσία συστηματικών επιδράσεων της αυξητικής ορμόνης. Τα ευρήματα αυτά τονίζουν το διπλό ρόλο των ενέσιμων βιοϋλικών αλγινικού οξέος, ως **μέσα τοπικής χορήγησης φαρμάκων**, καθώς και ως **ιστοτεχνολογικές δομές**.

Πάχος εμφραγματικού μυοκαρδίου και τοιχωματική τάση.

Το πάχος της εμφραγματικής ουλής βρέθηκε μεγαλύτερο στην ομάδα που έλαβε αυξητική ορμόνη μέσω αλγινικού υδροπηκτώματος συγκριτικά με την ομάδα στην οποία εμφυτεύθηκε μόνο αλγινικό υδροπήκτωμα ή με τον μηχανικό περιορισμό με βιοαποδομήσιμο ικρίωμα. Το εύρημα αυτό μπορεί να αποδοθεί στις επιπρόσθετες επιδράσεις των δυο επιμέρους συστατικών της θεραπευτικής αντιμετώπισης (δηλαδή της αυξητικής ορμόνης και του αλγινικού υδροπηκτώματος). Τα αποτελέσματα αυτά είναι σε συμφωνία με εκείνα της ερευνητικής ομάδας των Ruvino και συν. (138), οι οποίοι εκτίμησαν την απελευθέρωση IGF-1 από ένα ικρίωμα αλγινικού οξέος. Στη μελέτη αυτή, η ενδομυοκαρδιακή ένεση του βιοϋλικού (αλγινικού υδροπηκτώματος) σε επίμυες μείωσε την έκπτυξη της εμφραγματικής περιοχής και διατήρησε το πάχος της εμφραγματικής ουλής, λόγω της μειωμένης απόπτωσης και της αυξημένης συγκέντρωσης βλαστικών κυττάρων στην περι-εμφραγματική ζώνη (138). Τα ηχοκαρδιογραφικά δεδομένα από το δεύτερο μέρος της διατριβής επεκτείνουν αυτές τις παρατηρήσεις, και καταδεικνύουν ότι οι ευνοϊκές μορφολογικές αλλαγές στην εμφραγματική και περι-εμφραγματική περιοχή βελτιώνουν την αρχιτεκτονική της αριστερής κοιλίας.

Τοιχωματική τάση

Εκτιμάται ότι οι ευνοϊκές μορφολογικές αλλαγές στην εμφραγματική και περι-εμφραγματική περιοχή και η βελτίωση της αρχιτεκτονικής της αριστερής κοιλίας είναι αποτέλεσμα μείωσης της τοιχωματικής τάσης.

Σύμφωνα με το νόμο του Laplace, η λέπτυνση του κοιλιακού τοιχώματος αυξάνει την τοιχωματική τάση στην αριστερή κοιλία. Η παθοφυσιολογική αυτή

μεταβολή αποτελεί τον κύριο μηχανισμό πρόκλησης τοπογραφικών αλλοιώσεων στην εμφραγματική και περι-εμφραγματική περιοχή ([13](#), [139](#)). Έχει βρεθεί ότι η τοιχωματική τάση εμφανίζει στατιστικά ισχυρή συσχέτιση με την αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας σε μετεμφραγματικούς ασθενείς ([140](#)). Με βάση τα στοιχεία αυτά, συμπεραίνεται ότι ο βελτιωμένος δείκτης τοιχωματικής τάσης που ανευρέθη στην παρούσα μελέτη 3 εβδομάδες μετά το έμφραγμα στην ομάδα πειραματοζώων στην οποία χορηγήθηκε αυξητική ορμόνη μέσω αλγινικού υδροπηκτώματος ενισχύει τη σημασία αυτού του μηχανισμού στη διαμόρφωση του σχήματος και της λειτουργικότητας της αριστερής κοιλίας.

Φλεγμονώδης αντίδραση.

Ο χαρακτηρισμός της αντίδρασης ξένου σώματος συνιστά έναν σημαντικό παράγοντα στον τομέα της ερευνητικής ιστοτεχνολογίας, αν και υπάρχουν ελλειπή δεδομένα για την εμφύτευση ικριωμάτων αλγινικού υδροπηκτώματος στο μυοκάρδιο. Τρεις εβδομάδες μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου και την εμφύτευση των βιοϋλικών, η φλεγμονή (εμφραγματικής και μη εμφραγματικής περιοχής) ήταν γενικά ήπια και παρόμοια σε όλες τις ομάδες μελέτης, με μια κάπως πιο έντονη αντίδραση στις ομάδες του ενέσιμου αλγινικού υδροπηκτώματος. Προηγούμενες μελέτες εκτίμησης του αλγινικού υδροπηκτώματος *in vivo* ([141](#)) και *in vitro* ([142](#)) έδειξαν πρόωμη ενεργοποίηση των μακροφάγων, με άμεση γρήγορη μείωσή τους. Αυτό το πρότυπο φλεγμονώδους αντίδρασης θεωρείται ευεργετικό μετά την εμφύτευση ενός βιοϋλικού, διότι προάγει την επούλωση και την αναγέννηση του ιστού ([130](#)).

Αγγειογένεση.

Οι αγγειογενετικές δράσεις της αυξητικής ορμόνης έχουν αποδειχθεί και επιβεβαιωθεί πειραματικά στην μετεμφραγματική περίοδο, μετά από τοπική χορήγηση στο μυοκάρδιο ([43](#)). Η δημιουργία νέο-αγγείων μετεμφραγματικά είναι σημαντική, καθώς η βελτίωση της αιμάτωσης στην εμφραγματική περιοχή επιταχύνει τη διαδικασία επούλωσης. Κατά συνέπεια, σε συνάρτηση με προηγούμενη γνώση, η ενισχυμένη αγγειογένεση που παρατηρήθηκε μετά την χορήγηση αυξητικής ορμόνης μέσω αλγινικού υδροπηκτώματος στο δεύτερο μέρος της διατριβής συνιστά

έναν επιπρόσθετο μηχανισμό για την βελτίωση της μορφολογίας του εμφραγματικού μυοκαρδίου.

Ο ρόλος των μυοϊνοβλαστών.

Μια ενδιαφέρουσα παρατήρηση στο δεύτερο μέρος της διατριβής ήταν ο μεγαλύτερος αριθμός μυοϊνοβλαστών μετά τη χορήγηση αυξητικής ορμόνης μέσω αλγινικού υδροπηκτώματος. Το εύρημα αυτό συμφωνεί με *in vitro* μελέτες (143), όπου φαίνεται ινοβλαστική ανάπτυξη και πολλαπλασιασμός μετά τη χορήγηση αυξητικής ορμόνης. Το εύρημα αυτό παρέχει εξήγηση για το αυξημένο πάχος τοιχώματος στην εμφραγματική περιοχή. Η θεώρηση αυτή ενισχύεται από προηγούμενη παρατήρηση μιας ανάστροφης σχέσης μεταξύ της διάτασης της αριστερής κοιλίας και του αριθμού των μυοϊνοβλαστών στην εμφραγματική περιοχή (144). Οι μηχανισμοί που διέπουν τις ευνοϊκές επιδράσεις των μυοϊνοβλαστών, θεωρείται ότι περιλαμβάνουν την αυξημένη αγγειογένεση (εκκρίνοντας αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα) (145), τη βελτιωμένη διαδικασία επούλωσης (146), καθώς και τη μειωμένη επέκταση εμφράγματος (147).

Η ανεύρεση αυξημένου αριθμού μυοϊνοβλαστών στην ομάδα των πειραματοζώων, στα οποία χορηγήθηκε αυξητική ορμόνη μέσω αλγινικού υδροπηκτώματος, στο δεύτερο μέρος της διατριβής, δεν συνοδευόταν από αυξημένο κολλαγόνο. Το εύρημα αυτό είναι σύμφωνο με προηγούμενες μελέτες (32) και θεωρείται ευεργετικό, διότι η αυξημένη ίνωση επηρεάζει τη χάλαση της αριστερής κοιλίας και προάγει την αρρυθμογένεση. Σε κάθε περίπτωση, είναι αναγκαία η περαιτέρω έρευνα για τις επιδράσεις της αυξητικής ορμόνης στη διαφοροποίηση των ινοβλαστών και τον πολλαπλασιασμό των μυοϊνοβλαστών.

3.6 ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

3.6.1 Πρώτο Μέρος Μελέτης

Στο πρώτο μέρος της μελέτης συγκρίθηκε η επίδραση δυο μορφών βιοϋλικών (PEGSDA) στο μυοκάρδιο έπειτα από έμφραγμα του μυοκαρδίου και αποδείχθηκε ότι ο περιορισμός της αριστερής κοιλίας μειώνει την αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας. Οι σημαντικότεροι περιορισμοί αυτής της μελέτης είναι τρεις:

- Ο *πρώτος* αφορά στην επίδραση των βιολογικών ικριωμάτων στην αγγειογένεση, ο οποίος δεν μελετήθηκε στην παρούσα διατριβή, παρ' ότι αποτελεί σημαντικό στοιχείο στην φλεγμονή, επηρεάζοντας την αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας.
- Ο *δεύτερος* περιορισμός αφορά την ανάγκη προσθήκης επιπλέον ιστολογικών αναλύσεων για την πιο ολοκληρωμένη εκτίμηση της αναδιαμορφωσης της αριστερής κοιλίας.
- Τέλος, ο *τρίτος* περιορισμός είναι η μικρή διάρκεια της παρατήρησης. Σε μελλοντική έρευνα, θα πρέπει να μελετηθεί η μακροχρόνια διατήρηση των ευεργετικών αποτελεσμάτων της χρήσης των βιολογικών ικριωμάτων στο μυοκάρδιο.

3.6.2 Δεύτερο Μέρος Μελέτης

Στο δεύτερο μέρος της μελέτης έγινε σύγκριση τριών βιοϋλικών (alginate), τα οποία εφαρμόστηκαν στην πρώιμη μετεμφραγματική περίοδο, με σκοπό την πρόληψη των τοπογραφικών αλλοιώσεων της αριστερής κοιλίας. Οι σημαντικότεροι περιορισμοί αυτού του σκέλους είναι οι ακόλουθοι:

- *Πρώτον*, εξαιτίας του σχετικά μικρού αριθμού των παρατηρήσεων, δεν μελετήθηκαν οι επιδράσεις των εφαρμοζόμενων υλικών στη θνητότητα.

- Δεύτερον, το χρονικό διάστημα των τριών εβδομάδων παρατήρησης αρκεί για την εκτίμηση της αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας, αλλά είναι απαραίτητο να μελετηθούν μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα σε μελλοντική έρευνα, προκειμένου να εξαχθούν συμπεράσματα σχετικά με την εξέλιξη της αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας σε καρδιακή ανεπάρκεια.

3.7 ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΕΡΕΥΝΑ

Από την εμπειρία που αποκτήθηκε από τη διατριβή και την τεχνογνωσία που αποκομίστηκε στην κατασκευή ικριωμάτων με βάση τα υδροπηκτώματα πολυεθυλενογλυκόλης και αλγινικού οξέος, η μελλοντική έρευνα μπορεί να εστιάσει το ενδιαφέρον της σε πολλά σημεία.

- Αρχικά, είναι αναγκαία μια πλήρης μελέτη των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των υδροπηκτωμάτων και των σύνθετων ικριωμάτων που βασίζονται σε αυτά, με σκοπό (α) την εύρεση των παραγόντων που επηρεάζουν τις φυσικοχημικές ιδιότητες των υδροπηκτωμάτων και (β) τις ιδιότητες της βιοαποδόμησης τους. Προς αυτήν την κατεύθυνση, χρήσιμη θα είναι η *in vitro* προσομοίωση της μακροχρόνιας συμπεριφοράς τους στο περιβάλλον του οργανισμού και συγκεκριμένα του μυοκαρδίου.
- Υπό το πρίσμα της τελικής εφαρμογής του βιοϋλικού στον οργανισμό, οι ιδιότητες που επίσης παρουσιάζουν ενδιαφέρον είναι (α) ο έλεγχος της διαλυτότητας και (β) της πιθανής διόγκωσής τους σε υδατικό περιβάλλον. Τέλος, πρέπει επίσης να μελετηθεί η χημική ευστάθεια, καθώς και η μηχανική αντοχή των βιοϋλικών στο περιβάλλον κάθε ιστού.
- Σημαντική είναι η ενσωμάτωση στο βιοϋλικό διαφόρων φαρμάκων (όπως έγινε για τον αυξητικό παράγοντα) και (α) μελέτη της *in vitro* απελευθέρωσής τους από το βιοϋλικό με το χρόνο, και (β) *in vivo* εμφύτευση και ιστοπαθολογικός έλεγχος των εμφυτευμάτων.

- Πλην της ενσωμάτωσης φαρμάκων, η κυριότερη πρόκληση στον τομέα των βιοϋλικών είναι η δυνατότητα ενσωμάτωσης κυττάρων (διαφοροποιημένων ή μη) στο ικρίωμα. Αρχικά, η ενσωμάτωση πρέπει να γίνει σε συνθήκες βιοαντιδραστήρα, ακολουθούμενη από εμφύτευση σε ζωικά πρότυπα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

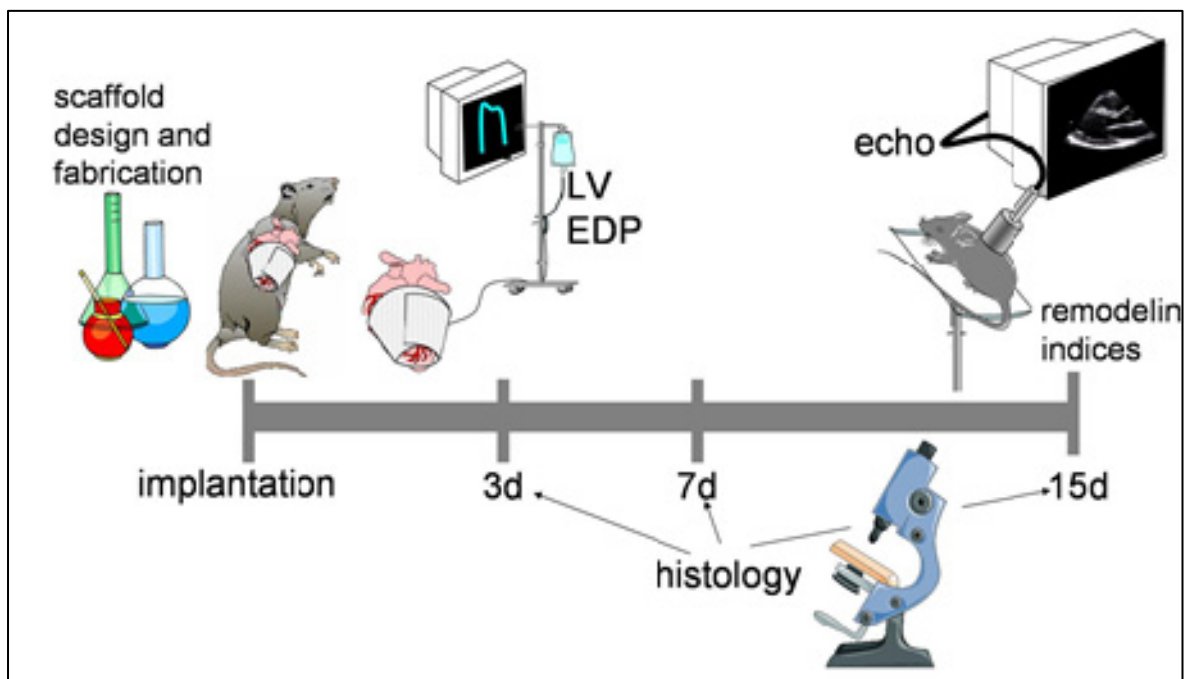
Υπολογίζεται ότι κάθε χρόνο στην Ελλάδα καταγράφονται περίπου 20.000 νέα περιστατικά οξέως εμφράγματος του μυοκαρδίου. Εκτός από την θνητότητα της οξείας φάσης, περισσότερο από το ένα τρίτο των ασθενών που επιβιώνουν μετά την οξεία φάση θα εμφανίσουν κάποια επιπλοκή του εμφράγματος, παρά τα αποδεδειγμένα αποτελέσματα των εφαρμοζόμενων θεραπειών. Η πλειονότητα των ασθενών με διάταση και δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας θα εμφανίσουν κλινικά συμπτώματα καρδιακής ανεπάρκειας. Οι ασθενείς αυτοί απαιτούν συχνές νοσηλείες και έχουν δέκα φορές μεγαλύτερη θνητότητα από τον γενικό πληθυσμό. Επομένως, ένας σημαντικός στόχος της σύγχρονης έρευνας είναι η εφαρμογή νέων, ευρέως εφαρμόσιμων θεραπειών, που με ασφάλεια και αποτελεσματικότητα θα μειώνουν την αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας και θα προλαμβάνουν την καρδιακή ανεπάρκεια.

Η ιστοτεχνολογία αποτελεί ένα γρήγορα εξελισσόμενο επιστημονικό και τεχνολογικό πεδίο, που στοχεύει στην αποκατάσταση των κατεστραμμένων ή δυσλειτουργικών ιστών. Η θεραπευτική αυτή στρατηγική έχει μεγάλο ενδιαφέρον στην αποκατάσταση των καρδιακών νόσων, λόγω της πολύ περιορισμένης ενδογενούς αναγεννητικής ικανότητας της καρδιάς. Η κυριότερη μελλοντική εφαρμογή της στρατηγικής αυτής αναμένεται να είναι στο έμφραγμα του μυοκαρδίου, το οποίο χαρακτηρίζεται από νέκρωση (συνά μεγάλο) μέρους της αριστερής κοιλίας. Η νέκρωση μπορεί να οδηγήσει σε σημαντική και προοδευτική επιδείνωση της καρδιακής λειτουργίας, οδηγώντας τελικά στην κλινική εμφάνιση καρδιακής ανεπάρκειας.

Τα βιοϋλικά, σε διάφορες μορφές, αποδείχθηκε ότι επιδρούν στην μυοκαρδιακή αποκατάσταση, ενισχύοντας την διαδικασία της επούλωσης, ενώ παράλληλα παρέχουν μηχανική στήριξη στο εμφραγματικό τοίχωμα. Όμως, η θεραπεία αυτή ευρίσκεται ακόμη στο στάδιο της αξιολόγησης, καθώς πολλές πλευρές της παραμένουν ανεξερεύνητες, και πολλά ερωτήματα αναπάντητα.

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή, αξιολογήθηκε μία θεραπευτική παρέμβαση, η οποία στοχεύει στην μερική αναγέννηση του κοιλιακού μυοκαρδίου μετά από έμφραγμα, με τελικό στόχο την βελτίωση της λειτουργικότητας της αριστερής κοιλίας. Η σύνθετη αυτή αντιμετώπιση περιελάμβανε την *in vivo* εμφύτευση στο πειραματικό πρότυπο του επίμυος μίας σειράς από βιοαποδομήσιμα υλικά με διαφορετικές ιδιότητες, μαζί με την ενσωμάτωση αυξητικής ορμόνης σε ένα από αυτά.

Στο πρώτο μέρος της διατριβής, ελέγχθηκε η εφαρμογή ενός βιοϋλικού πολυαιθυλενογλυκόλης το οποίο εμφυτεύετο μετεμφραγματικά στο επικάρδιο με δυο τρόπους: (α) σαν υδροπήκτωμα με επικαρδιακή επάλειψη, ή (β) σαν σύνθετο ικρίωμα με σταθεροποίησή του στο επικάρδιο.



Εικόνα 50. Το πρωτόκολλο του πρώτου μέρους της διατριβής([122](#))

Αποδείχθηκε ότι ο άμεσος, βραχυπρόθεσμος (περίπου 7 ημερών) περιορισμός της αριστερής κοιλίας μειώνει την αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας και σχετίζεται με ευεργετική αντίδραση ξένου σώματος στην εμφραγματική, καθώς και την μη εμφραγματική περιοχή του μυοκαρδίου. Η εφαρμογή και των δυο βιοϋλικών προκάλεσε ιστολογική αντίδραση στο μυοκάρδιο, η οποία πιθανόν να συνέβαλε στην παρατηρηθείσα μείωση της αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας, αλλά το σύνθετο ικρίωμα γύρω από τις δύο κοιλίες είχε καλύτερα αποτελέσματα από το

υδροπήκτωμα. Η αξιοποίηση του περιορισμού της αριστερής κοιλίας στη μείωση της αναδιαμόρφωσης έχει ενθαρρυντικά αποτελέσματα, όμως η ανάγκη επεμβατικής τεχνικής για την εμφύτευση του περιορίζει τη χρήση του.

Λόγω του περιορισμού αυτού, και με δεδομένη την σχετικά μεγαλύτερη ευκολία εμφύτευσης του υδροπηκτώματος, το **δεύτερο μέρος της διατριβής** εξέτασε την θεραπευτική αξία ενός ενέσιμου βιοϋλικού από υδροπήκτωμα αλγινικού οξέος. Η χορήγηση αυτή των βιοϋλικών είναι πιθανό να επιταχύνει την μετάβαση στην κλινική πράξη, λόγω της ευρείας χρήσης των επεμβατικών μεθόδων. Επιπλέον, βασιζόμενη στις ευεργετικές επιδράσεις της τοπικής χορήγησης αυξητικής ορμόνης στο μυοκάρδιο, στο δεύτερο μέρος της διατριβής μελετήθηκε τα αποτελέσματα της χορήγησης αυξητικής ορμόνης μέσω ενός υδροπηκτώματος. Λόγω της ευρείας ανάπτυξης και χρήσης των βιοϋλικών με βάση το αλγινικό οξύ, προκρίθηκε και εξετάστηκε το αλγινικό υδροπήκτωμα.



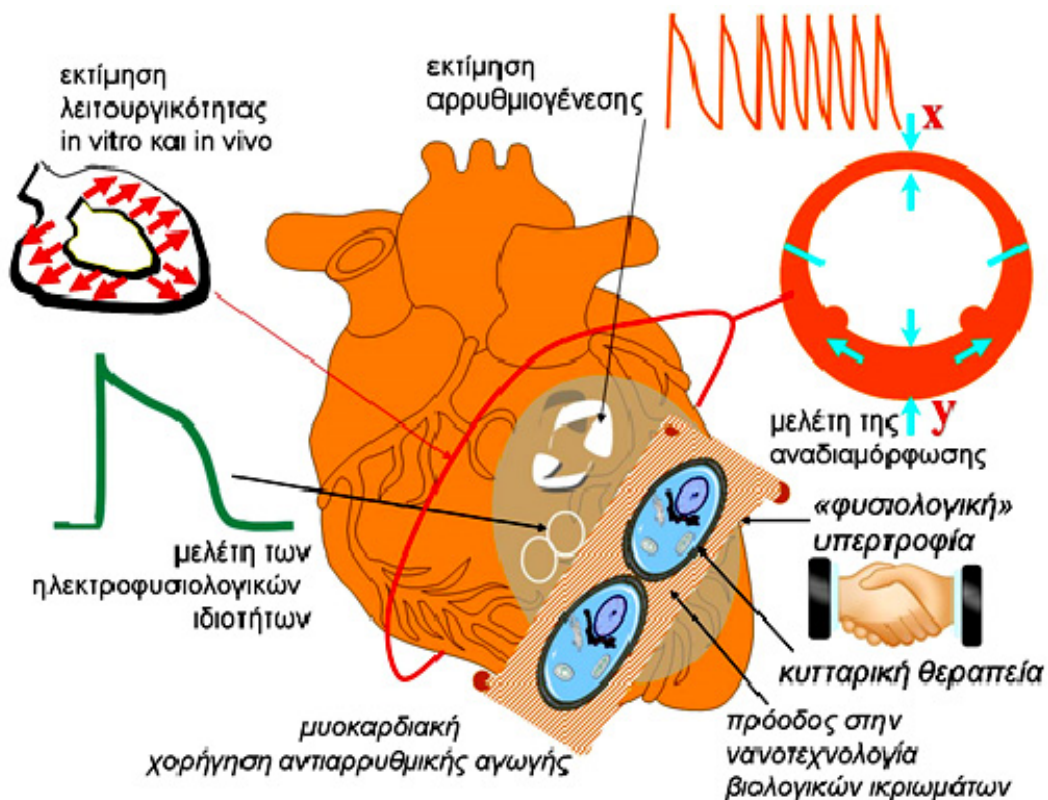
Εικόνα 51. Εμφύτευση υδροπηκτώματος αλγινικού οξέος στο μυοκάρδιο της αριστερής κοιλίας μετά το οξύ έμφραγμα

Φάνηκε μείωση της αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας και βελτίωση της λειτουργία της μετά την τοπική χορήγηση αυξητικής ορμόνης μέσω αλγινικού υδροπηκτώματος, συγκριτικά με την εμφύτευση μόνον αλγινικού υδροπηκτώματος, ή μηχανικού περιορισμού. Τα αποτελέσματα αυτά μπορούν να αποδοθούν στις ευεργετικές επιδράσεις της αυξητικής ορμόνης στην επούλωση του εμφράγματος, που διαμεσολαβείται από ενίσχυση της αγγειογένεσης και της ενεργοποίησης των μυοϊνοβλαστών.

Τα ενέσιμα βιοϋλικά αποτελούν μια πολλά υποσχόμενη μέθοδο για την πρόληψη της αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας μετά το έμφραγμα του

μυοκαρδίου. Ο μηχανισμός πίσω από τις θετικές επιδράσεις των ενέσιμων βιοϋλικών είναι η μηχανική στήριξη και η μείωση της τοιχωματικής τάσης, καθώς και η αντίδραση ξένου σώματος στα πρώτα στάδια μετά την εμφύτευση. Αυξημένο όφελος παρέχεται στην περίπτωση των βιοϋλικών με προσδεσμένα ενεργά μόρια (όπως η αυξητική ορμόνη που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη). Η ερευνητική εμπειρία από την διατριβή καταδεικνύει ότι η παρατεταμένη χορήγηση και δραστηριότητα μετά από τοπική χορήγηση φαρμάκων αποτελεί εφικτό στόχο της θεραπείας.

Μελλοντικές εφαρμογές περιλαμβάνουν την πρόσδεση μυοκαρδιακών κυττάρων, αποσκοπώντας σε μια μακροπρόθεσμη, ενεργή μορφή μυοκαρδιακής αναγέννησης. Για το σκοπό αυτό, είναι πιθανόν να απαιτηθούν οι κατάλληλες μεταβολές στην δομή των βιοϋλικών, ενώ οι παράγοντες που πρέπει να ρυθμιστούν και να δρουν χωροχρονικά για την ιστική αναγέννηση είναι πολλοί. Οι μελλοντικοί στόχοι παριστώνται σχηματικά στην παρακάτω εικόνα.



Εικόνα 52. Ιστοτεχνολογία του μυοκαρδίου, υπόβαθρο της διατριβής και μελλοντικών εφαρμογών.

Συμπερασματικά, η εφαρμογή των βιοϋλικών αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη στρατηγική στη θεραπεία του εμφράγματος του μυοκαρδίου. Ο στόχος είναι η ασφαλής και αποδοτική χρήση βιολογικών ικριωμάτων σαν συστήματα ελεγχόμενης αποδέσμευσης φαρμάκων ή κυτταρικής μεταμόσχευσης στο μυοκάρδιο εμφραγματικών ασθενών, με σκοπό την αποφυγή ανάπτυξης καρδιακής ανεπάρκειας. Προς τον σκοπό αυτό, είναι αναγκαία η διενέργεια περαιτέρω πειραμάτων, έτσι ώστε να πιστοποιηθεί η ασφάλεια και ο ακριβής τρόπος χρήσης βιοϋλικών σαν φορείς πολλαπλών φαρμακευτικών ουσιών ή/και διαφοροποιημένων ή μη κυττάρων. Η ιστοτεχνολογία του μυοκαρδίου έχει ακόμη να απαντήσει σε πολλές προκλήσεις, προκειμένου να μεγιστοποιηθούν οι θεραπευτικές επιδράσεις στην μυοκαρδιακή αποκατάσταση και αναγέννηση.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η πρόληψη της αναδιαμόρφωσης της αριστεράς κοιλίας αποτελεί σημαντικό θεραπευτικό στόχο μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου. Στην διδακτορική διατριβή, αξιολογήθηκε μία θεραπευτική παρέμβαση, η οποία στοχεύει στην μερική αναγέννηση του κοιλιακού μυοκαρδίου μετά το έμφραγμα, με τελικό στόχο τη βελτίωση της λειτουργικότητας της αριστερής κοιλίας. Η σύνθετη αυτή αντιμετώπιση περιλαμβάνει την *in vivo* εμφύτευση σε επίμυες μίας σειράς από βιοαποδομήσιμα υλικά, που παρουσιάζουν διαφορετικές ιδιότητες.

Στο **πρώτο μέρος**, παρασκευάστηκε και αξιολογήθηκε *in vivo*, ένα βιοαποδομήσιμο υλικό πολυαιθυλενογλυκόλης σε δύο μορφές: αυτή του υδροπηκτώματος, εφαρμοζόμενο με επικαρδιακή επάλειψη, και αυτή του σύνθετου ικριώματος, που εμφυτευόταν στο επικάρδιο των δύο κοιλιών, με σκοπό το μηχανικό περιορισμό των κοιλιών. Χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 230 επίμυες τύπου Wistar (βάρους $358 \pm 7g$). Η εμφύτευση έγινε σε φυσιολογικούς επίμυες, καθώς και σε επίμυες μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου, που προκλήθηκε με απολίνωση της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας.

Μετά την εμφύτευση του βιολογικού ικριώματος, έγιναν μετρήσεις των πιέσεων της αριστερής κοιλίας και εκτιμήθηκε η διαστολική πλήρωση. Τα στάδια αποδόμησης και η αντίδραση ξένου σώματος μελετήθηκαν 3, 7 και 15 ημέρες μετά την πρόκληση του εμφράγματος και την εμφύτευση, ενώ οι δείκτες αναδιαμόρφωσης εκτιμήθηκαν υπερηχοκαρδιογραφικά στις 15 ημέρες.

Και τα δύο βιοϋλικά αποδομήθηκαν κατά ~50% στις 7 και 100% στις 15 ημέρες. Δεν βρέθηκε σημαντική διαφορά στην διαστολική πίεση της αριστερής κοιλίας μετά την εμφύτευση. Η αντίδραση ξένου σώματος ήταν η μέγιστη την 3η ημέρα μετά την εμφύτευση, με υποχώρηση τις επόμενες ημέρες παρατήρησης. Η ινοβλαστική αντίδραση ήταν πιο έντονη στην ομάδα του ικριώματος, συγκριτικά με εκείνη του υδροπηκτώματος.

Στις ομάδες με έμφραγμα του μυοκαρδίου, το κλάσμα εξώθησης ήταν μεγαλύτερο σε αυτές του ικρίωματος ($40.0 \pm 1.5\%$) και του υδροπηκτώματος ($37.0 \pm 1.3\%$), συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου ($30.6 \pm 1.9\%$). Η τοιχωματική τάση ήταν μειωμένη και στις δυο ομάδες βιοϋλικών. Στην ομάδα που είχε εμφυτευθεί το ικρίωμα, η τελοδιαστολική διάμετρος της αριστερής κοιλίας ήταν μικρότερη ($p=0.044$), και ο δείκτης σφαιρικότητας μειωμένος ($p=0.029$), συγκριτικά με την εφαρμογή του υδροπηκτώματος.

Συμπερασματικά, και τα δύο βιοϋλικά έδειξαν ευνοϊκή εικόνα ιστολογικής αντίδρασης και μείωσαν την αναδιαμόρφωση, αλλά ο επικαρδιακός μηχανικός περιορισμός, προκαλούμενος από το ικρίωμα βιοϋλικού είχε καλύτερα αποτελέσματα, συγκριτικά με την επικαρδιακή εφαρμογή του υδροπηκτώματος.

Στο **δεύτερο μέρος**, χρησιμοποιήθηκαν δυο μορφές βιοϋλικών, με βάση το αλγινικό οξύ, η μορφή υδροπηκτώματος (με ή χωρίς πρόσδεση αυξητικής ορμόνης), καθώς και η μορφή του σύνθετου ικρίωματος. Δέκα λεπτά μετά την πρόκληση εμφράγματος του μυοκαρδίου με αποκλεισμό της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας, 48 επίμυες τυχαιοποιήθηκαν στις εξής ομάδες: (α) ενδομυοκαρδιακή έγχυση αλγινικού υδροπηκτώματος με και (β) χωρίς αυξητική ορμόνη, (γ) αμφικοιλιακό περιορισμό της καρδιάς με αλγινικό ικρίωμα ή (δ) καμία παρέμβαση. Τρεις εβδομάδες μετά την πρόκληση εμφράγματος, έγιναν υπερηχοκαρδιογραφικές μετρήσεις και εκτιμήθηκαν ανοσοϊστοχημικά το κολλαγόνο, η αγγειογένεση, καθώς και η πυκνότητα μακροφάγων και μυοϊνοβλαστών.

Συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, και οι τρεις εφαρμογές είχαν ευεργετικά αποτελέσματα, αλλά η ομάδα που έλαβε αυξητική ορμόνη προσδεδεμένη στο αλγινικό υδροπήκτωμα έδειξε καλύτερα αποτελέσματα στη διάμετρο της αριστερής κοιλίας (τελοδιαστολική και τελοσυστολική), στο δείκτη σφαιρικότητας της κοιλίας, στην τοιχωματική τάση, και στο πάχος του εμφραγματικού τοιχώματος. Ομοίως, η μικροαγγειακή πυκνότητα και η προσέλκυση μυοϊνοβλαστών στην εμφραγματική και περι-εμφραγματική περιοχή ήταν μεγαλύτερες στην ομάδα που έλαβε αυξητική ορμόνη προσδεδεμένη στο αλγινικό υδροπήκτωμα. Αντίθετα, δεν παρατηρήθηκαν διαφορές, ανάμεσα στις ομάδες θεραπείας, ως προς την πυκνότητα των μακροφάγων και του κολλαγόνου. Συμπερασματικά, η ενδομυοκαρδιακή έγχυση

αυξητικής ορμόνης προσδεδεμένης σε αλγινικό υδροπήκτωμα βελτιώνει την αγγειογένεση και μειώνει την αναδιαμόρφωση μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου, πιο αποτελεσματικά από ότι το αλγινικό υδροπήκτωμα μόνο του ή τον επικαρδιακό μηχανικό περιορισμό, προκαλούμενο με την εμφύτευση του ικριώματος αλγινικού οξέος.

Η εφαρμογή των βιοϋλικών αποτελεί μία πολλά υποσχόμενη στρατηγική στη θεραπεία του εμφράγματος του μυοκαρδίου. Προς την κατεύθυνση αυτή, είναι αναγκαία η διενέργεια περαιτέρω μελετών, με τη χρήση βιοϋλικών ως φορείς φαρμακευτικών ουσιών ή/και διαφοροποιημένων ή μη κυττάρων. Η ιστοτεχνολογία του μυοκαρδίου έχει ακόμη να απαντήσει σε πολλές προκλήσεις, προκειμένου να μεγιστοποιηθούν οι θεραπευτικές επιδράσεις στην μυοκαρδιακή αποκατάσταση και αναγέννηση.

“THE EFFECT OF GROWTH FACTORS AND BIOMATERIALS ON THE LEFT VENTRICLE AFTER MYOCARDIAL INFARCTION. AN EXPERIMENTAL STUDY.” AGAPI D. VILAETI

ABSTRACT

The prevention of left ventricular remodeling post-myocardial infarction constitutes an important therapeutic target. The present thesis evaluated a biomaterial-based therapeutic approach, aiming towards the prevention of infarct expansion and the improvement of left ventricular function. Using the *in vivo* rat model, we examined composite treatments based on various biodegradable materials, characterized by different properties.

In the **first part** of the thesis, a biodegradable scaffold exerting biventricular mechanical restraint was compared with epicardial hydrogel application. In a total number of 230 Wistar rats (358 ± 7 g), implantation was performed with and without prior myocardial infarction, induced by permanent coronary artery ligation. Left ventricular pressure recordings evaluated diastolic filling after scaffold implantation. Degradation rates and inflammatory/foreign body response were studied at 3, 7 and 15 days post-ligation. Remodeling indices were evaluated by echocardiography 15 days post-ligation.

Biodegradability was $\sim 50\%$ by 7 days and 100% by 15 days post-implantation for both materials. No differences were found in diastolic pressure. Inflammatory/foreign body response peaked at 3 days post-implant, with subsequent

remission, but fibroblastic reaction was more pronounced after scaffold than after hydrogel implantation. Post-ligation, ejection fraction was higher in the scaffold ($40.0\pm1.5\%$) or hydrogel groups ($37.0\pm1.3\%$), compared to controls ($30.6\pm1.9\%$). Wall tension index was lower with either biomaterial, but left ventricular end-diastolic diameter was shorter ($p=0.044$) and sphericity was attenuated ($p=0.029$) after scaffold, compared to hydrogel implantation.

It can be concluded that both biomaterials showed favorable histological responses and attenuated remodeling, but epicardial restraint produced better results compared to hydrogel alone.

In the **second part** of the thesis, hydrogel alginate-based biomaterials were evaluated, with or without the addition of growth hormone (GH). These biomaterials were compared with biventricular epicardial restraint, exerted by an alginate-based scaffold.

Ten minutes after permanent coronary artery ligation, 48 Wistar rats ($333\pm5\text{gr}$) were randomized into (a) alginate intramyocardial injection with or (b) without GH, (c) biventricular restraint via an alginate-based scaffold, or (d) no treatment. Echocardiographic and histologic indices of left ventricular remodeling were examined 3 weeks post-infarction, followed by immunohistochemical evaluation of collagen-content and angiogenesis, as well as macrophage- and myofibroblast-count.

Compared to controls, all three treatments displayed favorable effects, but alginate+GH consistently improved end-diastolic and end-systolic diameters, ventricular sphericity, wall tension index and infarct thickness. Similarly, microvascular density and myofibroblast-count in the infarct and peri-infarct areas were higher after alginate+GH, whereas macrophage-count and collagen-content did not differ between groups.

Biomaterials represent a promising therapeutic strategy in the treatment of myocardial infarction. Further investigation is needed, aiming at further exploring the value of biomaterials as carriers of local delivery of drugs and/or cells. Myocardial tissue engineering has yet to overcome many challenges that will likely exploit its therapeutic effects on myocardial repair and regeneration.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι: ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

- “Short-term ventricular restraint attenuates post-infarction remodeling in rats.” Vilaeti AD, Dimos K, Lampri E, Mantzouratou P, Tsitou N, Mourouzis I, Oikonomidis DL, Papalois A, Pantos C, Malamou-Mitsi V, Agathopoulos S, Kolettis TM, Int J Cardiol 2013 May 10;165(2):278-84.
- “Tissue Engineering for Post-Myocardial Infarction Ventricular Remodeling.” Kolettis TM, Vilaeti A, Dimos K, Tsitou N, Agathopoulos S., Mini Rev Med Chem. 2011 Mar;11 (3):263-70. Review.
- “Additive beneficial effects of local growth hormone and alginate administration on post-infarction remodeling in rats.” Evangelos P Daskalopoulos, Agapi D Vilaeti, Eleonora Barka, Polyxeni Mantzouratou, Marianthi Kontonika, Apostolos Papalois, Constantinos Pantos, W. Matthijs Blankesteyn, Simeon Agathopoulos, Theofilos M. Kolettis. (Submitted).

ΣΥΜΜΕΤΟΧΕΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

- «Ανάπτυξη βιοδιασπώμενου ικριώματος με βάση το αλγινικό οξύ και μελέτη της επίδρασής του στις κοιλιακές αρρυθμίες έπειτα από πειραματική ισχαιμία – επαναιμάτωση μυοκαρδίου» Ε. Μπάρκα, Μ. Κοντονίκα, Α. Βιλαέτη, Μ. Ρουμπή, Κ. Γκιάκα, Α. Παπαλόης, Θ. Κωλέττης, Σ. Αγαθόπουλος, 6^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Εμβιομηχανικής ΕΛΕΜΒΙΟ, (2014) Πάτρα. Προφορική Ανακοίνωση.
- «Ανάπτυξη νέων βιοδιασπώμενων ικριωμάτων με βάση την πολυαιθυλενογλυκόλη (PEG) και το αλγινικό οξύ για εμφύτευση στο μυοκάρδιο μετά από οξύ έμφραγμα» Ε. Μπάρκα, Α. Γιακαλή, Θ. Σαγάνη, Κ.

Δήμος, Α. Βιλαέτη, Μ. Κοντονίκα, Α. Παπαλόης, Θ. Κωλέττης, Σ. Αγαθόπουλος, 8η Διημερία Ελληνικής Εταιρείας Βιοϋλικών, (2013) Αθήνα. Προφορική Ανακοίνωση.

- «Rheological properties of biodegradable hydrogels of alginate and PEG for myocardial tissue engineering » Eleonora Barka, Kostas Dimos, Agapi Vilaeti, Theofillos Kolettis, Symeon Agathopoulos, European Society Congress 2013. Πάτρα. Αναρτημένη Ανακοίνωση.
- «Βιοδιασπώμενα ικρίώματα από αλγινικό οξύ για εμφύτευση στο» Κ. Δήμος, Ε. Μπάρκα, Α. Βιλαέτη, Α. Παπαλόης, Θ. Κωλέττης και Σ. Αγαθόπουλος, στο 5ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Εμβιομηχανικής ΕΛΕΜΒΙΟ (2012) Θεσσαλονίκη. Προφορική Ανακοίνωση.
- «Σύνθεση και μελέτη βιοαποικοδομήσιμων βιοϋλικών οξικής κυτταρίνης και PEG μετά από εμφύτευση στο μυοκάρδιο επιμύων» Κ. Δήμος, Α. Βιλαέτη, Ν. Τσίτου, Ε. Λάμπρη, Ι. Μουρούζης, Α. Παπαλόης, Κ. Πάντος, Β. Μαλάμου-Μήτση, Θ. Κωλέττης, Σ. Αγαθόπουλος, στο 4ο Πανελλήνιο συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Εμβιομηχανικής «ΕΛΕΜΒΙΟ» (2010) Ιωάννινα. Αναρτημένη Ανακοίνωση.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Andrikopoulos G, Pipilis A, Goudevenos J, Tzeis S, Kartalis A, Oikonomou K, et al. Epidemiological characteristics, management and early outcome of acute myocardial infarction in Greece: the HELlenic Infarction Observation Study. *Hellenic journal of cardiology : HJC = Hellenike kardiologike epitheorese*. 2007;48(6):325-34.
2. Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction. Experimental observations and clinical implications. *Circulation*. 1990;81(4):1161-72.
3. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS medicine*. 2006;3(11):e442.
4. Khafaji HA, Suwaidi JM. Atypical presentation of acute and chronic coronary artery disease in diabetics. *World journal of cardiology*. 2014;6(8):802-13.
5. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD, et al. Third universal definition of myocardial infarction. *Circulation*. 2012;126(16):2020-35.
6. Solomon SD, Zelenkofske S, McMurray JJ, Finn PV, Velazquez E, Ertl G, et al. Sudden death in patients with myocardial infarction and left ventricular dysfunction, heart failure, or both. *The New England journal of medicine*. 2005;352(25):2581-8.
7. Weir RA, McMurray JJ, Velazquez EJ. Epidemiology of heart failure and left ventricular systolic dysfunction after acute myocardial infarction: prevalence, clinical characteristics, and prognostic importance. *The American journal of cardiology*. 2006;97(10A):13F-25F.
8. Jennings RB, Ganote CE. Structural changes in myocardium during acute ischemia. *Circulation research*. 1974;35 Suppl 3:156-72.
9. Guyton AC, Hall JE. *Human physiology and mechanisms of disease*. 6th ed. Philadelphia: Saunders; 1997. x, 737 p. p.
10. Ertl G, Frantz S. Healing after myocardial infarction. *Cardiovascular research*. 2005;66(1):22-32.
11. Hutchins GM, Bulkley BH. Infarct expansion versus extension: two different complications of acute myocardial infarction. *The American journal of cardiology*. 1978;41(7):1127-32.
12. Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling--concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. *Journal of the American College of Cardiology*. 2000;35(3):569-82.
13. Sutton MG, Sharpe N. Left ventricular remodeling after myocardial infarction: pathophysiology and therapy. *Circulation*. 2000;101(25):2981-8.
14. Francis GS, Chu C. Post-infarction myocardial remodeling: why does it happen? *European heart journal*. 1995;16 Suppl N:31-6.
15. St John Sutton M, Lee D, Rouleau JL, Goldman S, Plappert T, Braunwald E, et al. Left ventricular remodeling and ventricular arrhythmias after myocardial infarction. *Circulation*. 2003;107(20):2577-82.

16. Bogun F, Krishnan S, Siddiqui M, Good E, Marine JE, Schuger C, et al. Electrogram characteristics in postinfarction ventricular tachycardia: effect of infarct age. *Journal of the American College of Cardiology*. 2005;46(4):667-74.
17. Colucci WS. Molecular and cellular mechanisms of myocardial failure. *The American journal of cardiology*. 1997;80(11A):15L-25L.
18. Kelley ST, Malekan R, Gorman JH, 3rd, Jackson BM, Gorman RC, Suzuki Y, et al. Restraining infarct expansion preserves left ventricular geometry and function after acute anteroapical infarction. *Circulation*. 1999;99(1):135-42.
19. Magovern JA, Teekell-Taylor L, Mankad S, Dasika U, McGregor W, Biederman RW, et al. Effect of a flexible ventricular restraint device on cardiac remodeling after acute myocardial infarction. *ASAIO journal*. 2006;52(2):196-200.
20. Topkara VK, Kondareddy S, Mann DL. Modulation of left ventricular dilation remodeling with epicardial restraint devices in postmyocardial infarction heart failure. *Current heart failure reports*. 2009;6(4):229-35.
21. Braunwald E, Pfeffer MA. Ventricular enlargement and remodeling following acute myocardial infarction: mechanisms and management. *The American journal of cardiology*. 1991;68(14):1D-6D.
22. Mann DL, Bristow MR. Mechanisms and models in heart failure: the biomechanical model and beyond. *Circulation*. 2005;111(21):2837-49.
23. Wong K, Boheler KR, Bishop J, Petrou M, Yacoub MH. Clenbuterol induces cardiac hypertrophy with normal functional, morphological and molecular features. *Cardiovascular research*. 1998;37(1):115-22.
24. Soppa GK, Smolenski RT, Latif N, Yuen AH, Malik A, Karbowska J, et al. Effects of chronic administration of clenbuterol on function and metabolism of adult rat cardiac muscle. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2005;288(3):H1468-76.
25. Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature*. 2000;407(6801):249-57.
26. Potente M, Gerhardt H, Carmeliet P. Basic and therapeutic aspects of angiogenesis. *Cell*. 2011;146(6):873-87.
27. Fraccarollo D, Galuppo P, Schmidt I, Ertl G, Bauersachs J. Additive amelioration of left ventricular remodeling and molecular alterations by combined aldosterone and angiotensin receptor blockade after myocardial infarction. *Cardiovascular research*. 2005;67(1):97-105.
28. Goldstein S, Sabbah H. Ventricular remodeling and angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 1994;24 Suppl 3:S27-31.
29. Krum H. Clinical investigations of statins in heart failure: ventricular function and anti-remodeling. *Heart failure clinics*. 2008;4(2):177-86.
30. Sanders GD, Hlatky MA, Owens DK. Cost-effectiveness of implantable cardioverter-defibrillators. *The New England journal of medicine*. 2005;353(14):1471-80.
31. Cittadini A, Berggren A, Longobardi S, Ehrnborg C, Napoli R, Rosen T, et al. Supraphysiological doses of GH induce rapid changes in cardiac morphology and function. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2002;87(4):1654-9.
32. Cittadini A, Grossman JD, Napoli R, Katz SE, Stromer H, Smith RJ, et al. Growth hormone attenuates early left ventricular remodeling and improves cardiac function in rats with large myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*. 1997;29(5):1109-16.

33. Cittadini A, Grossman JD, Stromer H, Katz SE, Morgan JP, Douglas PS. Importance of an intact growth hormone/insulin-like growth factor 1 axis for normal post-infarction healing: studies in dwarf rats. *Endocrinology*. 2001;142(1):332-8.
34. Cittadini A, Isgaard J, Monti MG, Casaburi C, Di Gianni A, Serpico R, et al. Growth hormone prolongs survival in experimental postinfarction heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*. 2003;41(12):2154-63.
35. Cittadini A, Marra AM, Arcopinto M, Bobbio E, Salzano A, Sirico D, et al. Growth hormone replacement delays the progression of chronic heart failure combined with growth hormone deficiency: an extension of a randomized controlled single-blind study. *JACC Heart failure*. 2013;1(4):325-30.
36. Cittadini A, Saldamarco L, Marra AM, Arcopinto M, Carlomagno G, Imbriaco M, et al. Growth hormone deficiency in patients with chronic heart failure and beneficial effects of its correction. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2009;94(9):3329-36.
37. Cittadini A, Stromer H, Katz SE, Clark R, Moses AC, Morgan JP, et al. Differential cardiac effects of growth hormone and insulin-like growth factor-1 in the rat. A combined in vivo and in vitro evaluation. *Circulation*. 1996;93(4):800-9.
38. Hristov M, Heussen N, Schober A, Weber C. Intracoronary infusion of autologous bone marrow cells and left ventricular function after acute myocardial infarction: a meta-analysis. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2006;10(3):727-33.
39. Schachinger V, Erbs S, Elsasser A, Haberbosch W, Hambrecht R, Holschermann H, et al. Improved clinical outcome after intracoronary administration of bone-marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction: final 1-year results of the REPAIR-AMI trial. *European heart journal*. 2006;27(23):2775-83.
40. Schaefer A, Meyer GP, Fuchs M, Klein G, Kaplan M, Wollert KC, et al. Impact of intracoronary bone marrow cell transfer on diastolic function in patients after acute myocardial infarction: results from the BOOST trial. *European heart journal*. 2006;27(8):929-35.
41. Malliaras K, Makkar RR, Smith RR, Cheng K, Wu E, Bonow RO, et al. Intracoronary cardiosphere-derived cells after myocardial infarction: evidence of therapeutic regeneration in the final 1-year results of the CADUCEUS trial (CARDiosphere-Derived aUtologous stem CELls to reverse ventricUlar dySfunction). *Journal of the American College of Cardiology*. 2014;63(2):110-22.
42. Baltogiannis GG, Tsalikakis DG, Mitsi AC, Hatzistergos KE, Elaiopoulos D, Fotiadis DI, et al. Endothelin receptor--a blockade decreases ventricular arrhythmias after myocardial infarction in rats. *Cardiovascular research*. 2005;67(4):647-54.
43. Mitsi AC, Hatzistergos KE, Niokou D, Pappa L, Baltogiannis GG, Tsalikakis DG, et al. Early, intracoronary growth hormone administration attenuates ventricular remodeling in a porcine model of myocardial infarction. *Growth Horm IGF Res*. 2006;16(2):93-100.
44. Kotlyar AA, Vered Z, Goldberg I, Chouraqui P, Nas D, Fridman E, et al. Insulin-like growth factor I and II preserve myocardial structure in postinfarct swine. *Heart*. 2001;86(6):693-700.
45. Li Q, Li B, Wang X, Leri A, Jana KP, Liu Y, et al. Overexpression of insulin-like growth factor-1 in mice protects from myocyte death after infarction, attenuating ventricular dilation, wall stress, and cardiac hypertrophy. *The Journal of clinical investigation*. 1997;100(8):1991-9.

46. Friberg L, Werner S, Eggertsen G, Ahnve S. Growth hormone and insulin-like growth factor-1 in acute myocardial infarction. *European heart journal*. 2000;21(18):1547-54.
47. Elaiopoulos DA, Tsalikakis DG, Agelaki MG, Baltogiannis GG, Mitsi AC, Fotiadis DI, et al. Growth hormone decreases phase II ventricular tachyarrhythmias during acute myocardial infarction in rats. *Clin Sci (Lond)*. 2007;112(7):385-91.
48. Elaiopoulos DA, Kolettis TM. Antiarrhythmic actions of growth hormone during acute myocardial infarction. *Journal of electrocardiology*. 2009;42(3):298-9.
49. Ramunddal T, Gizurarson S, Lorentzon M, Omerovic E. Antiarrhythmic effects of growth hormone--in vivo evidence from small-animal models of acute myocardial infarction and invasive electrophysiology. *Journal of electrocardiology*. 2008;41(2):144-51.
50. Buccini S, Haider KH, Ahmed RP, Jiang S, Ashraf M. Cardiac progenitors derived from reprogrammed mesenchymal stem cells contribute to angiomyogenic repair of the infarcted heart. *Basic research in cardiology*. 2012;107(6):301.
51. Welt FG, Gallegos R, Connell J, Kajstura J, D'Amario D, Kwong RY, et al. Effect of cardiac stem cells on left-ventricular remodeling in a canine model of chronic myocardial infarction. *Circulation Heart failure*. 2013;6(1):99-106.
52. Strauer BE, Brehm M, Zeus T, Kosterling M, Hernandez A, Sorg RV, et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation*. 2002;106(15):1913-8.
53. Zhang M, Methot D, Poppa V, Fujio Y, Walsh K, Murry CE. Cardiomyocyte grafting for cardiac repair: graft cell death and anti-death strategies. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2001;33(5):907-21.
54. Kolettis TM. Arrhythmogenesis after cell transplantation post-myocardial infarction. Four burning questions--and some answers. *Cardiovascular research*. 2006;69(2):299-301.
55. Muller-Ehmsen J, Peterson KL, Kedes L, Whittaker P, Dow JS, Long TI, et al. Rebuilding a damaged heart: long-term survival of transplanted neonatal rat cardiomyocytes after myocardial infarction and effect on cardiac function. *Circulation*. 2002;105(14):1720-6.
56. Barbash IM, Chouraqui P, Baron J, Feinberg MS, Etzion S, Tessone A, et al. Systemic delivery of bone marrow-derived mesenchymal stem cells to the infarcted myocardium: feasibility, cell migration, and body distribution. *Circulation*. 2003;108(7):863-8.
57. Vunjak-Novakovic G, Lui KO, Tandon N, Chien KR. Bioengineering heart muscle: a paradigm for regenerative medicine. *Annual review of biomedical engineering*. 2011;13:245-67.
58. Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science*. 1993;260(5110):920-6.
59. Patrick CW, Mikos AG, McIntire LV. *Frontiers in tissue engineering*. 1st ed. Oxford, U.K. ; New York, NY, U.S.A.: Pergamon; 1998. xvi, 700 p. p.
60. Vunjak-Novakovic G, Tandon N, Godier A, Maidhof R, Marsano A, Martens TP, et al. Challenges in cardiac tissue engineering. *Tissue engineering Part B, Reviews*. 2010;16(2):169-87.
61. Segers VF, Lee RT. Biomaterials to enhance stem cell function in the heart. *Circulation research*. 2011;109(8):910-22.
62. Martinez EC, Kofidis T. Adult stem cells for cardiac tissue engineering. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2011;50(2):312-9.

63. Rane AA, Christman KL. Biomaterials for the treatment of myocardial infarction: a 5-year update. *Journal of the American College of Cardiology*. 2011;58(25):2615-29.
64. Tous E, Purcell B, Ifkovits JL, Burdick JA. Injectable acellular hydrogels for cardiac repair. *Journal of cardiovascular translational research*. 2011;4(5):528-42.
65. Singelyn JM, Christman KL. Injectable materials for the treatment of myocardial infarction and heart failure: the promise of decellularized matrices. *Journal of cardiovascular translational research*. 2010;3(5):478-86.
66. Ruvinov E, Harel-Adar T, Cohen S. Bioengineering the infarcted heart by applying bio-inspired materials. *Journal of cardiovascular translational research*. 2011;4(5):559-74.
67. Willerth SM, Sakiyama-Elbert SE. Combining stem cells and biomaterial scaffolds for constructing tissues and cell delivery. *StemBook*. Cambridge (MA)2008.
68. Williams DF. The Williams dictionary of biomaterials. Liverpool: Liverpool University Press; 1999. xvii, 343 p. p.
69. Ruvinov E, Sapir Y, Cohen S. *Cardiac Tissue Engineering: Principles, Materials, and Applications*: Morgan & Claypool Publishers; 2012.
70. Ratner BD. *Biomaterials science : an introduction to materials in medicine*. 2nd ed. ed. Amsterdam ; London: Elsevier Academic Press; 2004.
71. Kim J, Lee KW, Hefferan TE, Currier BL, Yaszemski MJ, Lu L. Synthesis and evaluation of novel biodegradable hydrogels based on poly(ethylene glycol) and sebacic acid as tissue engineering scaffolds. *Biomacromolecules*. 2008;9(1):149-57.
72. Weigel T, Schinkel G, Lendlein A. Design and preparation of polymeric scaffolds for tissue engineering. *Expert review of medical devices*. 2006;3(6):835-51.
73. Christman KL, Lee RJ. Biomaterials for the treatment of myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*. 2006;48(5):907-13.
74. Agathopoulos S, Kolettis TM. Editorial: Novel strategies for cardiac repair post-myocardial infarction. *Current pharmaceutical design*. 2014;20(12):1925-9.
75. Enomoto Y, Gorman JH, 3rd, Moainie SL, Jackson BM, Parish LM, Plappert T, et al. Early ventricular restraint after myocardial infarction: extent of the wrap determines the outcome of remodeling. *The Annals of thoracic surgery*. 2005;79(3):881-7; discussion -7.
76. Chaudhry PA, Mishima T, Sharov VG, Hawkins J, Alferness C, Paone G, et al. Passive epicardial containment prevents ventricular remodeling in heart failure. *The Annals of thoracic surgery*. 2000;70(4):1275-80.
77. Konertz WF, Shapland JE, Hotz H, Dushe S, Braun JP, Stantke K, et al. Passive containment and reverse remodeling by a novel textile cardiac support device. *Circulation*. 2001;104(12 Suppl 1):I270-5.
78. Olsson A, Bredin F, Franco-Cereceda A. Echocardiographic findings using tissue velocity imaging following passive containment surgery with the Acorn CorCap cardiac support device. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*. 2005;28(3):448-53.
79. Kolettis TM, Vilaeti A, Dimos K, Tsitou N, Agathopoulos S. Tissue engineering for post-myocardial infarction ventricular remodeling. *Mini reviews in medicinal chemistry*. 2011;11(3):263-70.
80. Christman KL, Vardanian AJ, Fang Q, Sievers RE, Fok HH, Lee RJ. Injectable fibrin scaffold improves cell transplant survival, reduces infarct expansion, and

induces neovasculature formation in ischemic myocardium. *Journal of the American College of Cardiology*. 2004;44(3):654-60.

81. Huang NF, Yu J, Sievers R, Li S, Lee RJ. Injectable biopolymers enhance angiogenesis after myocardial infarction. *Tissue engineering*. 2005;11(11-12):1860-6.

82. Dai W, Wold LE, Dow JS, Kloner RA. Thickening of the infarcted wall by collagen injection improves left ventricular function in rats: a novel approach to preserve cardiac function after myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*. 2005;46(4):714-9.

83. Leor J, Tuvia S, Guetta V, Manczur F, Castel D, Willenz U, et al. Intracoronary injection of in situ forming alginate hydrogel reverses left ventricular remodeling after myocardial infarction in Swine. *Journal of the American College of Cardiology*. 2009;54(11):1014-23.

84. Iwakura A, Fujita M, Kataoka K, Tambara K, Sakakibara Y, Komeda M, et al. Intramyocardial sustained delivery of basic fibroblast growth factor improves angiogenesis and ventricular function in a rat infarct model. *Heart and vessels*. 2003;18(2):93-9.

85. Christman KL, Fang Q, Yee MS, Johnson KR, Sievers RE, Lee RJ. Enhanced neovasculature formation in ischemic myocardium following delivery of pleiotrophin plasmid in a biopolymer. *Biomaterials*. 2005;26(10):1139-44.

86. Hsieh PC, Davis ME, Gannon J, MacGillivray C, Lee RT. Controlled delivery of PDGF-BB for myocardial protection using injectable self-assembling peptide nanofibers. *The Journal of clinical investigation*. 2006;116(1):237-48.

87. Kim J, Hefferan TE, Yaszemski MJ, Lu L. Potential of hydrogels based on poly(ethylene glycol) and sebacic acid as orthopedic tissue engineering scaffolds. *Tissue engineering Part A*. 2009;15(8):2299-307.

88. Chueh BH, Zheng Y, Torisawa YS, Hsiao AY, Ge C, Hsiong S, et al. Patterning alginate hydrogels using light-directed release of caged calcium in a microfluidic device. *Biomedical microdevices*. 2010;12(1):145-51.

89. Chan L, Lee H, Heng P. Production of alginate microspheres by internal gelation using an emulsification method. *International journal of pharmaceutics*. 2002;242(1-2):259-62.

90. Augst AD, Kong HJ, Mooney DJ. Alginate hydrogels as biomaterials. *Macromol Biosci*. 2006;6(8):623-33.

91. Siew CK, Williams PA, Young NW. New insights into the mechanism of gelation of alginate and pectin: charge annihilation and reversal mechanism. *Biomacromolecules*. 2005;6(2):963-9.

92. Baumann GP. Growth hormone isoforms. *Growth Horm IGF Res*. 2009;19(4):333-40.

93. Berne RM, Levy MN, Koeppen BM, Stanton BA. *Berne & Levy physiology*. 6th ed. Philadelphia, PA: Mosby/Elsevier; 2008. xii, 834 p. p.

94. Bulow B, Hagmar L, Eskilsson J, Erfurth EM. Hypopituitary females have a high incidence of cardiovascular morbidity and an increased prevalence of cardiovascular risk factors. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2000;85(2):574-84.

95. Longobardi S, Cuocolo A, Merola B, Di Rella F, Colao A, Nicolai E, et al. Left ventricular function in young adults with childhood and adulthood onset growth hormone deficiency. *Clinical endocrinology*. 1998;48(2):137-43.

96. Sverrisdottir YB, Elam M, Herlitz H, Bengtsson BA, Johannsson G. Intense sympathetic nerve activity in adults with hypopituitarism and untreated growth hormone deficiency. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1998;83(6):1881-5.
97. Amato G, Carella C, Fazio S, La Montagna G, Cittadini A, Sabatini D, et al. Body composition, bone metabolism, and heart structure and function in growth hormone (GH)-deficient adults before and after GH replacement therapy at low doses. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1993;77(6):1671-6.
98. Beshyah SA, Shahi M, Skinner E, Sharp P, Foale R, Johnston DG. Cardiovascular effects of growth hormone replacement therapy in hypopituitary adults. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 1994;130(5):451-8.
99. Boschetti M, Casu M, Moretti S, Teti C, Albanese V, Albertelli M, et al. Autonomic nervous system and cardiovascular risk assessment during one year of growth hormone (GH) replacement therapy in adults with GH deficiency. *Hormones*. 2014.
100. Akutsu H, Kreutzer J, Wasmeier G, Ropers D, Rost C, Mohlig M, et al. Acromegaly per se does not increase the risk for coronary artery disease. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 2010;162(5):879-86.
101. Bogazzi F, Battolla L, Spinelli C, Rossi G, Gavioli S, Di Bello V, et al. Risk factors for development of coronary heart disease in patients with acromegaly: a five-year prospective study. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2007;92(11):4271-7.
102. Sacca L, Napoli R, Cittadini A. Growth hormone, acromegaly, and heart failure: an intricate triangulation. *Clinical endocrinology*. 2003;59(6):660-71.
103. Mosca S, Paolillo S, Colao A, Bossone E, Cittadini A, Iudice FL, et al. Cardiovascular involvement in patients affected by acromegaly: an appraisal. *International journal of cardiology*. 2013;167(5):1712-8.
104. Mathews LS, Enberg B, Norstedt G. Regulation of rat growth hormone receptor gene expression. *The Journal of biological chemistry*. 1989;264(17):9905-10.
105. Bruel A, Oxlund H. The effect of growth hormone on rat myocardial collagen. *Growth Horm IGF Res*. 1999;9(2):123-30.
106. Bruel A, Oxlund H, Nyengaard JR. The total length of myocytes and capillaries, and total number of myocyte nuclei in the rat heart are time-dependently increased by growth hormone. *Growth Horm IGF Res*. 2005;15(4):256-64.
107. Bruel A, Christoffersen TE, Nyengaard JR. Growth hormone increases the proliferation of existing cardiac myocytes and the total number of cardiac myocytes in the rat heart. *Cardiovascular research*. 2007;76(3):400-8.
108. Castagnino HE, Milei J, Toranzos FA, Weiss V, Beigelman R. Bivalent effects of human growth hormone in experimental myocardial infarcts. Protective when administered alone and aggravating when combined with beta blockers. *Japanese heart journal*. 1990;31(6):845-55.
109. Isgaard J, Kujacic V, Jennische E, Holmang A, Sun XY, Hedner T, et al. Growth hormone improves cardiac function in rats with experimental myocardial infarction. *European journal of clinical investigation*. 1997;27(6):517-25.

110. Jin H, Yang R, Lu H, Ogasawara AK, Li W, Ryan A, et al. Effects of early treatment with growth hormone on infarct size, survival, and cardiac gene expression after acute myocardial infarction. *Growth Horm IGF Res.* 2002;12(4):208-15.
111. Fazio S, Sabatini D, Capaldo B, Vigorito C, Giordano A, Guida R, et al. A preliminary study of growth hormone in the treatment of dilated cardiomyopathy. *The New England journal of medicine.* 1996;334(13):809-14.
112. Genth-Zotz S, Zotz R, Geil S, Voigtlander T, Meyer J, Darius H. Recombinant growth hormone therapy in patients with ischemic cardiomyopathy : effects on hemodynamics, left ventricular function, and cardiopulmonary exercise capacity. *Circulation.* 1999;99(1):18-21.
113. Adamopoulos S, Parissis JT, Georgiadis M, Karatzas D, Paraskevaidis J, Kroupis C, et al. Growth hormone administration reduces circulating proinflammatory cytokines and soluble Fas/soluble Fas ligand system in patients with chronic heart failure secondary to idiopathic dilated cardiomyopathy. *American heart journal.* 2002;144(2):359-64.
114. Smit JW, Janssen YJ, Lamb HJ, van der Wall EE, Stokkel MP, Viergever E, et al. Six months of recombinant human GH therapy in patients with ischemic cardiac failure does not influence left ventricular function and mass. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2001;86(10):4638-43.
115. van Thiel SW, Smit JW, de Roos A, Bax JJ, van der Wall EE, Biermasz NR, et al. Six-months of recombinant human GH therapy in patients with ischemic cardiac failure. *The international journal of cardiovascular imaging.* 2004;20(1):53-60.
116. Osterziel KJ, Blum WF, Strohm O, Dietz R. The severity of chronic heart failure due to coronary artery disease predicts the endocrine effects of short-term growth hormone administration. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2000;85(4):1533-9.
117. Le Corvoisier P, Hittinger L, Chanson P, Montagne O, Macquin-Mavier I, Maison P. Cardiac effects of growth hormone treatment in chronic heart failure: A meta-analysis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2007;92(1):180-5.
118. Jayasankar V, Pirolli TJ, Bish LT, Berry MF, Burdick J, Grand T, et al. Targeted overexpression of growth hormone by adenoviral gene transfer preserves myocardial function and ventricular geometry in ischemic cardiomyopathy. *Journal of molecular and cellular cardiology.* 2004;36(4):531-8.
119. Jayasankar V, Bish LT, Pirolli TJ, Berry MF, Burdick J, Woo YJ. Local myocardial overexpression of growth hormone attenuates postinfarction remodeling and preserves cardiac function. *The Annals of thoracic surgery.* 2004;77(6):2122-9; discussion 9.
120. Hatzistergos KE, Mitsi AC, Zachariou C, Skyrilas A, Kapatou E, Agelaki MG, et al. Randomised comparison of growth hormone versus IGF-1 on early post-myocardial infarction ventricular remodelling in rats. *Growth Horm IGF Res.* 2008;18(2):157-65.
121. Xu L, Wu F, Yuan W, Jin T. Controlled-release implant system formulated using biodegradable hemostatic gauze as scaffold. *International journal of pharmaceutics.* 2008;355(1-2):249-58.
122. Vilaeti AD, Dimos K, Lampri ES, Mantzouratou P, Tsitou N, Mourouzis I, et al. Short-term ventricular restraint attenuates post-infarction remodeling in rats. *Int J Cardiol.* 2013;165(2):278-84.
123. Pantos C, Mourouzis I, Markakis K, Dimopoulos A, Xinaris C, Kokkinos AD, et al. Thyroid hormone attenuates cardiac remodeling and improves hemodynamics early

- after acute myocardial infarction in rats. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*. 2007;32(2):333-9.
124. Saavedra WF, Tunin RS, Paolocci N, Mishima T, Suzuki G, Emala CW, et al. Reverse remodeling and enhanced adrenergic reserve from passive external support in experimental dilated heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*. 2002;39(12):2069-76.
 125. Pilla JJ, Blom AS, Brockman DJ, Ferrari VA, Yuan Q, Acker MA. Passive ventricular constraint to improve left ventricular function and mechanics in an ovine model of heart failure secondary to acute myocardial infarction. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 2003;126(5):1467-76.
 126. Olivetti G, Capasso JM, Sonnenblick EH, Anversa P. Side-to-side slippage of myocytes participates in ventricular wall remodeling acutely after myocardial infarction in rats. *Circulation research*. 1990;67(1):23-34.
 127. Cleutjens JP, Kandala JC, Guarda E, Guntaka RV, Weber KT. Regulation of collagen degradation in the rat myocardium after infarction. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 1995;27(6):1281-92.
 128. Jugdutt BI. Ventricular remodeling after infarction and the extracellular collagen matrix: when is enough enough? *Circulation*. 2003;108(11):1395-403.
 129. Qiu Y, Lim JJ, Scott L, Jr., Adams RC, Bui HT, Temenoff JS. PEG-based hydrogels with tunable degradation characteristics to control delivery of marrow stromal cells for tendon overuse injuries. *Acta biomaterialia*. 2011;7(3):959-66.
 130. Anderson JM, Rodriguez A, Chang DT. Foreign body reaction to biomaterials. *Seminars in immunology*. 2008;20(2):86-100.
 131. Fujimoto KL, Tobita K, Merryman WD, Guan J, Momoi N, Stolz DB, et al. An elastic, biodegradable cardiac patch induces contractile smooth muscle and improves cardiac remodeling and function in subacute myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007;49(23):2292-300.
 132. Luttikhuisen DT, Harmsen MC, Van Luyn MJ. Cellular and molecular dynamics in the foreign body reaction. *Tissue engineering*. 2006;12(7):1955-70.
 133. Bowen FW, Jones SC, Narula N, St John Sutton MG, Plappert T, Edmunds LH, Jr., et al. Restraining acute infarct expansion decreases collagenase activity in borderzone myocardium. *The Annals of thoracic surgery*. 2001;72(6):1950-6.
 134. Burdick JA, Mauck RL, Gorman JH, 3rd, Gorman RC. Acellular biomaterials: an evolving alternative to cell-based therapies. *Science translational medicine*. 2013;5(176):176ps4.
 135. George I, Cheng Y, Yi GH, He KL, Li X, Oz MC, et al. Effect of passive cardiac containment on ventricular synchrony and cardiac function in awake dogs. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*. 2007;31(1):55-64.
 136. Klodell CT, Jr., Aranda JM, Jr., McGiffin DC, Rayburn BK, Sun B, Abraham WT, et al. Worldwide surgical experience with the Paracor HeartNet cardiac restraint device. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 2008;135(1):188-95.
 137. Landa N, Miller L, Feinberg MS, Holbova R, Shachar M, Freeman I, et al. Effect of injectable alginate implant on cardiac remodeling and function after recent and old infarcts in rat. *Circulation*. 2008;117(11):1388-96.

138. Ruvinov E, Leor J, Cohen S. The promotion of myocardial repair by the sequential delivery of IGF-1 and HGF from an injectable alginate biomaterial in a model of acute myocardial infarction. *Biomaterials*. 2011;32(2):565-78.
139. St John Sutton M, Pfeffer MA. Prevention of post-infarction left ventricular remodeling by ACE-inhibitors. *Cardiologia*. 1994;39(12 Suppl 1):27-30.
140. Aikawa Y, Rohde L, Plehn J, Greaves SC, Menapace F, Arnold MO, et al. Regional wall stress predicts ventricular remodeling after antero-septal myocardial infarction in the Healing and Early Afterload Reducing Trial (HEART): an echocardiography-based structural analysis. *American heart journal*. 2001;141(2):234-42.
141. Yang D, Jones KS. Effect of alginate on innate immune activation of macrophages. *Journal of biomedical materials research Part A*. 2009;90(2):411-8.
142. Robitaille R, Dusseault J, Henley N, Desbiens K, Labrecque N, Halle JP. Inflammatory response to peritoneal implantation of alginate-poly-L-lysine microcapsules. *Biomaterials*. 2005;26(19):4119-27.
143. Lee SW, Kim SH, Kim JY, Lee Y. The effect of growth hormone on fibroblast proliferation and keratinocyte migration. *Journal of plastic, reconstructive & aesthetic surgery : JPRAS*. 2010;63(4):e364-9.
144. van den Borne SW, van de Schans VA, Strzelecka AE, Vervoort-Peters HT, Lijnen PM, Cleutjens JP, et al. Mouse strain determines the outcome of wound healing after myocardial infarction. *Cardiovascular research*. 2009;84(2):273-82.
145. Chintalgattu V, Nair DM, Katwa LC. Cardiac myofibroblasts: a novel source of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors Flt-1 and KDR. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2003;35(3):277-86.
146. Daskalopoulos EP, Hermans KC, Blankesteyn WM. Cardiac (myo)fibroblast: Novel strategies for its targeting following myocardial infarction. *Current pharmaceutical design*. 2014;20(12):1987-2002.
147. Laeremans H, Hackeng TM, van Zandvoort MA, Thijssen VL, Janssen BJ, Ottenheijm HC, et al. Blocking of frizzled signaling with a homologous peptide fragment of wnt3a/wnt5a reduces infarct expansion and prevents the development of heart failure after myocardial infarction. *Circulation*. 2011;124(15):1626-35.

