







**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ  
ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ ΚΑΙ  
ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΣΤΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑ  
ΤΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ ΤΩΝ ΑΓΓΕΙΩΝ**

**ΠΑΠΑΘΑΝΑΣΙΟΥ ΔΙΚΑΤΕΡΙΝΗ  
ΙΑΤΡΟΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2014**



*«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων  
δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα».*

N.5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2



**Ημερομηνία αίτησης της κ. Παπαθανασίου Αικατερίνης:** 18-2-2003

**Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:** 497<sup>α</sup>/1-4-2003

**Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:**

Επιβλέπων

Μιχάλης Λάμπρος Αναπληρωτής Καθηγητής Καρδιολογίας

Μέλη

Σιδεράς Δημήτριος Καθηγητής Καρδιολογίας

Τσατσούλης Αγαθοκλής Καθηγητής Παθολογίας-Ενδοκρινολογίας

**Ημερομηνία ορισμού θέματος:** 21-4-2003

*«Θεραπεία του σακχαρώδη διαβήτη και επίδραση στη λειτουργικότητα του ενδοθελίου των αγγείων».*

**ΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ :** 764<sup>α</sup>/17-6-2014

1. Γεωργίου Ιωάννης, Καθηγητής Ιατρικής Γενετικής-Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής της Μαιευτικής-Γυναικολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
2. Μιχάλης Λάμπρος, Καθηγητής Καρδιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
3. Σιδεράς Δημήτριος, Ομότιμος Καθηγητής Καρδιολογίας, του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
4. Τσατσούλης Αγαθοκλής, Καθηγητής Παθολογίας-Ενδοκρινολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
5. Κατσούρας Χρήστος, Επίκουρος Καθηγητής Καρδιολογίας, του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
6. Νάκα Αικατερίνη Επίκουρη Καθηγήτρια Καρδιολογίας, του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
7. Τίγκας Στυλιανός Επίκουρος Καθηγητής Ενδοκρινολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 3-10-2014

**ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**Φωτόπουλος Ανδρέας**

Καθηγητής Πυρηνικής Ιατρικής







*«Ουκ ἔνι ἰατρικὴν εἰδέναι, ὅστις μὴ οἶδεν ὅ τι ἐστὶν ἄνθρωπος».*

*Ἱπποκράτης (460-377 π.Χ).*



*Στην οικογένειά μου*



## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Οι καρδιαγγειακές επιπλοκές αποτελούν το κυριότερο αίτιο νοσηρότητας και θνησιμότητας στους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου II (ΣΔ2). Οι ασθενείς με ΣΔ2 παρουσιάζουν ταχύτερη εξέλιξη της διεργασίας της αθηροσκλήρωσης, που αποτελεί το κύριο παθοφυσιολογικό υπόστρωμα της καρδιαγγειακής νόσου. Η διαταραχή της ενδοθηλιακής λειτουργίας, που αποτελεί την πρωιμότερα ανιχνεύσιμη διαταραχή της αθηροσκλήρωσης, είναι καλά τεκμηριωμένη στους ασθενείς με ΣΔ2. Η αντίσταση στην ινσουλίνη, που αποτελεί βασικό παθογενετικό αίτιο του ΣΔ2, έχει συσχετιστεί με την ενδοθηλιακή λειτουργία στους ασθενείς αυτούς, ενώ η μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη φαίνεται ότι βελτιώνει την ενδοθηλιακή λειτουργία.

Τα τελευταία χρόνια έχει υπάρξει ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον για τις θειαζολιδινεδιόνες ή γλιταζόνες (πιογλιταζόνη και ροζιγλιταζόνη), μία τάξη αντιδιαβητικών παραγόντων που επιτυγχάνουν υπογλυκαιμικό αποτέλεσμα μέσω της μείωσης της περιφερικής κυρίως αντίστασης στην ινσουλίνη (ευαισθητοποιητές της ινσουλίνης). Οι γλιταζόνες έχουν επιπλέον θετικές πλειοτρόπες μη υπογλυκαιμικές δράσεις, που φαίνεται ότι επιδρούν ευνοϊκά στην ενδοθηλιακή λειτουργία και μπορούν να καθυστερήσουν την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης. Ωστόσο, η επίδραση των γλιταζονών στο καρδιαγγειακό σύστημα των ασθενών με ΣΔ2 δεν είναι ακόμη σαφής, καθώς μεγάλες κλινικές μελέτες και μετα-αναλύσεις έδειξαν ότι η πιογλιταζόνη μειώνει τον κίνδυνο των καρδιαγγειακών συμβαμάτων, αλλά σχετίζεται με την εμφάνιση μη θανατηφόρου καρδιακής ανεπάρκειας. Η ροζιγλιταζόνη έχει επίσης συσχετιστεί με ανάπτυξη καρδιακής ανεπάρκειας και εμφράγματος του μυοκαρδίου, ειδικά σε ινσουλινοθεραπευόμενους ασθενείς.

Βασική επιδίωξη της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της επίδρασης των γλιταζονών στην ενδοθηλιακή και καρδιακή λειτουργία ΣΔ2 ασθενών χωρίς γνωστή καρδιαγγειακή νόσο, οι οποίοι βρίσκονταν σε διαφορετικά στάδια της νόσου και υπό διαφορετική αντιδιαβητική αγωγή. Επιπλέον, αναζητήθηκαν οι προσδιοριστικοί παράγοντες της αγγειακής λειτουργίας στον παραπάνω πληθυσμό.

Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια της διδακτορικής μου διατριβής υπό την επίβλεψη του κ. Λάμπρου Μιχάλη, Καθηγητή Καρδιολογίας της Ιατρικής Σχολής Ιωαννίνων, τον οποίο και ευχαριστώ θερμά για τη εμπιστοσύνη που μου έδειξε με την ανάθεση της παρούσας ερευνητικής εργασίας, δίνοντάς μου την ευκαιρία και τη δυνατότητα να εισαχθώ στην ιατρική έρευνα. Η άποψη συνεργασία μας, η πλούσια ερευνητική του εμπειρία και η

συνεχής υποστήριξή του ήταν καθοριστικές για την επιτυχή ολοκλήρωση της παρούσας διατριβής, καθώς προσέφερε πολύτιμη καθοδήγηση και επιτήρηση και εύστοχες επισημάνσεις και οδηγίες καθ' όλη την διάρκεια εκπόνησής της, από τον αρχικό σχεδιασμό έως και τη συγγραφή αυτής.

Εκφράζω επίσης θερμές ευχαριστίες στον Καθηγητή Ενδοκρινολογίας κ. Αγαθοκλή Τσατσούλη, μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, για τη συνεχή, ουσιαστική και καθοριστική παρουσία του στην πορεία της μελέτης. Η ευρεία επιστημονική του γνώση και η μακρόχρονη ερευνητική εμπειρία, η υποστήριξη και καθοδήγησή του, οι πολύτιμες και εύστοχες επισημάνσεις και οδηγίες του και η διευκόλυνση που μου παρείχε ήταν πολύτιμα για την ολοκλήρωση της παρούσας μελέτης.

Παράλληλα, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον κ. Δημήτριο Σιδερά, Ομότιμο Καθηγητή Καρδιολογίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, για τη συμμετοχή του στην παρούσα διδακτορική διατριβή.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στην κα. Αικατερίνη Νάκα, Επίκουρη Καθηγήτρια Καρδιολογίας της Ιατρικής Σχολής Ιωαννίνων, με την οποία συνεργάστηκα στενά καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης. Η συνεχής επίβλεψη και καθοδήγησή της, η ουσιαστική βοήθεια στην ανάλυση και ερμηνεία των αποτελεσμάτων και η άμεση ανταπόκρισή της σε κάθε δυσκολία που παρουσιάστηκε ήταν πολύτιμα για την διεκπεραίωση της παρούσας διατριβής.

Θα ήθελα ακόμη να εκφράσω τη βαθιά ευγνωμοσύνη μου στον κ. Δημήτριο Μακρυγιάννη, Διευθυντή της Παθολογικής Κλινικής του Γενικού Νοσοκομείου Χατζηκώστα Ιωαννίνων, χωρίς τη συμβολή του οποίου δεν θα ήταν δυνατή η συλλογή των περιστατικών της παρούσας μελέτης. Τον ευχαριστώ ιδιαίτερος για την υπομονή και την υποστήριξη που μου παρείχε κατά τη διάρκεια της παραμονής μου στο εξωτερικό Διαβητολογικό Ιατρείο, τη συμπαράσταση και τις σημαντικές συμβουλές του.

Ευχαριστίες οφείλω και στον κ. Χρήστο Κατσούρα, Επίκουρο Καθηγητή Καρδιολογίας της Ιατρικής Σχολής Ιωαννίνων, για τις σημαντικές συμβουλές του και τη συμβολή στην ακριβή στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων.

Οφείλω ευχαριστίες στον κ. Ιωάννη Γεωργίου, Καθηγητή Ιατρικής Γενετικής και Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής της Μαιευτικής-Γυναικολογίας, Ιατρική Σχολή Ιωαννίνων και κ. Στυλιανό Τίγκα, Επίκουρο Καθηγητή Ενδοκρινολογίας της Ιατρικής Σχολής Ιωαννίνων, για τη συμβολή τους στη διδακτορική μου διατριβή.

Θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω τον κ. Κώστα Παππά, Επιμελητή Α της Καρδιολογικής κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων, ο οποίος διεκπεραίωσε μαζί με την

κα. Νάκα τον υπερηχοκαρδιογραφικό έλεγχο, για την αρμονική συνεργασία και τη συνολική συμβολή του στην παρούσα μελέτη.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω την κα. Θεοδώρα Μπάρκα, Νοσηλεύτρια και επιστημονική συνεργάτη του Μιχαηλιδείου Καρδιολογικού Κέντρου, για τη βοήθεια και την άψογη συνεργασία μας.

Ευχαριστίες οφείλω επίσης στον κ. Άρη Μπεχλιούλη, ιατρό καρδιολόγο, για τη βοήθεια και την καθοδήγηση που μου προσέφερε στο κομμάτι της συγγραφής.

Θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω την κ. Χρυσάνθη Κανίογλου, ιατρό Ενδοκρινολόγο, η οποία με βοήθησε στη συλλογή των περιστατικών.

Δεν θα μπορούσα να μην εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όσους συμμετείχαν και βοήθησαν ποικιλοτρόπως στη διεξαγωγή της παρούσας μελέτης: την κ Αναστασία Νάνου και τον κ. Γεώργιο Παπανικολάου, για την βοήθεια τους σχετικά με τις γραφειοκρατικές ανάγκες της παρούσας διατριβής. Τις κες. Όλγα Καραμάνη και Θάλεια Τσώνη, επισκέπτρια υγείας και νοσηλεύτρια, αντίστοιχα, του εξωτερικού Διαβητολογικού ιατρείου του Νοσοκομείου Χατζηκώστα, για τη βοήθειά τους σε πρακτικά θέματα της μελέτης και τη δημιουργία ενός ευχάριστου κλίματος εργασίας. Τους ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη για την άψογη συνεργασία, την υπομονή και την πολύτιμη βοήθειά τους.

Τέλος, ευχαριστώ ιδιαίτερα θερμά τους γονείς και τα αδέρφια μου για την ηθική και υλική υποστήριξη, την υπομονή, βοήθεια, ενθάρρυνση και συμπαράστασή τους κατά τη μακρόχρονη πορεία της μελέτης.

Κατερίνα Παπαθανασίου, Απρίλιος 2014.





# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΠΡΟΛΟΓΟΣ</b>	σελ.13
<b>ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ</b>	σελ.17
<b>ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b>	σελ.21

## ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1**

#### **Το ενδοθήλιο**

1.1 Ανατομία και λειτουργικότητα του ενδοθηλίου	σελ.25
1.2 Ενδοθηλιακή δυσλειτουργία	σελ.32
1.3 Σχέση ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας με καρδιαγγειακή νόσο	σελ.34
1.4 Εκτίμηση της λειτουργικότητας του αγγειακού ενδοθηλίου	σελ.36
1.4.1 In vitro άμεσες μέθοδοι	σελ.36
1.4.2 Βιοχημικές <i>in vivo</i> έμμεσες μέθοδοι.	σελ.37
1.4.3 Επεμβατικές <i>in vivo</i> άμεσες μέθοδοι	σελ.38
1.4.4 Μη επεμβατικές <i>in vivo</i> άμεσες μέθοδοι	σελ.40
1.4.4.1 <i>PET</i>	σελ.40
1.4.4.2 <i>Πληθυσμογραφία φλεβικής απόφραξης</i>	σελ.40
1.4.4.3 <i>Μέτρηση της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής με υπέρηχο, FMD</i>	σελ.41
1.5. Στρατηγικές βελτίωσης της ενδοθηλιακής λειτουργίας	σελ.48
1.5.1 Μη φαρμακευτικές παρεμβάσεις	σελ.49
1.5.2 Φαρμακευτικές παρεμβάσεις	σελ.50

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2**

#### **Παθογένεια του σακχαρώδη διαβήτη τύπου II (ΣΔ2)**

2.1 Εισαγωγή	σελ.57
2.2 Μεταβίβαση του σήματος και δράσεις ινσουλίνης	σελ.58
2.2.1 Βιολογικές δράσεις ινσουλίνης	σελ.58
2.2.2 Μεταβίβαση του σήματος της ινσουλίνης	σελ.59
2.2.3 Οδοί δράσης της ινσουλίνης	σελ.60
2.3. Δράση ινσουλίνης στο αγγειακό τοίχωμα	σελ.62
2.3.1 Προστατευτική δράση	σελ.62
2.3.2 Βλαπτική δράση	σελ.63
2.4 Αιμοδυναμικές δράσεις της ινσουλίνης	σελ.64
2.4.1 Σύζευξη μεταβολικής και αγγειακής δράσης ινσουλίνης	σελ.64
2.5 Αντίσταση στην ινσουλίνη	σελ.65
2.5.1 Ορισμός	σελ.65
2.5.2 Μοριακά αίτια αντίστασης στην ινσουλίνη	σελ.66
2.5.3 Σχέση αντίστασης στην ινσουλίνη με ενδοθηλιακή δυσλειτουργία	σελ.67
2.6 Μεταβολικό σύνδρομο	σελ.68
2.6.1 Ορισμός	σελ.68
2.6.2 Διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου	σελ.69

2.6.3 Παθογένεια του Μεταβολικού Συνδρόμου	σελ.72
2.6.4 Λιποτοξικότητα - αντίσταση στην ινσουλίνη	σελ.73
2.7 Σχέση ΣΔ2-ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας	σελ.78
2.7.1 Αίτια ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας στο ΣΔ2	σελ.78
2.7.2 Σύζευξη αντίστασης στην ινσουλίνη-ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας	σελ.79
2.8 Επίδραση του ΣΔ2 στην καρδιακή δομή και λειτουργία	σελ.80

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3**

### **Θεραπεία Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου II**

3.1 Εισαγωγή	σελ.81
3.2 Θεραπεία ΣΔ2 ασθενών	σελ.83
3.2.1 Υπεργλυκαιμία	σελ.83
3.3 Θεραπευτικά πρωτόκολλα	σελ.88
3.4 Υπογλυκαιμικά φάρμακα	σελ.91
3.4.1 Μετφορμίνη	σελ.91
3.4.2 Σουλφονουλουρίες	σελ.93
3.4.3 Μεγλιτινίδες	σελ.94
3.4.4 Αναστολείς της α-γλυκοσιδάσης	σελ.94
3.4.5 Θειοζολιδινεδιόνες (TZDs)	σελ.95
3.4.6 Ανάλογα ινκρετινών και DPP-4 αναστολείς	σελ.100
3.4.7 Ινσουλίνη	σελ.101
3.4.8 Νέοι παράγοντες υπό δοκιμή	σελ.102

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4**

### **Δράσεις αντιδιαβητικών φαρμάκων σε ενδοθήλιο και καρδιαγγειακό σύστημα**

4.1 Εισαγωγή	σελ.103
4.2 Μετφορμίνη και καρδιαγγειακό σύστημα	σελ.103
4.2.1 Δείκτες αθηροσκλήρωσης	σελ.104
4.2.2 Καρδιαγγειακή πρόγνωση	σελ.104
4.3 Σουλφονουλουρίες και καρδιαγγειακό σύστημα	σελ.105
4.4 Μεγλιτινίδες και καρδιαγγειακό σύστημα	σελ.106
4.5 Αναστολείς της α-γλυκοσιδάσης και καρδιαγγειακό	σελ.106
4.6 Θειοζολιδινεδιόνες (TZDs) και καρδιαγγειακό σύστημα	σελ.107
4.6.1 In vitro μελέτες	σελ.107
4.6.2 Μελέτες σε πειραματόζωα	σελ.108
4.6.3 Κλινικές μελέτες	σελ.108
4.6.4 Δράση γλιταζονών στην καρδιά	σελ.111
4.6.5 Καρδιαγγειακή έκβαση, νοσηρότητα και θνησιμότητα	σελ.113
4.7 Ανάλογα ινκρετινών και DPP-4 αναστολείς και καρδιαγγειακό	σελ.115
4.8 Ινσουλίνη και καρδιαγγειακό	σελ.116

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5<sup>ο</sup>**

### **Σκοπός της μελέτης**

5.1 Σκοπός της μελέτης	σελ.117
5.2 Περιγραφή μελετών	σελ.118

## **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6<sup>ο</sup>**

#### **Υλικό και μέθοδοι**

6.1 Πληθυσμός μελέτης	σελ.123
6.2 Σχεδιασμός μελέτης	σελ.124
6.3 Ακριβές πρωτόκολλο μελέτης	σελ.127
6.4 Διαδικασίες	σελ.128
6.5 Εργαστηριακές εξετάσεις	σελ.129
6.6 Αγγειακές μετρήσεις και υπερηχοκαρδιογραφικός έλεγχος	σελ.130
6.6.1 Υπερηχογραφική μελέτη αγγείων	σελ.130
6.6.2 Εκτίμηση της αρτηριακής σκληρότητας	σελ.133
6.6.3 Υπερηχοκαρδιογραφική μελέτη	σελ.134
6.6.4 Μελέτη επαναληψιμότητας για την υπερηχογραφική μελέτη των αγγείων και την ηχοκαρδιογραφική μελέτη	σελ.136
6.7 Στατιστική ανάλυση	σελ.136

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7<sup>ο</sup>**

#### **Επίδραση γλιταζονών στην ενδοθηλιακή λειτουργία.**

##### **Ανάλυση αποτελεσμάτων.**

7.1 <u>Μελέτη Α:</u> Πιογλιταζόνη έναντι γλιμεπιρίδης: διαφορικές επιδράσεις στην αγγειακή ενδοθηλιακή λειτουργία ασθενών με ΣΔ2.	σελ.139
7.1.1 Μέθοδος	σελ.139
7.1.2 Αποτελέσματα	σελ.141
7.1.3 Συζήτηση	σελ.146
7.2 <u>Μελέτη Β:</u> Επίδραση της πιογλιταζόνης και της μετφορμίνης στην αγγειακή ενδοθηλιακή λειτουργία ασθενών με ΣΔ2 που λαμβάνουν σουλφονυλουρία.	σελ.151
7.2.1 Υλικό και μέθοδος	σελ.151
7.2.2 Αποτελέσματα	σελ.154
7.2.3 Συζήτηση	σελ.158
7.3 <u>Μελέτη Γ:</u> Η πιογλιταζόνη βελτιώνει την ενδοθηλιακή λειτουργία ασθενών με ΣΔ2 που είναι σε διπλοθεραπεία με σουλφονυλουρία και μετφορμίνη.	σελ.162
7.3.1 Υλικό και μέθοδος	σελ.162
7.3.2 Αποτελέσματα	σελ.164
7.3.3 Συζήτηση	σελ.167
7.4 <u>Μελέτη Δ:</u> Η ροζιγλιταζόνη βελτιώνει την ενδοθηλιακή λειτουργία ασθενών με ΣΔ2 που είναι σε ινσουλινοθεραπεία.	σελ.170
7.4.1 Υλικό και μέθοδος	σελ.170
7.4.2 Αποτελέσματα	σελ.172
7.4.3 Συζήτηση	σελ.175

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8<sup>ο</sup>**

#### **Προσδιοριστικοί παράγοντες της αγγειακής λειτουργίας σε ασθενείς με ΣΔ2.**

8.1 Υλικό και μέθοδος	σελ.180
8.2 Αποτελέσματα	σελ.182
8.3 Συζήτηση	σελ.185

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9<sup>ο</sup>**

**Ουδέτερο αποτέλεσμα της πιογλιταζόνης στην καρδιακή λειτουργία ασθενών με ΣΔ2 και ενδείξεις διαστολικής δυσλειτουργίας της αριστερής κοιλίας. Μια μελέτη απεικόνισης με τη βοήθεια ιστικού Doppler.**

9.1 Υλικό και μέθοδος	σελ.190
9.2 Αποτελέσματα	σελ.194
9.3 Συζήτηση	σελ.199

**ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10<sup>ο</sup>**

**Συνολικά συμπεράσματα** σελ.203

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ** σελ.207

**SUMMARY** σελ.213

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ** σελ.219

**ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ – Δημοσιεύσεις σε περιοδικά και ανακοινώσεις σε συνέδρια** σελ.271

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου II (ΣΔ2) είναι μία χρόνια μεταβολική διαταραχή, που χαρακτηρίζεται από την ύπαρξη υπεργλυκαιμίας, η οποία προκαλείται από δύο βασικές μεταβολικές διαταραχές, την αντίσταση στην ινσουλίνη και την ανεπαρκή έκκριση ινσουλίνης από το πάγκρεας (DeFronzo 1997). Αποτελεί την πιο κοινή ενδοκρινική διαταραχή, που προσβάλλει περίπου το 7% του πληθυσμού των ανεπτυγμένων χωρών, ενώ παγκοσμίως το ποσοστό ανέρχεται στο 5-7% του πληθυσμού (Bastaki 2005). Ενώ παλαιότερα θεωρούνταν ασθένεια που αφορούσε κυρίως άτομα ηλικίας άνω των 40 ετών, τα τελευταία 30 χρόνια η επίπτωσή της αγγίζει πλέον επιδημικές διαστάσεις, επηρεάζοντας ανθρώπους όλων των ηλικιών, ακόμη και παιδιά. Υπολογίζεται ότι μέχρι το έτος 2025 περίπου 300 εκατομμύρια άνθρωποι θα πάσχουν από τη νόσο (King *et al.*, 1998). Ως αίτια της ραγδαία αύξησης της επίπτωσής της θεωρούνται η επικράτηση του «δυτικού τρόπου ζωής», που χαρακτηρίζεται από παχυσαρκία και έλλειψη φυσικής άσκησης (Mazzola 2012). Με το πέρασμα των χρόνων, ο ΣΔ2 προκαλεί βλάβη στους ιστούς και τα αγγεία, οδηγώντας στην ανάπτυξη σοβαρών μικροαγγειακών και μακροαγγειακών επιπλοκών, όπως η αμφιβληστροειδοπάθεια, η νευροπάθεια, η νεφροπάθεια, οι καρδιαγγειακές επιπλοκές και τα έλκη. Πρόκειται, δηλαδή, για μία πάθηση που καλύπτει μεγάλο εύρος ετερογενών διαταραχών (Bastaki 2005). Στις επιπλοκές αυτές αποδίδεται η σημαντική νοσηρότητα και θνησιμότητα (Mazzola 2012, Utsunomiya 2012), καθώς και το υψηλό κόστος που χαρακτηρίζει την αντιμετώπιση της νόσου (περίπου το 15% των δαπανών υγείας στις Η.Π.Α για το έτος 2007), (Stolar *et al.*, 2008). Συγκεκριμένα, οι μικροαγγειακές επιπλοκές (αμφιβληστροειδοπάθεια, νεφροπάθεια, νευροπάθεια) αποτελούν βασικό αίτιο νοσηρότητας, ενώ η υψηλή θνησιμότητα της νόσου οφείλεται κυρίως στις μακροαγγειακές επιπλοκές (εμφράγματα, αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια, περιφερική αρτηριακή νόσος), που ευθύνονται για το 80% των θανάτων αλλά και για το υψηλό κόστος της θεραπείας των ΣΔ2 ασθενών (Morrish *et al.*, 2001).

Οι μικροαγγειακές επιπλοκές αρχίζουν με την έναρξη της υπεργλυκαιμίας (Haffner *et al.*, 1990) και μπορούν να μειωθούν με αυστηρή ρύθμιση του σακχάρου (UKPDS 33, 1998). Πράγματι, για κάθε 1% μείωση της HbA1c η επίπτωση των μικροαγγειακών επιπλοκών μειώνεται κατά περίπου 25% με 35% (DeFronzo 2009). Ωστόσο, οι μακροαγγειακές επιπλοκές (περιφερική αρτηριακή, εγκεφαλική αγγειακή και στεφανιαία νόσος) προηγούνται της εμφάνισης της υπεργλυκαιμίας και στην πραγματικότητα αρχίζουν κατά την

προδιαβητική φάση (Weissman 2002). Πράγματι, περίπου το 10-20% των ΣΔ2 ασθενών παρουσιάζονται με κλινικά εμφανή καρδιαγγειακή νόσο τη στιγμή της διάγνωσης του διαβήτη (Colwell 1997). Τα καρδιαγγειακά συμβάματα αποτελούν την κύρια αιτία θνησιμότητας των ασθενών με ΣΔ2, με τα εμφράγματα και τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια να ευθύνονται για το 80% των θανάτων (Morrish *et al.*, 2001). Υπάρχει αυξημένη συχνότητα και γρηγορότερη εξέλιξη της στεφανιαίας νόσου (ΣΝ) στους διαβητικούς ασθενείς και η θνησιμότητα από οξεία θρομβοεμβολικά συμβάματα, όπως έμφραγμα του μυοκαρδίου (ΕΜ), είναι υψηλότερη από ότι στους μη διαβητικούς ασθενείς. Ειδικότερα, ο 7ετής κίνδυνος οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου σε διαβητικούς τύπου 2 ασθενείς χωρίς ιστορικό καρδιαγγειακής νόσου είναι ίσος ή και μεγαλύτερος από εκείνον μη διαβητικών ασθενών με προηγούμενο έμφραγμα του μυοκαρδίου. Επιπλέον, η 7ετής επίπτωση νέου εμφράγματος του μυοκαρδίου σε διαβητικούς ασθενείς που έχουν ήδη μία προσβολή είναι κατά 45% περίπου μεγαλύτερη από αυτή των μη διαβητικών ασθενών (Haffner *et al.*, 1998). Ομοίως, το ποσοστό υποτροπής κύριων αθηρωσκληρωτικών επιπλοκών σε τύπου 2 διαβητικούς ασθενείς που έχουν ήδη ένα επεισόδιο είναι πολύ υψηλό, περίπου 6% το χρόνο (Giorda *et al.*, 2008). Όλα αυτά τα αποτελέσματα ταυτοποιούν ότι ο ΣΔ2 μπορεί να θεωρηθεί ως καρδιαγγειακό ισοδύναμο (DeFronzo 2009). Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, που αποτελεί την πρωιμότερη ανιχνεύσιμη διαταραχή της καρδιαγγειακής υγείας, προηγείται της κλινικά εμφανούς αγγειακής νόσου κατά έτη (Faulx *et al.*, 2003) και έχει συσχετιστεί με την αντίσταση στην ινσουλίνη, που χαρακτηρίζει το ΣΔ2 (Hsueh *et al.*, 1999, Calles-Escandon, Cipolla 2001). Έχει προταθεί ότι η μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη θα μπορούσε να βελτιώσει την ενδοθηλιακή λειτουργία και πιθανώς και την καρδιαγγειακή πρόγνωση των ασθενών με ΣΔ2 (Dandona *et al.*, 2008).

Επομένως, ο σκοπός της θεραπείας των ασθενών με ΣΔ2 δεν είναι μόνο ο γλυκαιμικός έλεγχος, αλλά και η ρύθμιση των υπόλοιπων παραγόντων κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο, προκειμένου να προληφθούν οι οξείες επιπλοκές και να μειωθεί ο κίνδυνος εμφάνισης των μακροπρόθεσμων επιπλοκών (ADA 2013). Προς την κατεύθυνση αυτή συμβάλουν συγκεκριμένες κατηγορίες αντιδιαβητικών παραγόντων, όπως οι θειαζολιδινεδιόνες και η μετφορμίνη, που έχουν πλειοτρόπες καρδιοπροστατευτικές δράσεις, οι οποίες θα περιγραφούν στη συνέχεια.

**ΓΕΝΙΚΟ  
ΜΕΡΟΣ**





# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1<sup>ο</sup>

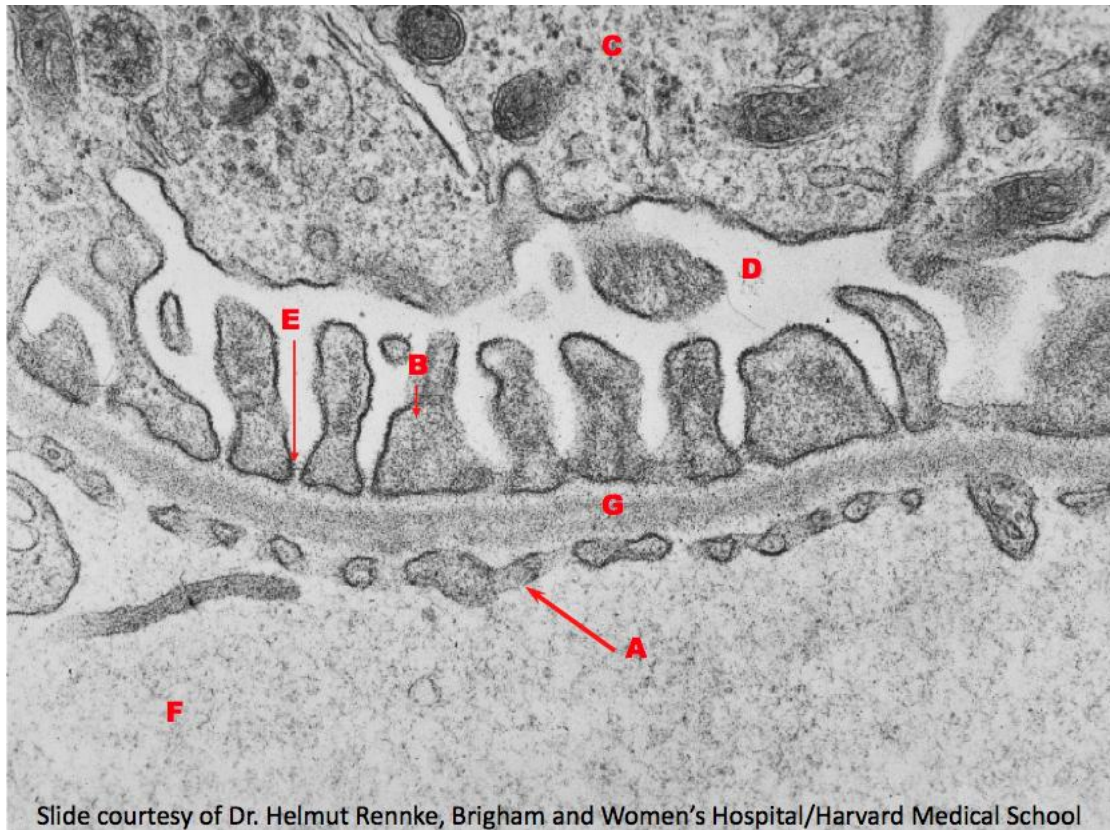
## ΤΟ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟ

### 1.1 ANATOMIA KAI LEITΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ

Η υγεία του αγγειακού συστήματος εξαρτάται από τη φυσιολογική ενδοθηλιακή λειτουργία (Guerci *et al.*, 2001). Το ενδοθήλιο είναι μία μονήρης στιβάδα πλακωδών επιθηλιακών κυττάρων υψηλής εξειδίκευσης, που επενδύει την εσωτερική επιφάνεια των αγγείων (Faulx *et al.*, 2003), (Εικόνα 1.1). Για πολλά χρόνια θεωρούνταν ότι είναι ένα ημιδιαπερατό όριο μεταξύ του αίματος και του αγγειακού τοιχώματος, που επέτρεπε τη διάχυση ύδατος και άλλων μικρών μορίων διαμέσου του αγγειακού τοιχώματος (Guerci *et al.*, 2001). Όμως, οι δύο τελευταίες δεκαετίες έρευνας απέδειξαν ότι το ενδοθήλιο είναι ένα δυναμικό αυτοκρινικό, παρακρινικό και ενδοκρινικό όργανο (Faulx *et al.*, 2003), το οποίο συμμετέχει στη αγγειακή ομοιοστασία με ποικίλους μηχανισμούς:

- 1) ρυθμίζει τον αγγειακό τόνο και την αιμάτωση των οργάνων
- 2) συμμετέχει στην αύξηση και τις φαινοτυπικές αλλαγές των αγγειακών λείων μυϊκών ινών
- 3) διατηρεί την ρευστότητα του αίματος και αποτρέπει την αιμορραγία
- 4) έχει ενεργό ρόλο στη διεργασία της φλεγμονής (Cooke 2000).

Πιο ειδικά, το ενδοθήλιο δρα τόσο σαν όριο όσο και σαν μέσο των αλληλεπιδράσεων μεταξύ του αγγειακού τοιχώματος και των κυκλοφορούντων ουσιών και κυττάρων του αίματος. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα διαθέτουν σύνθετους μεμβρανικούς υποδοχείς, μέσω των οποίων δέχονται και αντιδρούν σε ένα πλήθος μηχανικών και χημικών ερεθισμάτων, συνθέτοντας και απελευθερώνοντας ποικίλους αγγειοδραστικούς, θρομβορυθμιστικούς και αυξητικούς παράγοντες (Correti *et al.*, 2002).



Slide courtesy of Dr. Helmut Rennke, Brigham and Women's Hospital/Harvard Medical School

**Εικόνα 1.1** Ανατομία ενδοθηλίου.

Η ακεραιότητα του ενδοθηλίου είναι απαραίτητη για την πραγματοποίηση των λειτουργιών του (Faulx *et al.*, 2003), οι οποίες αναλυτικά είναι:

**1). Διατήρηση της ισορροπίας μεταξύ αγγειοδιαστολής και αγγειοσύσπασης.**

Το ενδοθήλιο είναι υπεύθυνο για τη βραχυπρόθεσμη ρύθμιση του αγγειακού τόνου, ανάλογα με τις μεταβολικές απαιτήσεις και τις ανάγκες οξυγόνωσης των ιστών (Guerci *et al.*, 2001). Τα ενδοθηλιακά κύτταρα είναι ικανά να αντιλαμβάνονται τις μεταβολές της τοπικής πίεσης άρδευσης, της τάσης του οξυγόνου και της αιματικής ροής και να απαντούν σε αυτές με την παραγωγή αγγειοδιασταλτικών και αγγειοσυσπαστικών ουσιών, οι αλληλεπιδράσεις των οποίων καθορίζουν την τελική κατάσταση σύσπασης ή διαστολής κάθε αγγείου (Correti *et al.*, 2002).

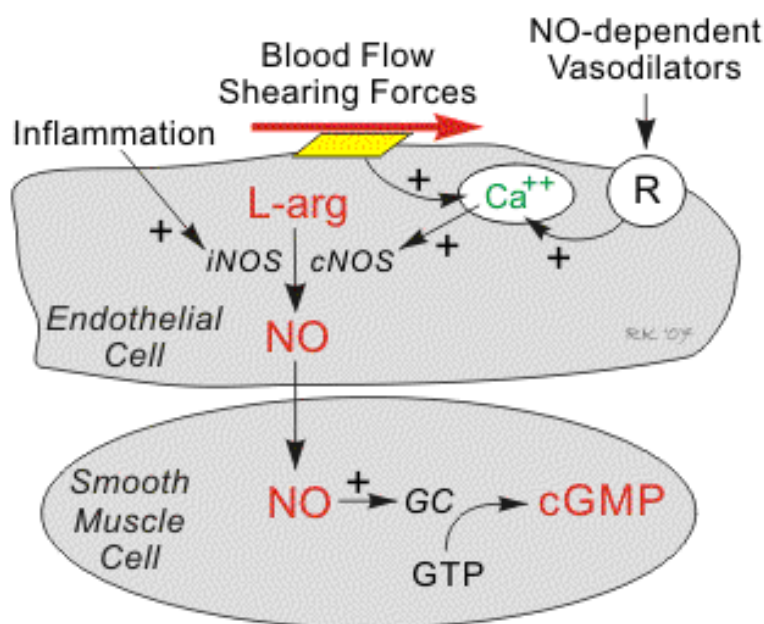
Σε υγιή άτομα, το κύριο αποτέλεσμα της διέγερσης του ενδοθηλίου είναι η αγγειοδιαστολή (Rees *et al.*, 1989). Η πιο σημαντική αγγειοδιασταλτική ουσία είναι το μονοξείδιο του αζώτου (NO), (Guerci *et al.*, 2001). Η ύπαρξή του αρχικά προτάθηκε από τους Furchgott και Zawadzki το 1980, οι οποίοι παρατήρησαν ότι η ποικιλία των *in vitro* απαντήσεων εξαρτιόταν από την ακούσια τριβή της έσω επιφάνειας του αγγειακού

τοιχώματος κατά τη διάρκεια της παρασκευής του. Οι δύο ερευνητές συμπέραναν ότι το αγγείο διαστελλόταν σε αντίδραση στην Ach μόνο επί παρουσίας άθικτου ενδοθηλίου, το οποίο παρήγαγε μια αγγειοδιασταλτική ουσία που ονομάστηκε χαλαρωτικός παράγοντας του ενδοθηλίου (endothelium-derived relaxing factor, EDRF). Κατά τη διάρκεια των επόμενων ετών, σειρά πειραμάτων τεκμηρίωσαν την ταύτιση του EDRF με το NO (Ignarro *et al.*, 1987 & 1988, Furchgott, Zawadzki 1988). Η ταύτιση του EDRF με το NO, σε συνδυασμό με την αναγνώριση της σημασίας του NO για την ομοιοστασία του καρδιαγγειακού συστήματος, χάρισαν στους Rombert Furchgott, Luis Ignarro και Ferid Murad το βραβείο Νόμπελ Φυσιολογίας/Ιατρικής το 1998.

Το NO παράγεται από τη δράση του ενζύμου συνθάση του NO (nitric oxide synthase, NOS) στο αμινοξύ L-αργινίνη, το οποίο μετατρέπεται σε NO και L-κιτροουλίνη (Εικόνα 1.2). Η αντίδραση είναι στερεοειδική και απαιτεί O<sub>2</sub> και NADP (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) ως συνένζυμα (Palmer *et al.*, 1998). Υπάρχουν τρεις ισομορφές NOS, οι δύο εκ των οποίων είναι βασικής και χαμηλής παραγωγής, η νευρωνική (neuronal NOS, nNOS ή NOS-I) και η ενδοθηλιακή μορφή (endothelial NOS, eNOS ή NOS-III) και οι οποίες εξαρτώνται από το ασβέστιο. Ενεργοποιούνται από μια ποικιλία ερεθισμάτων, όπως η υποξία, η ακετυλχολίνη (Ach), η βραδυκινίνη, η σεροτονίνη, η θρομβίνη και η αυξημένη τάση τριβής, που οφείλεται σε αυξημένη αιματική ροή (Mombouli, Vanhoutte 1999). Η άλλη μορφή (NOS-II, inducible NOS) εκφράζεται ιδιαίτερα στα μακροφάγα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα, ενεργοποιείται από τη δράση προφλεγμονωδών κυττοκινών, όπως ο TNF-α και παράγει μεγαλύτερες ποσότητες NO και για μακρότερο χρονικό διάστημα (Loscalzo, Weich 1995, Jones *et al.*, 1996). Η παραγωγή του NO από την L-αργινίνη μπορεί να παρεμποδιστεί από ανάλογα αργινίνης, όπως το L-NMMA (N<sup>G</sup>-monomethyl-L-arginine), (Celermajer 1997).

Το NO διατηρεί χαμηλό αρτηριακό τόνο στην ηρεμία, τόσο στη συστηματική όσο και στην πνευμονική κυκλοφορία (Celermajer *et al.*, 1994, Stamler *et al.*, 1994). Έχει μικρό μοριακό βάρος (MB), διαχέεται γρήγορα και έχει πολύ μικρό χρόνο ημιζωής (μερικά δευτερόλεπτα). Λόγω του χαμηλού MB και των λιπόφιλων ιδιοτήτων του διαχέεται εύκολα μέσω των κυτταρικών μεμβρανών και φτάνει στα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα, όπου αλληλεπιδρά με το άτομο σιδήρου της αίμης της γουανιλικής κυκλάσης, προκαλώντας την ενεργοποίησή της και αυξάνοντας τα επίπεδα του ενδοκυττάριου κυκλικού GMP. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του ενδοκυττάριου ασβεστίου και επομένως αγγειοδιαστολή (Collins *et al.*, 1986). Η ίδια οδός ακολουθείται και στο μηχανισμό δράσης της εξωγενούς χορήγησης νιτρωδών, τα οποία αποδίδουν άμεσα NO στην κυκλοφορία, αποδεσμεύοντας κυκλικό GMP στα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα και προκαλώντας αγγειοδιαστολή που δεν

εξαρτάται από ενδοθηλιακή αντίδραση και η οποία ονομάζεται ενδοθηλιο-ανεξάρτητη αγγειοδιαστολή (Ludmer *et al.*, 1986). Το πιο σημαντικό ερέθισμα για την παραγωγή NO από το ενδοθήλιο προέρχεται από την αυξημένη τάση τριβής, που προκαλείται από την αύξηση της ταχύτητας της αιματικής ροής και οδηγεί σε αγγειοδιαστολή ανάλογη της ποσότητας του NO που απελευθερώνεται από το ενδοθήλιο. Αυτός ο τύπος αγγειοδιαστολής ονομάζεται ενδοθηλιο-ξαρτώμενη ή επαγόμενη από την αιματική ροή αγγειοδιαστολή (flow-mediated dilation, FMD) (Cooke, Tsao 2001).



**Εικόνα 1. 2.** Βιοσύνθεση NO. Klabunde R.E, *Cardiovascular Physiology Concepts*

Το NO έχει και άλλες προστατευτικές δράσεις στο αγγειακό τοίχωμα:

- α) Εμποδίζει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων (επαναστένωση) (Garg, Hassid 1989).
- β) Περιορίζει τη σύνδεση φλεγμονωδών κυττάρων στο αγγειακό τοίχωμα, εμποδίζοντας την έκφραση προσκολλητικών μορίων και την παραγωγή κυττοκινών από τα φλεγμονώδη κύτταρα (φλεγμονή) (Gimbrone *et al.*, 1997).
- γ) Εμποδίζει τη θρόμβωση μειώνοντας την προσκόλληση και συνάθροιση των αιμοπεταλίων στο αγγειακό τοίχωμα (θρόμβωση).
- δ) Εμποδίζει την παραγωγή αγγειοσυσπαστικών ουσιών από το ενδοθήλιο (Mombuli, Vanhoutte 1999).

Άλλες αγγειοδιασταλτικές ουσίες που παράγει το ενδοθήλιο είναι η Προστακυλίνη (προσταγλανδίνη I<sub>2</sub>, PGI<sub>2</sub>) και ο «Ενδοθηλιακός υπερπολωτικός παράγοντας» (EDHF), (Guerci *et al.*, 2001).

Οι αγγειοσυσπαστικές ουσίες που παράγονται από το ενδοθήλιο είναι η Ενδοθηλίνη-1 (ET-1), η Θρομβοξάνη A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) και η προσταγλανδίνη H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>). Η πιο ισχυρή από αυτές είναι η ET-1 (Guerci *et al.*, 2001, Yanagisawa *et al.*, 1988). Υπάρχουν τρεις ισομορφές ενδοθηλίνης, από τις οποίες μόνο η ισομορφή 1 (ET-1) απελευθερώνεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα του ανθρώπου (Masaki 1989 & 2000). Έχει μακρά δράση, μεγάλη ισχύ, δρα κυρίως τοπικά και οι συγκεντρώσεις της στο πλάσμα και σε άλλους ιστούς είναι σχετικά χαμηλές (Guerci *et al.*, 2001). Το αγγειακό τοίχωμα διαθέτει δύο ειδών υποδοχείς ET-1, τον υποδοχέα A (ET<sub>A</sub>), που βρίσκεται στα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα και τον υποδοχέα B (ET<sub>B</sub>), που υπάρχει στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η δράση της ET-1 στον ET<sub>A</sub> προκαλεί αγγειοσύσπαση, ενώ στον ET<sub>B</sub> παρεμποδίζει την απελευθέρωση αγγειοδιασταλτικών ουσιών (NO, PGI<sub>2</sub>) (Guerci *et al.*, 2001). Η ET-1 απελευθερώνεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα ιδιοσυστασιακά, συμβάλλοντας στη διατήρηση του ενδογενούς αγγειακού τόνου (Russel *et al.*, 1998), αλλά και μετά από επίδραση φυσιολογικών ή παθολογικών ερεθισμάτων, προκαλώντας περαιτέρω αγγειοσύσπαση (Russel *et al.*, 1998). Τέτοια ερεθίσματα είναι η Αγγειοτενσίνη II, η αντιδιουρητική ορμόνη, η θρομβίνη, οι κυτοκίνες, τα δραστικά παράγωγα του οξυγόνου και η διατημηματική τάση που ασκείται στο ενδοθήλιο (Boulangier, Lüscher 1990). Αντίθετα, την απελευθέρωση της ET-1 αναστέλλουν το NO, η PGI<sub>2</sub> και το κολπικό νατριουρητικό πεπτίδιο (ANP) (Boulangier, Lüscher 1990). Εκτός από εξαιρετικά ισχυρή αγγειοσυσπαστική ουσία, η ET-1 έχει επίσης αντιμιτωτική δράση στα αγγειακά λεία μυϊκά και τα ενδοθηλιακά κύτταρα, διεγείρει την έκκριση αλδοστερόνης από το φλοιό των επινεφριδίων, ασκεί θετική ινότροπη και χρονότροπη δράση στην καρδιά, ελαττώνει τη νεφρική αιματική ροή και το ρυθμό σπειραματικής διήθησης και απελευθερώνει ANP από την καρδιά (Warrens *et al.*, 1990, Cody 1992).

Εκτός από την απελευθέρωση αγγειοσυσπαστικών και αγγειοδιασταλτικών ουσιών, το ενδοθήλιο επιδρά στη ρύθμιση του αγγειακού τόνου και μέσω της παραγωγής του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης (MEA), κυρίως από το αγγειακό δίκτυο των πνευμόνων (Fridovich 1997).

Η ρύθμιση του αγγειακού τόνου και της αγγειακής διαμέτρου επιτυγχάνεται από την ισορροπία μεταξύ αγγειοδιαστολής και αγγειοσύσπασης και βρίσκεται κάτω από τον έλεγχο των προαναφερθέντων βιοχημικών και μηχανικών παραγόντων (Guerci *et al.*, 2001).

**2) Ρύθμιση της αγγειακής διαπερατότητας** σε θρεπτικά συστατικά, ορμόνες και άλλα μακρομόρια και λευκοκύτταρα. Η διαδικασία της προσκόλλησης είναι απαραίτητη για μια ποικιλία κυτταρικών λειτουργιών, όπως η διαφοροποίηση, η αύξηση, η μετανάστευση και η αντίδραση των κυττάρων στο εξωτερικό τους περιβάλλον. Η λειτουργία αυτή πραγματοποιείται με την παραγωγή μορίων προσκόλλησης από το ενδοθήλιο, τα οποία είναι:

α) Το Μόριο Διακυτταρικής Προσκόλλησης (Intercellular Adhesion Molecule-1, ICAM-1),

β) Το Αγγειακό Μόριο Κυτταρικής Προσκόλλησης (Vascular Cell Adhesion Molecule-1, VCAM-1),

γ) Το Μόριο Προσκόλλησης Αιμοπεταλίων-Ενδοθηλιακών Κυττάρων-1 (Platelet-Endothelial Cell Adhesion Molecule-1, PECAM-1),

που συντελούν στην προσκόλληση των κυκλοφορόντων κυττάρων του αίματος στο αγγειακό τοίχωμα και

δ) Οι Σελεκτίνες (e-selectin), οι οποίες παράγονται μετά από ερεθισμό των ενδοθηλιακών κυττάρων και αλληλεπιδρούν με λευκοκύτταρα (Guerci *et al.*, 2001).

Τα μόρια προσκόλλησης παίζουν σημαντικό ρόλο στην κυτταρική ενεργοποίηση και την αλληλεπίδραση μεταξύ των κυττάρων. Στα αγγεία τα μόρια αυτά προάγουν τη συνάθροιση των λευκοκυττάρων στους υποκείμενους ιστούς μέσω μιας αλληλουχίας γεγονότων, που περιλαμβάνει: κύλισμα (rolling) των λευκοκυττάρων στην ενδοθηλιακή επιφάνεια, προσκόλληση και ενεργοποίηση των λευκοκυττάρων και τελικά εξαγγείωσή τους προς τους ιστούς. Ερεθίσματα που διεγείρουν την παραγωγή μορίων προσκόλλησης από τα ενδοθηλιακά κύτταρα αποτελούν ο Παράγοντας Νέκρωσης Όγκων-α (Tumor Necrosis Factor-α, TNF-α) και άλλες κυτοκίνες, όπως η Ιντερλευκίνη-1 (IL-1) και η Ιντερφερόνη-γ (INFγ) (Guerci *et al.*, 2001). Αυξημένες συγκεντρώσεις των μορίων προσκόλλησης στην κυκλοφορία σχετίζονται με φλεγμονή, κακοήθεια και αυτοάνοσες παθήσεις (Springer 1994). Διάφοροι κυτταρικοί τύποι στις ανθρώπινες αθηρωματικές βλάβες έχει δείχτει ότι υπερεκφράζουν ICAM-1, VCAM-1 ή e-selectin. Από τα μόρια προσκόλλησης που εκφράζονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα μόνο η e-selectin είναι ειδική για το ενεργοποιημένο ενδοθήλιο, ενώ τα ICAM-1 και VCAM-1 έχουν ευρύτερη κατανομή στους ιστούς (Kansas 1996).

### **3) Ρύθμιση της θρόμβωσης και της αιμόστασης και διατήρηση της ρευστότητας του αίματος.**

Το φυσιολογικό αγγειακό ενδοθήλιο διατηρεί τη ρευστότητα του αίματος αναστέλλοντας την πήξη του αίματος και τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων και προάγοντας την ινωδόλυση. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα παράγουν διάφορες ουσίες, η ισορροπία μεταξύ των οποίων αναστέλλει την αιμόσταση και συμβάλλει στη διατήρηση της βατότητας των αγγείων (Stassen *et al.*, 2004).

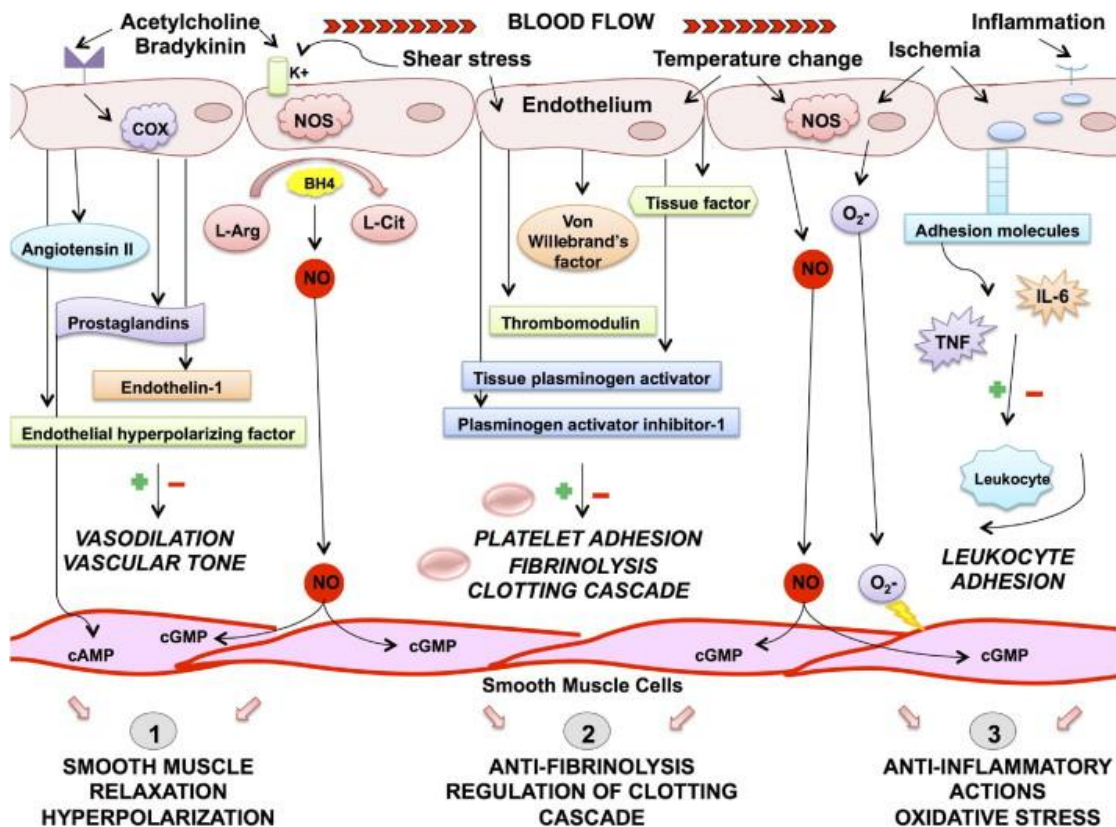
Τα ενδοθηλιακά κύτταρα έχουν κύριο ρόλο στην αποκατάσταση της ακεραιότητας του αγγειακού τοιχώματος μετά από τραυματισμό, αποφεύγοντας την αιμορραγία (Stassen 2004). Γενικά, τα βιολογικά συστήματα που συμμετέχουν στη διαδικασία της αιμόστασης είναι: το αγγειακό ενδοθήλιο, τα αιμοπετάλια και ο καταρράκτης της πήξης. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα παράγουν τον παράγοντα von Willebrand (vWF) καθώς και τον παράγοντα ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων (Platelet Activating Factor, PAF), (Guerci *et al.*, 2001, Stassen *et al.*, 2004). Ο vWF διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην προαγωγή της αιμόστασης. Χρησιμεύει ως συνδέτης για την προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο απογυμνωμένο αγγειακό τοίχωμα και ως μόριο-γέφυρα στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Επιπλέον, διαθέτει θέσεις σύνδεσης για τον παράγοντα VIII της πήξης, του οποίου σταθεροποιεί τη δραστηριότητα. Η παρουσία του vWF επομένως αποτελεί αναγκαία συνθήκη για την προσκόλληση των αιμοπεταλίων (Handin, Wagner 1989, Ruggeri 1994). Άλλα ερεθίσματα που προκαλούν την απελευθέρωση vWF και PAF από τα ενδοθηλιακά κύτταρα είναι, εκτός από τον αγγειακό τραυματισμό: η IL-1, ο TNF-α, λιποπολυσακχαρίτες, οξειδωμένα μόρια LDL και η φλεγμονή (Guerci *et al.*, 2001).

Εκτός από τη ρύθμιση της δημιουργίας του θρόμβου, το ενδοθήλιο διαδραματίζει επίσης κρίσιμο ρόλο στη ρύθμιση της ενδογενούς ινωδόλυσης και τη διατήρηση της ρευστότητας του αίματος. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα αποτελούν την κύρια θέση σύνθεσης του ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (tissue-plasminogen factor, t-PA), ο οποίος ενεργοποιεί τη μετατροπή του πλασμινογόνου σε πλασμίνη. Το πεπτίδιο αυτό είναι σημαντικό για τη διάλυση του θρόμβου και τη διατήρηση του αγγειακού αυλού (Hekman, Loskutoff 1987). Σε φυσιολογικές συνθήκες, την απελευθέρωση του t-PA προκαλούν ποικίλα ερεθίσματα, όπως η σωματική άσκηση, η αύξηση της φλεβικής πίεσης, η οξέωση, η υποξία, η νοραδρεναλίνη, η θρομβίνη και η βαζοπρεσίνη (Stassen *et al.*, 2004).

Τα ενδοθηλιακά κύτταρα συνθέτουν επίσης και αναστολείς της ινωδόλυσης. Ο πιο σημαντικός αναστολέας του t-PA είναι ο PAI (Plasminogen Activator Inhibitor) (Erickson *et al.*, 1985, Girard, Broze 1993). Υπάρχουν τέσσερις τύποι PAI, από τους οποίους ο τύπος 1

(PAI-1) είναι ο κυρίαρχος (Stassen *et al.*, 2004). Η ποσότητα του PAI-1 στο πλάσμα υπερβαίνει εκείνη του t-PA και η σύνθεσή του διεγείρεται από τη φλεγμονή και από μια ποικιλία ορμονών και κυτοκινών.

Συνοψίζοντας, το ενδοθήλιο παίζει πρωτεύοντα ρόλο στη σύνθετη σχέση μεταξύ του περιέκτη (αρτηρία) και του περιεχομένου του (αίμα). Αυτός είναι και ο λόγος που το ενδοθήλιο θεωρείται ότι είναι ο «εγκέφαλος» της αρτηρίας (Guerci *et al.*, 2001).



Εικόνα 1.3. Φυσιολογία ενδοθηλίου. *JACC* 2012; 60(16): 1455–1469.

## 1.2 ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΗ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ

Η φυσιολογική αρτηριακή λειτουργία εξαρτάται από τη σύνθετη αλληλεπίδραση μεταξύ των παραγόμενων από το ενδοθήλιο μορίων και του αγγειακού περιβάλλοντος. Ως ενδοθηλιακή δυσλειτουργία ορίζεται η αλλαγή στις αγγειοδραστικές, αντιπηκτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, καθώς και η απορρύθμιση της αγγειακής αύξησης, που προέρχονται από την απώλεια της δράσης του NO στο ενδοθήλιο (Faulx *et al.*, 2003, Hsueh *et al.*, 2003). Η μείωση αυτή της βιοδιαθεσιμότητας του NO, η οποία μετράται ως ελαττωμένη



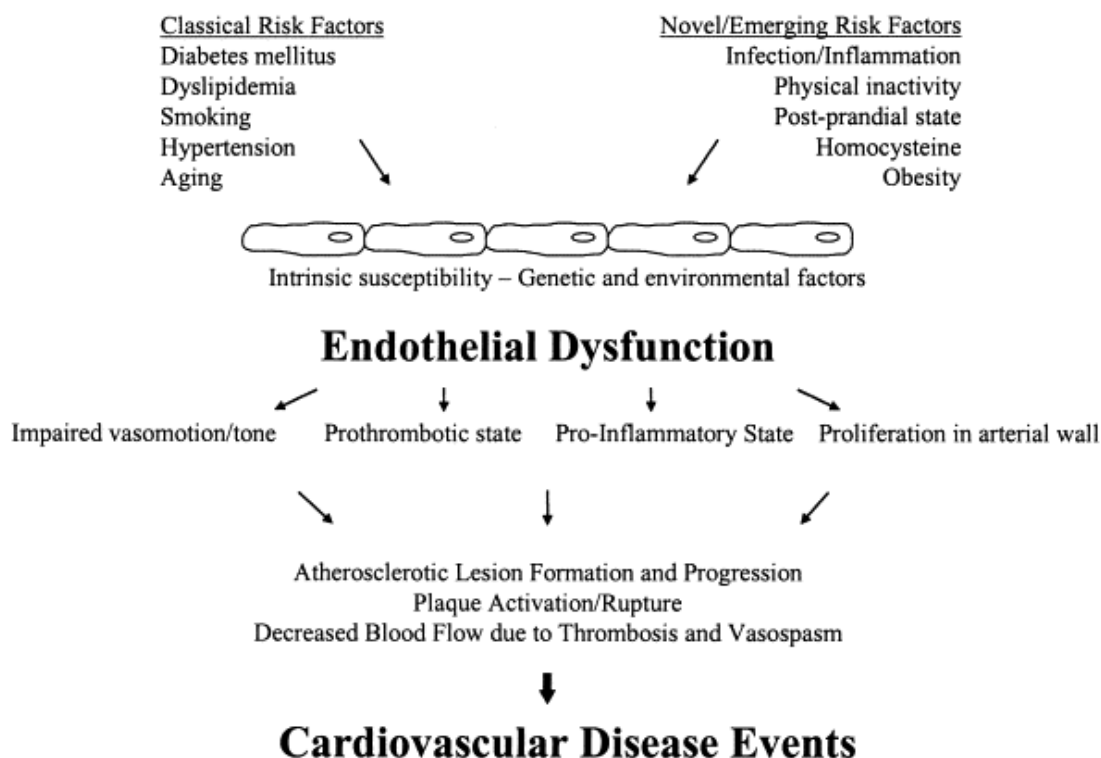
αγγειοδιασταλτική ικανότητα και υποδηλώνει απώλεια της αγγειακής προστασίας, μπορεί να οφείλεται σε: α) μειωμένη έκφραση της eNOS, εξαιτίας μειωμένης μεταγραφής ή/και ελαττωμένης σταθερότητας του μηνύματος

β) μειωμένη ενεργοποίηση της eNOS, όπως συμβαίνει όταν τα επίπεδα της καβεολίνης είναι αυξημένα

γ) αυξημένο ποσοστό αποδόμησης του NO από ενεργές ρίζες οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS)

δ) ανεπαρκές υπόστρωμα (L-αργινίνη) ή συνένζυμα (τετραϋδροβιοπτερίνη, tetrahydrobiopterin ή BH4) για τη βιοσύνθεση του NO. Η BH4 είναι ένα συνένζυμο της eNOS, το οποίο ευθύνεται για τη μετατροπή της L-αργινίνης σε NO. Η ενεργοποίηση της eNOS υπό ανεπαρκείς συγκεντρώσεις BH4 οδηγεί σε παραγωγή περοξειδίου αντί για NO και ονομάζεται αποσύνδεση της eNOS (Heinzel *et al.*, 1992). Το περοξειδίο, όπως και το NO, διαχέεται γρήγορα μέσω των κυττάρων και αντιδρά με ομάδες κυστεΐνης σε διάφορες πρωτεΐνες, τροποποιώντας τη λειτουργία τους (Ree 2006). Η διαδικασία αυτή συνεπάγεται φωσφορυλίωση μεταγραφικών παραγόντων, καθώς και ενεργοποίηση μεταγραφικών γονιδίων και πρωτεασών, με ποικίλες συνέπειες.

Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία μπορεί να θεωρηθεί ως ενδοθηλιακή ενεργοποίηση, η οποία μπορεί τελικά να οδηγήσει σε αρτηριακή νόσο κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες (Deanfield *et al.*, 2007). Η ενδοθηλιακή ενεργοποίηση ορίζεται ως η στροφή από έναν ήρεμο φαινότυπο σε εκείνον που προκαλεί πλήθος αμυντικών αντιδράσεων. Πράγματι, οι κλασσικοί (υπέρταση, δυσλιπιδαιμία, σακχαρώδης διαβήτης, κάπνισμα, παχυσαρκία) αλλά και οι νέοι παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου (υπερομοκυστεϊναιμία, λιποπρωτεΐνη Lp(a), λοιμώξεις από γλαμύδια ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού, κυτταρομεγαλοϊό, έρπητα ζωστήρα ή βακτηριοειδές *gingivalis*) έχουν μια κοινή ιδιότητα, την προαγωγή μιας κατάστασης οξειδωτικού στρες που άμεσα ή μέσω heating πρωτεϊνών (HSP-60) προκαλεί την παραγωγή του προφλεγμονώδους μεταγραφικού παράγοντα NF-KB. Ο NF-KB οδηγεί στην παραγωγή προαθηρωγόνων κυττοκινών, όπως ο TNF-α, η IL-1, η IL-6, μορίων προσκόλλησης και χυμοκινών, που παρεμποδίζουν τη δραστηριότητα της eNOS και επομένως μειώνουν την παραγωγή NO με τους μηχανισμούς που προαναφέρθηκαν. Επιπλέον, ευνοούν τη σύνθεση και ενεργοποίηση της AgII (Hansson 2005).



**Εικόνα 1.4.** Σχέση ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας με καρδιαγγειακή νόσο.

*J Am Coll Cardiol* 2003;42:1149–60.

### 1.3 ΣΧΕΣΗ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΗΣ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΜΕ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗ ΝΟΣΟ.

Η ενδοθηλιακή βλάβη, είτε εξαιτίας φυσικού τραυματισμού ή σε επίπεδο κυτταρικής βλάβης, θεωρείται σήμερα ως το αρχικό γεγονός της αθηροσκλήρωσης (Clarkson *et al.*, 1987, Ross 1993), (Εικόνα 1.4). Η αύξηση των επιπέδων των προσκολλητικών μορίων, που προκαλείται από την ενεργοποίηση του ενδοθηλίου, προκαλεί την αύξηση της προσκόλλησης των λευκοκυττάρων στην ενδοθηλιακή επιφάνεια. Οι σελεκτίνες συνδέουν τα λευκοκύτταρα ασθενώς στην ενδοθηλιακή επιφάνεια, εισάγοντας μια διεργασία που ονομάζεται κύλιση (rolling), ενώ τα ICAM-1, VCAM-1, και PECAM συνδέουν τα λευκά αιμοσφαίρια πιο ισχυρά και διευκολύνουν τη μετανάστευσή τους μέσα στο αγγειακό τοίχωμα (Tailor, Granger 2000). Επιπλέον, η φλεγμονή προκαλεί την έκκριση από τα ενδοθηλιακά και τα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα μιας χυμοκίνης, της MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1), η οποία προκαλεί την έλξη και διείσδυση των μονοκυττάρων στην περιοχή της βλάβης.

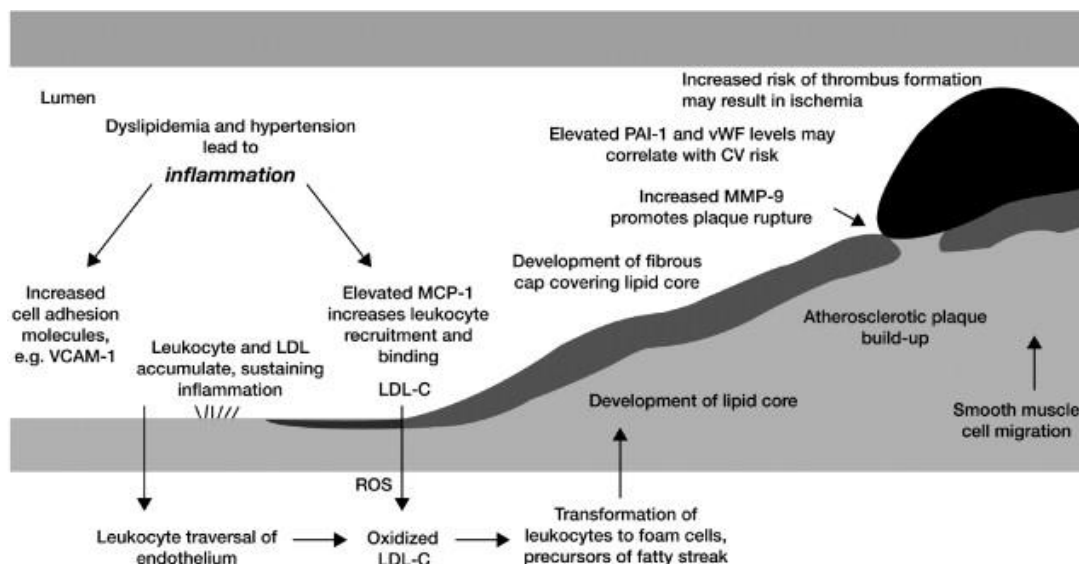
Λευκοκύτταρα, αιμοπετάλια και λιποπρωτεΐνες (κυρίως LDL-χοληστερόλη) συσσωρεύονται στην περιοχή της βλάβης, προκαλώντας εικόνα χρόνιας φλεγμονής. Η σύνδεση των λιποπρωτεϊνών διευκολύνεται από πρωτεογλυκάνες (Tannock 2004), ενώ των αιμοπεταλίων από την μείωση της παραγωγής από το ενδοθήλιο ολιγοσακχαριτών όμοιων με την ηπαρίνη (Castellot *et al.*, 1981).

Μέσα στον υπενδοθηλιακό χώρο, τα μόρια της LDL-c οξειδώνονται από ενεργές ρίζες οξυγόνου, ενώ τα μονοκύτταρα μετατρέπονται μέσω φλεγμονωδών κυττοκινών σε μακροφάγα, τα οποία φαγοκυττώνουν τα οξειδωμένα μόρια της LDL-c σχηματίζοντας αφρώδη κύτταρα, τους προδρόμους της αθηροσκληρωτικής πλάκας (Ross 1999). Η μετανάστευση και ο πολλαπλασιασμός των αγγειακών λείων μυϊκών ινών συμβάλλουν στην πάχυνση του μέσου-έσω χιτώνα (Henderson 1991), (Εικόνα 1.5). Το αρτηριακό τοίχωμα προσπαθεί να αντιρροπίσει την πάχυνση αυτή με διαστολή, μια διαδικασία που ονομάζεται ανακατασκευή (remodeling), όμως, όταν η αρτηρία δεν μπορεί πλέον να διασταλεί, η βλάβη προβάλλει μέσα στον αυλό προκαλώντας ισχαιμία.

Υπάρχουν δύο τύποι βλαβών: α) η σταθερή ή ινώδης πλάκα, με ένα μικρό και κεντρικό λιπώδη πυρήνα, ο οποίος περιβάλλεται από ένα παχύ και ανθεκτικό κάλυμμα υψηλής περιεκτικότητας σε κολλαγόνο, χωρίς σημεία φλεγμονής. Ο τύπος αυτός της πλάκας συνήθως αποφράσσει σημαντικά το αγγείο και φαίνεται εύκολα αγγειογραφικά.

Β) Η υψηλού κινδύνου, ασταθής πλάκα, η οποία αποτελείται από ένα μεγάλο, έκκεντρο λιπώδη πυρήνα, ο οποίος περιβάλλεται από ένα αδύναμο και λεπτό ινώδες στρώμα με λίγο κολλαγόνο και μεγάλες ποσότητες μακροφάγων και T-λεμφοκυττάρων. Η πλάκα αυτή σπάνια αποφράσσει σημαντικά το αγγείο και συχνά δεν εκτιμάται αγγειογραφικά. Σύμφωνα με μια μετα-ανάλυση (Falk *et al.*, 1995), ο τύπος αυτός της πλάκας είναι συνήθως ασυμπτωματικός, δεν αναγνωρίζεται εύκολα και δεν αξιολογείται σημαντικά αγγειογραφικά, αν και είναι υπεύθυνος για το 86% των οξέων στεφανιαίων συμβαμάτων (Falk *et al.*, 1995, Ross 1999, Ziada *et al.*, 2001, Hansson 2005).

Η ρήξη της πλάκας και η θρόμβωση προκαλούνται από μια οικογένεια πεπτικών ενζύμων του κολλαγόνου, τις μεταλλοπρωτεϊνάσες περιβλήματος (MMPs) και ειδικά από τη MMP-9, η οποία εκφράζεται από ποικιλία κυτταρικών τύπων, συμπεριλαμβανομένων και των ενδοθηλιακών κυττάρων (McMillan *et al.*, 2004). Η έκφραση της MMP-9 είναι αυξημένη στην περιοχή της πλάκας και αυτό μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα τη ρήξη της ινώδους πλάκας και το σχηματισμό θρόμβου (Gallis *et al.*, 1994).



**Εικόνα 1.5.** Στάδια αθηρωσκλήρωσης. *Clinical Chemistry* 44:8(B) 1799–1808 (1998).

## 1.4 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΑΓΓΕΙΑΚΟΥ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟΥ

Όπως συζητήθηκε προηγουμένως, το ενδοθήλιο εκκρίνει διάφορες ουσίες που επηρεάζουν ποικίλες αγγειακές λειτουργίες. Η κατανόηση της αγγειακής βιολογίας του ενδοθηλίου επέτρεψε την ανάπτυξη κλινικών δοκιμών που εκτιμούν διάφορες από τις λειτουργικές ιδιότητες του φυσιολογικού και ενεργοποιημένου ενδοθηλίου (Deanfield *et al.*, 2005). Ιδανικά, αυτές οι δοκιμασίες θα πρέπει να είναι ασφαλείς, μη επεμβατικές, με επαναληψιμότητα, φθηνές και στανταρισμένες μεταξύ των διαφόρων εργαστηρίων. Επιπλέον, τα αποτελέσματα θα πρέπει να αντανακλούν τη βιολογία του ενδοθηλίου κατά τη διάρκεια της φυσικής ιστορίας της αθηρωσκληρωτικής νόσου, να καθορίζουν την υποκλινική πορεία της νόσου καθώς και να παρέχουν προγνωστικές πληροφορίες για την εξέλιξη της νόσου (Deanfield *et al.*, 2007).

### 1.4.1 In vitro άμεσες μέθοδοι

Αυτές οι μέθοδοι διεξάγονται σε καλλιέργειες κυττάρων ή σε απομονωμένες αρτηρίες. Το κύριο πλεονέκτημά τους είναι ότι παρέχουν άμεση εκτίμηση των αγγειοδραστικών ουσιών που εκκρίνονται από το ενδοθήλιο ως αντίδραση σε αλλαγές της αιματικής ροής ή/και της τάσης τριβής. Έχουν ακόμα χρησιμοποιηθεί η Ach και άλλες ενδοθηλιο-εξαρτώμενες αγγειοδιασταλτικές ουσίες, όπως και αναστολείς της COX, της eNOS και της διαλυτής γουανυλικής κυκλάσης. Ωστόσο, η αντίδραση στο ερέθισμα μπορεί να διαφέρει ανάλογα με

τον τύπο της αρτηρίας, πχ. η θρομβίνη και η αδενοσίνη προκαλούν αγγειοδιαστολή στις νεφρικές αρτηρίες αλλά όχι στις αρτηρίες των δακτύλων (Guerci *et al.*,2001).

#### 1.4.2 Βιοχημικές *in vivo* έμμεσες μέθοδοι

Μία ευρεία εκτίμηση των ποικίλων λειτουργιών του ενδοθηλίου μπορεί να αποκτηθεί με τη μέτρηση των επιπέδων των ουσιών που παράγονται από το ενδοθήλιο, στο αίμα. Οι ουσίες αυτές αποτελούν άμεσα παράγωγα των ενδοθηλιακών κυττάρων που μεταβάλλονται όταν το ενδοθήλιο ενεργοποιείται, όπως το NO, φλεγμονώδεις κυττοκίνες, μόρια προσκόλλησης, ρυθμιστές της θρόμβωσης, καθώς και δείκτες ενδοθηλιακής βλάβης και αποκατάστασης (Deanfield *et al.*, 2007). Η μέθοδος όμως αυτή δεν χρησιμοποιείται συχνά, γιατί το βιοχημικό σύστημα είναι ασταθές και οι ουσίες αυτές έχουν πολύ μικρό χρόνο ημιζωής. Επιπλέον, το κόστος για τη μέτρησή τους είναι μεγάλο (Guerci *et al.*,2001).

Η ενδοθηλιακή λειτουργία εκτιμάται συχνότερα με τη μέτρηση του NO ή της PGI<sub>2</sub> στο πλάσμα. Οι συγκεντρώσεις του μεταβολίτη της οξειδωσης του NO (νιτρώδες) μετράται στα ούρα εικοσιτετραώρου και θεωρείται δείκτης της ολικής έκκρισης NO κατά το χρονικό αυτό διάστημα. Η εγκυρότητα, όμως, της μέτρησης προϋποθέτει αυστηρά ρυθμισμένη δίαιτα και την απουσία πρόσφατου τραύματος ή λοίμωξης (Habit *et al.*,1994, Umans 1997). Επιπρόσθετα, η μέθοδος αυτή δεν μπορεί να ταυτοποιήσει την πηγή του NO (ενδοθηλιακή, νευρωνική κτλ) ή του τύπου της NOS που συμμετέχει (Umans 1997, Forte *et al.*,1997). Η μέτρηση του cGMP ή της ET-1 στο πλάσμα ή τα ούρα φέρει τους ίδιους περιορισμούς και οι ουσίες αυτές επίσης δεν μπορούν να θεωρηθούν ως ειδικοί δείκτες της ενδοθηλιακής δραστηριότητας (Vanchoutte 1999).

Η ασυμμετρική διμεθυλαργινίνη (asymmetric dimethylarginine, ADMA) είναι ένας ενδογενής αναστολέας της eNOS. Έχει αποδειχτεί σε κλινικές και πειραματικές μελέτες ότι αυξημένα επίπεδα της ουσίας αυτής σχετίζονται με μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα του NO. Τα επίπεδα της ADMA είναι αυξημένα σε άτομα με παράγοντες κινδύνου για αθηροσκλήρωση, όπως η υπέρταση, η δυσλιπιδαιμία, ο σακχαρώδης διαβήτης και η νεφρική ανεπάρκεια (Vallance, Leiper 2004). Ο προσδιορισμός της, αν και αρκετά δαπανηρός, έχει συνδεθεί με την ύπαρξη προκλινικής αθηροσκληρωτικής νόσου και αρνητικών συμβαμάτων και αποτελεί χρήσιμο δείκτη της ενδοθηλιακής κατάστασης (Boger *et al.*,2005).

Η ενεργοποίηση του ενδοθηλίου οδηγεί σε αυξημένη έκκριση φλεγμονωδών κυττοκινών και μορίων προσκόλλησης. Καλά χαρακτηρισμένα μόρια που μπορούν να μετρηθούν στην κυκλοφορία με ανοσολογικές δοκιμασίες αποτελούν τα: e-selectin, ICAM-1, VCAM-1 και P-selectin (Rifai, Ridker 2002, Ridker *et al.*,2004). Αν και τα μόρια αυτά προέρχονται και από

άλλες, όχι σαφώς προσδιορισμένες πηγές, φαίνεται ότι μόνο η e-selectin είναι η πιο ειδική για το ενεργοποιημένο ενδοθήλιο. Αυξημένα επίπεδά της σχετίζονται με την ύπαρξη παραγόντων κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο, λειτουργικές και δομικές αλλαγές των αγγείων και δυσμενή καρδιαγγειακή πρόγνωση (Hwang *et al.*, 1997, Ridker *et al.*, 1998).

Ομοίως, οι προθρομβωτικές συνέπειες της ενεργοποίησης του ενδοθηλίου μπορούν να εκτιμηθούν με τη μέτρηση των επιπέδων του t-PA και του αναστολέα του, PAI-1, καθώς και των επιπέδων του vWF (Mannucci *et al.*, 1998, Meyer *et al.*, 2006).

Μία νέα μέθοδος εκτίμησης της ενδοθηλιακής βλάβης και αποκατάστασης αποτελεί η μέτρηση των επιπέδων των κυκλοφορούντων ενδοθηλιακών κυττάρων και των αρχέγονων μορφών τους. Τα κύτταρα αυτά μπορούν να μετρηθούν με κυτταρομετρία ροής, μικροσκόπηση με ανοσοφθορισμό καθώς και άλλες μεθόδους. Έχει βρεθεί ότι υπάρχει άμεση συσχέτιση του αριθμού των κυκλοφορούντων ενδοθηλιακών κυττάρων με το βαθμό της ενδοθηλιακής βλάβης σε ασθενείς με αθηροσκληρωτική νόσο (George *et al.*, 1992). Η ειδικότητα της μέτρησης των αρχέγονων ενδοθηλιακών κυττάρων, η οποία αντανακλά τη δυνατότητα αποκατάστασης της ενδοθηλιακής βλάβης, είναι αμφιλεγόμενη, καθώς ένας μεγάλος αριθμός αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων μπορεί να υιοθετήσει ενδοθηλιακό φαινότυπο (Fujiyama *et al.*, 2003).

### **1.4.3 Επεμβατικές *in vivo* άμεσες μέθοδοι**

Από τις ήδη υπάρχουσες δοκιμασίες, οι περισσότερες ελέγχουν την ικανότητα του ενδοθηλίου να παράγει τον αγγειοδιασταλτικό παράγοντα NO ως αντίδραση σε φαρμακολογικό ή φυσιολογικό ερέθισμα ή και στα δύο. Αν και αποτελεί μόνο μία από τις πολλές ενδοθηλιακές λειτουργίες, η παραγωγή του NO είναι ιδιαίτερα σημαντική εξαιτίας της δράσης του NO στα αιμοπετάλια, τα μονοκύτταρα και τα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα (Cooke, Tsao 1994). Η ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή μπορεί να εκτιμηθεί τόσο στη στεφανιαία όσο και στην περιφερική κυκλοφορία.

#### **1.4.3.1 Στεφανιαίες αρτηρίες**

Η *in vivo* εκτίμηση της στεφανιαίας ενδοθηλιακής λειτουργίας στον άνθρωπο αναφέρθηκε πρώτη φορά στα μέσα της δεκαετίας του 1980 (Ludmer *et al.*, 1986). Η διάμετρος των στεφανιαίων αρτηριών μετράται με ποσοτική στεφανιαία αγγειογραφία, πριν και μετά την ενδαρτηριακή έγχυση Ach (Ludmer *et al.*, 1986, Cox *et al.*, 1989). Αυτή η προσέγγιση είναι ένα άμεσο κλινικό ανάλογο του πειράματος των Furchgott και Zawadzki. Σε φυσιολογικές

αρτηρίες, η Ach προκαλεί την απελευθέρωση NO από το ενδοθήλιο, με αποτέλεσμα την αγγειοδιαστολή. Αντίθετα, σε άτομα με ενδοθηλιακή δυσλειτουργία παρατηρείται αγγειοσύσπαση, μέσω άμεσης συσπαστικής δράσης της Ach στα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα. Η αντίδραση αυτή συγκρίνεται με την αντίδραση του αγγείου στη νιτρογλυκερίνη, μία εξωγενή πηγή NO και επομένως ενδοθηλιοανεξάρτητο αγγειοδιαστολέα. Η προκαλούμενη από την Ach αγγειοσύσπαση είναι μία από τις πιο πρώιμες εκδηλώσεις ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας (Zeiger *et al.*, 1991) και συμβαίνει νωρίτερα από διαταραχές της ενδοθηλιακής λειτουργίας που ανιχνεύονται με άλλες μεθόδους (δοκιμασία ψυχρής πίεσης, FMD).

Ο ειδικός αναστολέας της συνθάσης του NO, L-NMMA, έχει επίσης εγχυθεί εκλεκτικά στις στεφανιαίες αρτηρίες προκειμένου να εκτιμηθεί η δραστηριότητα του NO στη στεφανιαία κυκλοφορία (Goodhart, Anderson 1998). Η έγχυση του L-NMMA εμποδίζει την εξαρτώμενη από το ενδοθήλιο αγγειοδιαστολή. Η επακόλουθη αγγειοσύσπαση είναι ανάλογη της αρχικής έκκρισης NO. Όμως, η επεμβατική της φύση και η αδυναμία επαναλαμβανόμενων μετρήσεων στον ίδιο ασθενή είναι οι βασικοί περιορισμοί της μεθόδου. Επιπλέον, η λειτουργία των στεφανιαίων αγγείων μπορεί να εκτιμηθεί με τη μέτρηση της στεφανιαίας αιματικής ροής, με τη χρήση ενδοστεφανιαίου Doppler (Doucette *et al.*, 1992). Η στεφανιαία αιματική ροή αυξάνει από την έγχυση αγωνιστών, όπως η Ach και ο βαθμός της αύξησης αυτής μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ένα ποσοτικό μέτρο της ενδοθηλιακής λειτουργίας.

Οι προαναφερθείσες τεχνικές έχουν συμβάλει σημαντικά στην κατανόηση των αγγειακών επιδράσεων των καρδιαγγειακών παραγόντων κινδύνου, καθώς και στη δυνατότητα αναστρεψιμότητας της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας με τη χρήση διαφόρων θεραπευτικών στρατηγικών (όπως για παράδειγμα στατίνες, αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης, αντιοξειδωτικά, θειαζολιδινεδιόνες), (Mancini *et al.*, 1996, Anderson 1995). Όμως, το κύριο μειονέκτημα των τεχνικών αυτών είναι η επεμβατική τους φύση, που τις καθιστά ακατάλληλες για χρήση σε παιδιά ή ενήλικους υψηλού κινδύνου για αθηροσκλήρωση, χωρίς όμως κλινικά συμπτώματα ή σημεία της νόσου. Επομένως, η χρήση των τεχνικών αυτών περιορίζεται σε ασθενείς με προχωρημένη νόσο (Celermajer *et al.*, 1997).

## **1.4.4 Μη επεμβατικές in vivo άμεσες μέθοδοι**

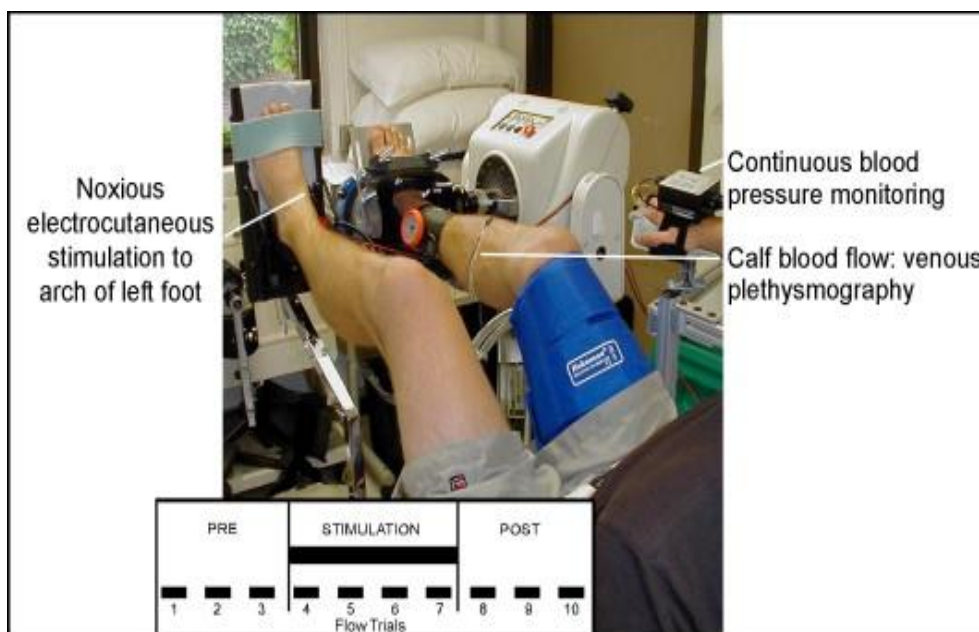
### **1.4.4.1 PET**

Μη επεμβατική, ποσοτική εκτίμηση της μυοκαρδιακής αιματικής ροής και μεταβολικής δραστηριότητας μπορεί να γίνει με τη μέθοδο PET (Positron Emission Tomography scanning), (Gould *et al.*, 1994, Aengevaeren *et al.*,1997). Για την εκτίμηση της στεφανιαίας αιματικής εφεδρείας μετρώνται τόσο η βασική όσο και η υπεραιμική ροή, συνήθως μετά από ενδοφλέβια χορήγηση διπυριδαμόλης ή αδενοσίνης (Uren *et al.*,1994). Όμως, επειδή η αύξηση της μυοκαρδιακής ροής οφείλεται τόσο στην έγχυση αδενοσίνης ή διπυριδαμόλης όσο και στην επαγόμενη από τη ροή αγγειδιαστολή, αποτελεί εν μέρει μόνο μέτρο της ενδοθηλιακής λειτουργίας. Η τεχνική αυτή είναι μη επεμβατική και έχει το πλεονέκτημα των πολλαπλών δοκιμών για κάθε ασθενή. Όμως, το κόστος της είναι υψηλό, περιλαμβάνει έκθεση σε ακτινοβολία και επιπλέον περιορίζεται σε μικρό αριθμό εργαστηρίων (Parodi 1997).

### **1.4.4.2 Πληθυσμογραφία φλεβικής απόφραξης**

Επειδή η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία είναι μία συστηματική διεργασία αναπτύχθηκε στη συνέχεια μία λιγότερο επεμβατική τεχνική, η οποία χρησιμοποιεί τις ίδιες αρχές της τοπικής χορήγησης φαρμακευτικών παραγόντων και τη μέτρηση στη συνέχεια των αλλαγών του αγγειακού τόνου του αντιβραχίου, με τη μέθοδο της πληθυσμογραφίας φλεβικής απόφραξης (Creager *et al.*,1990, Panza *et al.*,1990), (Εικόνα 1.6). Με τη δοκιμασία αυτή μετράται ο όγκος- και έμμεσα η αιματική ροή ή οι αγγειακές αντιστάσεις του αντιβραχίου, μετά από διακοπή της φλεβικής επιστροφής στο βραχίονα με περιχειρίδα, η οποία διαστέλλεται με πίεση λίγο μεγαλύτερη από τη φλεβική. Ακολουθεί καθετηριασμός της βραχιόνιας αρτηρίας, χορήγηση αγγειοδραστικών παραγόντων και ταυτόχρονη καταγραφή της αιματικής ροής στο εξεταζόμενο και το αντίπλευρο αντιβράχιο. Οι μεταβολές της ροής στο εξεταζόμενο αντιβράχιο που δεν συνοδεύονται από αντίστοιχες μεταβολές στο άλλο αντιβράχιο, παρέχουν ένα μέτρο της αγγειοκινητικής λειτουργίας των αγγείων αντίστασης του αντιβραχίου.





**Εικόνα 1.6.** Μέθοδος πληθυσμογραφίας φλεβικής απόφραξης. *Garrison, Clin Neurophysiology 2008; 119 (2): 466–474.*

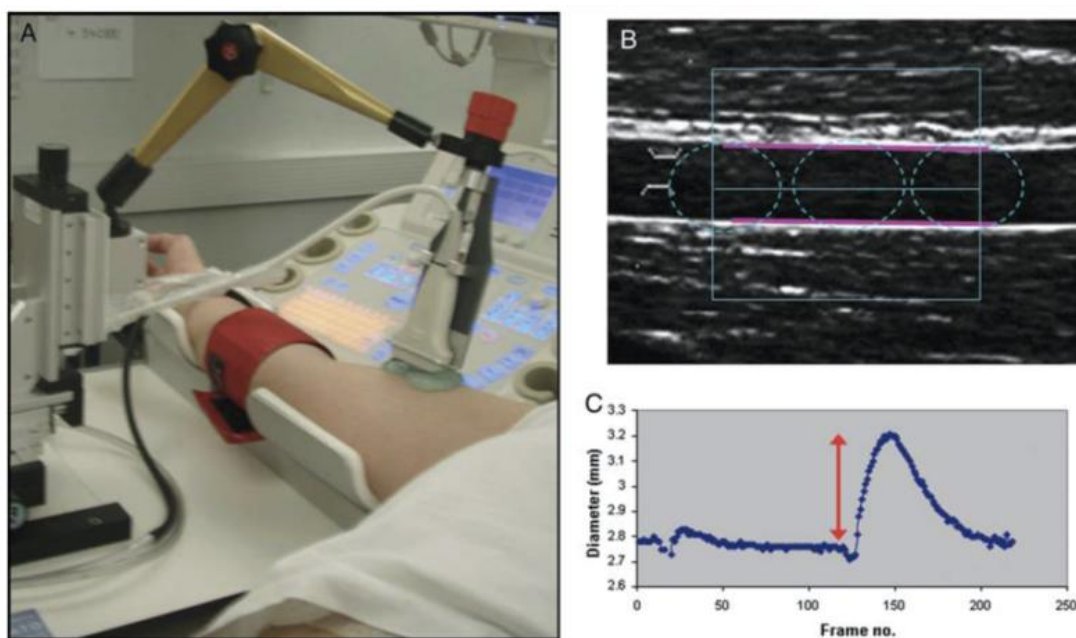
Η πληθυσμογραφία φλεβικής απόφραξης έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως, αλλά τα μειονεκτήματά της είναι ότι πρόκειται για επεμβατική μέθοδο και επιπλέον υπάρχει έλλειψη ομοιομορφίας των πρωτοκόλλων μεταξύ των διαφόρων εργαστηρίων. Επιπλέον, οι πληθυσμογραφικές μελέτες παρουσιάζουν διακυμάνσεις ανάλογα με την ημέρα, γεγονός που περιορίζει τη χρήση τους σε μακροπρόθεσμες μελέτες (Anderson 1999). Τέλος, η κλινική συσχέτισή τους με την αθηροσκλήρωση είναι επίσης αβέβαιη, επειδή η μικροαγγειακή παθοφυσιολογία δεν αντανakλά απαραίτητα αλλαγές στις μεγάλες αρτηρίες που προδιαθέτουν στην ανάπτυξη της νόσου (Deanfield *et al.*, 2007).

#### **1.4.4.3 Μέτρηση της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής με υπέρηχο, FMD.**

##### **Περιγραφή της μεθόδου.**

Για όλους αυτούς τους λόγους, το 1985 περιγράφηκε για πρώτη φορά από τους Anderson και Mark μια μη επεμβατική, βασιζόμενη σε υπέρηχο, δοκιμασία μέτρησης της ενδοθηλιακής λειτουργίας στη συστηματική κυκλοφορία (Anderson, Mark 1989), (Εικόνα 1.7). Με τη μέθοδο αυτή, η οποία άρχισε να εφαρμόζεται στην κλινική έρευνα από τις αρχές της δεκαετίας του 1990 (Celermajer *et al.*, 1992), η διάμετρος της βραχιόνιας αρτηρίας μετράται πριν και μετά την αύξηση της τάσης τριβής, που προκαλείται από ενεργό υπεραιμία, η οποία

επάγεται από την πρόκληση προϊσχαιμικής αγγειοδιαστολής του άπω αγγειακού δικτύου. Η ισχαιμία προκαλείται από την τοποθέτηση περιχειρίδας πιεσομέτρου στον εγγύς ή μέσο πήχη, η οποία φουσκώνει στα 200mmHg ή 50 mmHg επάνω από τη συστολική πίεση. Η περιχειρίδα απελευθερώνεται τέσσερα με πέντε λεπτά αργότερα, ενώ η αρτηριακή διάμετρος και η ταχύτητα ροής μετρώνται 60 δευτερόλεπτα αργότερα. Μόλις η περιχειρίδα ξεφουσκώσει, η ροή στη βραχιόνια αρτηρία αυξάνει προκαλώντας αύξηση στη διατμηματική τάση, με αποτέλεσμα την αγγειοδιαστολή (αγγειοδιαστολή δια της ροής, flow-mediated dilation, FMD). Ο ακριβής μηχανισμός του FMD δεν είναι πλήρως κατανοητός, αλλά πιστεύεται ότι προκαλείται από την αύξηση της παραγωγής NO από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, πιθανώς μέσω της πρόκλησης από την αυξημένη διατμηματική τάση φωσφορυλίωσης της ενδοθηλιακής συνθάσης του NO (eNOS), (Dimmeler *et al.*,1999). Τυπικά, οι υγιείς αρτηρίες παρουσιάζουν αύξηση της διαμέτρου σε εύρος 5-15%, ενώ η ροή της βραχιόνιας αρτηρίας γενικά αυξάνει πέντε με έξι φορές (Berry *et al.*,2000,Vogel 2001). Σε ασθενείς με μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα NO και επομένως με παθολογική ενδοθηλιακή λειτουργία, η αγγειοδιασταλτική αντίδραση είναι μειωμένη, ενώ σε μερικούς ασθενείς μπορεί να παρατηρηθεί αγγειοσύσπαση (Faulx 2003).

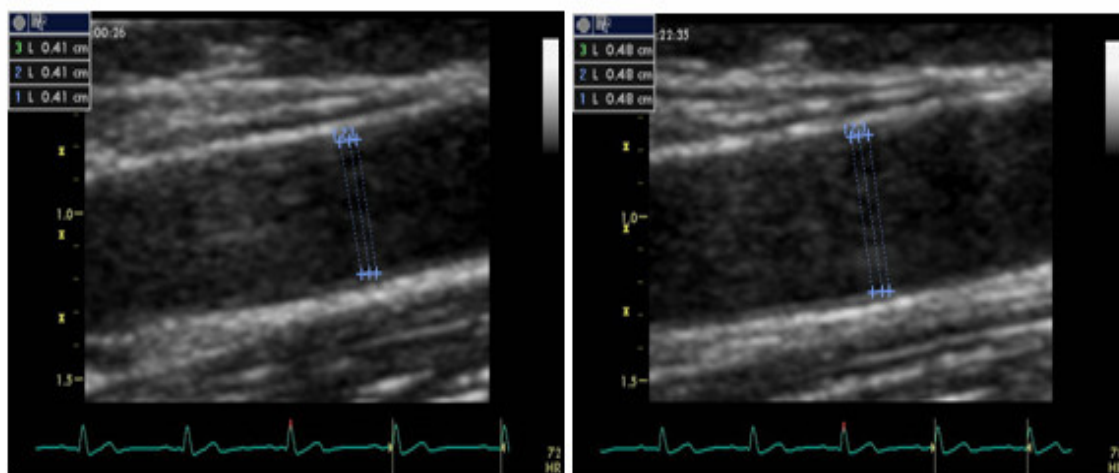


**Εικόνα 1.7.** Μέθοδος ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής (Flow-mediated dilation, FMD). Charakida M, *European Heart Journal* 2010;31, 2854–2861.

Το FMD της βραχιόνιας αρτηρίας μετράται με υπέρηχο υψηλής συχνότητας (7-13 MHz) από έναν καλά εκπαιδευμένο χειριστή, ενώ έχουν ήδη δημοσιευτεί κατευθυντήριες γραμμές για την εκπαίδευση και πιστοποίηση των χειριστών (Coretti *et al.*,2002). Οι ασθενείς θα πρέπει να παραμείνουν κλινήρεις για τουλάχιστο δεκαπέντε λεπτά πριν την εξέταση, σε περιβάλλον με ελεγχόμενη θερμοκρασία. Ιδανικά, οι ασθενείς θα πρέπει να είναι νήστες για τουλάχιστο οχτώ ώρες πριν την εξέταση, επειδή τα λιπαρά γεύματα και η καφεΐνη επηρεάζουν το βαθμό της αγγειοδιαστολής. Επίσης, θα πρέπει να απέχουν από το κάπνισμα πριν τη μελέτη. Επιπλέον, για κάθε ασθενή θα πρέπει να λαμβάνεται λεπτομερές ιστορικό καθώς και να γίνεται καταγραφή της φαρμακευτικής αγωγής που πιθανώς ακολουθεί. Η διακοπή της χρήσης φαρμάκων πριν την εξέταση είναι υπό συζήτηση, καθώς πολλά φάρμακα δυνητικά επηρεάζουν την λειτουργικότητα της βραχιόνιας αρτηρίας (Coretti *et al.*,2002). Όμως, πρόσφατες πληροφορίες προτείνουν ότι η συνέχιση μη νιτροδών αγγειοδραστικών φαρμάκων δεν έχει σημαντική επίδραση στην αρτηριακή λειτουργικότητα (Gocke *et al.*,2002).

Δύο διαστάσεων εικόνες λαμβάνονται με Doppler υπερηχογραφία αρχικά, προκειμένου να εκτιμηθεί η βασική αρτηριακή διάμετρος και η ταχύτητα ροής και στη συνέχεια μετά από την άρση της ισχαιμίας (Εικόνα 1.8). Οι εικόνες λαμβάνονται με συνοδό ηλεκτροκαρδιογραφική καταγραφή, με τις μετρήσεις να γίνονται στο τέλος της διαστολής, που αντιστοιχεί στην έναρξη του κύματος R. Για κάθε στάδιο της εξέτασης υπολογίζεται η μέση τιμή τριών με πέντε μετρήσεων και τα αποτελέσματα εκφράζονται ως ο λόγος της αλλαγής της αρτηριακής διαμέτρου προς την αρχική διάμετρο, δηλ.

$$\text{FMD} = [(\text{διάμετρος μετά την ενεργό υπεραιμία} -$$



$$\text{βασική διάμετρος} / \text{βασική διάμετρος}] \times 100.$$

**Εικόνα 1.8.** FMD. Schwartz, *International Journal of Impotence Research* 2010; 22: 77-90.

Η άριστη ποιότητα των εικόνων είναι βασική για να εκτιμηθεί το FMD. Οι λήψεις μπορούν να αποθηκευτούν ψηφιακά ή σε S-VHS βιντεοκασέτα (Faulx *et al.*, 2005). Τελευταία, η ανάπτυξη μοντέρνων software επιτρέπει τη συνεχή εκτίμηση της αρτηριακής διαμέτρου και της αιματικής ροής κατά τη διάρκεια ολόκληρου του πρωτοκόλλου με τη χρήση αλγορίθμων ακριβείας, που μπορούν να προγραμματιστούν κατάλληλα (Deanfield *et al.*, 2007). Η μελέτη διαρκεί είκοσι με τριάντα λεπτά και η διαδικασία είναι γενικά καλά ανεκτή.

### **Μηχανισμοί πρόκλησης αγγειοδιαστολής**

Διάφοροι μηχανισμοί ευθύνονται για την αύξηση του NO μετά από την άρση της ισχαιμίας. Η μεμβράνη των ενδοθηλιακών κυττάρων περιέχει διαύλους καλίου, οι οποίοι διανοίγονται από ιόντα ασβεστίου και ενεργοποιούνται από την έκθεση στη διατμηματική τάση (Miura *et al.*, 2001). Τα ενδοθηλιακά κύτταρα υπερπολώνονται σαν αποτέλεσμα της διάνοιξης των διαύλων καλίου και το ηλεκτρικό φορτίο που απαιτείται για την είσοδο του ασβεστίου στο κύτταρο σχηματίζεται. Μόλις το ασβέστιο μπει στο κύτταρο, προκαλεί την παραγωγή NO ενεργοποιώντας την ενδοθηλιακή συνθάση του NO (Joannides *et al.*, 1995). Μετά από μερικά λεπτά, άλλοι μηχανισμοί που ωθούνται από τη διατμηματική τάση ενεργοποιούν την ενδοθηλιακή συνθάση του NO μέσω φωσφορυλίωσης από την πρωτεϊνική κινάση σερίνης-θρεονίνης, με αποτέλεσμα την συνεχή παραγωγή και απελευθέρωση NO παρά τα χαμηλά επίπεδα του ενδοκυττάρου ασβεστίου (Corson *et al.*, 1996, Dimmeler *et al.*, 1999). Υπάρχουν μελέτες που δείχνουν την ύπαρξη μέτριας γενετικής επίδρασης στο FMD της βραχιόνιας αρτηρίας, ανεξάρτητα από την παρουσία των παραδοσιακών παραγόντων κινδύνου για στεφανιαία νόσο (Suzuki *et al.*, 2007, Zhao *et al.*, 2007).

Αφού εκτιμηθεί το FMD, χορηγούνται νιτρώδη υπογλωσσίως και η απεικόνιση επαναλαμβάνεται, προκειμένου να υπολογιστεί η ανεξάρτητη από τη ροή αγγειοδιαστολή. Τα νιτρώδη είναι χορηγοί NO, απελευθερώνοντας άμεσα NO στην κυκλοφορία με συνακόλουθη αύξηση του cGMP στις αγγειακές λείες μυϊκές ίνες και προκαλώντας έτσι αγγειοδιαστολή που είναι ανεξάρτητη από την ενδοθηλιακή αντίδραση (Celermajer *et al.*, 1992). Πρέπει να περάσουν τουλάχιστο 10 λεπτά μετά τη διαδικασία του FMD προκειμένου να υπολογιστεί η ανεξάρτητη από το ενδοθήλιο αγγειοδιαστολή. Στη συνέχεια, χορηγούνται στον ασθενή 0.4 mgf νιτρογλυκερίνης είτε σε σπρέι ή ως υπογλώσσιο δισκίο και μετά μετράται υπερηχογραφικά η διάμετρος της βραχιόνιας αρτηρίας. Η μέγιστη αγγειοδιαστολή συμβαίνει

σε 3 με 4 λεπτά μετά από τη χορήγηση των νιτρωδών (Corretti *et al.*,2002, Uehata *et al.*,1997). Η % διαφορά μεταξύ της βασικής διαμέτρου και της μέγιστης διαμέτρου μετά από τη χορήγηση νιτρωδών αποτελεί την ενδοθηλιο-ανεξάρτητη αγγειοδιαστολή (NMD; nitrate-mediated vasodilation):

$$\text{NMD} = \left[ \frac{(\text{διάμετρος μετά τα νιτρώδη} - \text{βασική διάμετρος})}{\text{βασική διάμετρος}} \right] \times 100$$

### **Προγνωστική αξία FMD**

Η αγγειοδιαστολή δια της ροής (FMD) της βραχιόνιας αρτηρίας έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στην κλινική έρευνα, γιατί επιτρέπει την επαναλαμβανόμενη εκτίμηση στον ίδιο ασθενή, καθώς και σε παιδιά, και τη μελέτη μεγάλου αριθμού ασθενών. Επίσης, επιτρέπει την εκτίμηση της επίδρασης των αλλαγών του τρόπου ζωής και διαφόρων φαρμακευτικών παρεμβάσεων στην ενδοθηλιακή βιολογία, ακόμη και σε πρώιμα, προκλινικά στάδια, όταν η διαδικασία της αθηροσκλήρωσης είναι ακόμη αναστρέψιμη (Woo *et al.*, 2004).

Διάφορες κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία αναπτύσσεται από την πρώτη δεκαετία της ζωής, μετά από την επίδραση γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων (Golding *et al.*,2001, Vita *et al.*,2004). Η παρατήρηση αυτή συμπληρώνει τα αποτελέσματα πειραματικών μελετών, που δείχνουν ότι η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία είναι ο αιτιολογικός παράγοντας της εγκατάστασης και εξέλιξης της αθηροσκλήρωσης (Deanfield *et al.*, 2007). Σε ένα μεγάλο πληθυσμό νεαρών ενηλίκων (Juonala *et al.*, 2004) παρατηρήθηκε ισχυρή ανάστροφη σχέση μεταξύ του FMD και δομικών αρτηριακών αλλοιώσεων (με μέτρηση καρωτιδικού πάχους έσω-μέσου χιτώνα, intima-media thickness, IMT), μετά από πολυπαραγοντική προσαρμογή για παραδοσιακούς παράγοντες κινδύνου. Η σχέση αυτή ήταν πιο έντονη στα άτομα με το χειρότερο FMD, γεγονός που υποστηρίζει τη συμπληρωματική χρήση δοκιμασιών ενδοθηλιακής λειτουργίας και δομικών μετρήσεων για το χαρακτηρισμό πρώιμης νόσου.

Το μειωμένο FMD της βραχιόνιας αρτηρίας έχει συσχετιστεί με τη καρδιαγγειακή νόσο και τους παράγοντες κινδύνου γι αυτή. Οι Celermajer *et al.* (1994), μελετώντας περισσότερα από 500 υγιή άτομα χρησιμοποιώντας υπερηχογραφία της βραχιόνιας αρτηρίας, συμπέραναν ότι η μείωση του FMD σχετιζόταν με ποικίλους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου, όπως το

κάπνισμα, ο σακχαρώδης διαβήτης, η προχωρημένη ηλικία και η δυσλιπιδαιμία. Από τότε, διάφορες στρατηγικές αναστροφής της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας έχουν χρησιμοποιηθεί σε μεγάλο εύρος ασθενών με αγγειακή νόσο, χρησιμοποιώντας φαρμακευτικούς παράγοντες όπως υπολιπιδαιμικά (Treasure *et al.*, 1995), αντιυπερτασικά (Mancini *et al.*, 1996) και αντιδιαβητικά δισκία (Sidhu *et al.*, 2004), θεραπεία με οιστρογόνα (Lieberman *et al.*, 1994), διαιτητικούς παράγοντες, όπως η L-αργινίνη (Clarkson *et al.*, 1996), καθώς και αλλαγές του τρόπου ζωής (Woo *et al.*, 2004). Μερικοί από τους παράγοντες αυτούς έχει δείχτει ότι έχουν άμεση δράση στο ενδοθήλιο, που είναι ανεξάρτητη από την επίδρασή τους στους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου, όπως για παράδειγμα οι γλιταζόνες στο ενδοθήλιο μη διαβητικών, στεφανιαίων ασθενών (Sidhu *et al.*, 2004) και οι ανταγωνιστές ασβεστίου σε νορμοτασικά, δυσλιπιδαιμικά άτομα (Verhaar *et al.*, 1999).

Το FMD της βραχιόνιας αρτηρίας παρέχει ακόμη σημαντικές διαγνωστικές και προγνωστικές πληροφορίες σε ασθενείς είτε με εγκατεστημένη στεφανιαία νόσο ή με κίνδυνο για ανάπτυξη στεφανιαίας νόσου. Όπως έχουν δείξει οι Enderle *et al.* (1998), οι οποίοι μελέτησαν 122 ασθενείς με υποψία στεφανιαίας νόσου, τόσο με εκτίμηση του FMD όσο και με καρδιακό καθετηριασμό, FMD μικρότερο του 4,5% παρουσίαζε ευαισθησία, ειδικότητα και θετική προγνωστική αξία 71%, 81% και 95% αντίστοιχα για τη διάγνωση της στεφανιαίας νόσου. Στην ίδια μελέτη, το μειωμένο FMD είχε περίπου την ίδια ευαισθησία με τη δοκιμασία κοπώσεως στην ανίχνευση στεφανιαίας νόσου και ήταν πιο ειδικό για τη διάγνωσή της από τη δοκιμασία κοπώσεως ή την ασταθή στηθάγχη (Schroeder *et al.*, 1999). Σε μία άλλη μελέτη (Kuvin *et al.*, 2001), FMD μεγαλύτερο από 10% φάνηκε να έχει αρνητική προγνωστική αξία της τάξης του 95% για ισχαιμία, όπως αυτή ανιχνεύτηκε με απεικόνιση μυοκαρδιακής έγχυσης κατά την κόπωση. Τέλος, οι Takase *et al.* (1998) συνέκριναν το FMD της βραχιόνιας αρτηρίας με την στεφανιαία ενδοθηλιακή λειτουργία, μετρούμενη αγγειογραφικά μετά από έγχυση αδενοσίνης, σε 15 ασθενείς με υποψία στεφανιαίας νόσου. Βρέθηκε ότι υπάρχει ισχυρή συσχέτιση μεταξύ διαταραγμένου στεφανιαίου και βραχιονίου FMD ( $r=0.78$ ,  $p<0.001$ ), υποδεικνύοντας ότι το FMD της βραχιόνιας αρτηρίας μπορεί να αποτελέσει ένα μη επεμβατικό μέσο εκτίμησης της στεφανιαίας ενδοθηλιακής λειτουργίας.

Σε ασθενείς με εγκατεστημένη αθηροσκλήρωση, μειωμένη αγγειοδιαστολή μετά από ενεργοποίηση του ενδοθηλίου μπορεί να συμβάλλει σε παροδική μυοκαρδιακή ισχαιμία και ασταθή στηθάγχη (van Boven 1996). Σχετίζεται επίσης με αλλαγές στη σύνθεση και τη βιολογία της πλάκας, γεγονός που μπορεί να επηρεάσει τη σταθερότητά της (Crisby *et al.*, 2001).

Με βάση τα συμπεράσματα που προαναφέρθηκαν, το FMD της βραχιόνιας αρτηρίας μπορεί να θεωρηθεί ως ένας πρώιμος, τροποποιούμενος παράγοντας κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο (Faulx *et al.*, 2003), καθώς αντανakλά σε σημαντικό βαθμό την αγγειακή βιολογία, σχετίζεται με την έκταση της νόσου και την έκβαση, καθώς και με την ανταπόκριση στις διάφορες παρεμβάσεις.

Αν και οι μελέτες που εξετάζουν την κλινική επίπτωση της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας έχουν επικεντρωθεί κυρίως στον έλεγχο ασθενών με εγκατεστημένη αθηροσκλήρωση, φαίνεται ότι η κύρια αξία της μεθόδου και της μελέτης των διαφόρων παρεμβάσεων έγκειται στα προωιότερα στάδια της νόσου. Σε προχωρημένη αθηροσκλήρωση συμμετέχουν ποικίλοι μηχανισμοί και η έκβαση εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, πολλοί από τους οποίους δεν έχουν ταυτοποιηθεί (Deanfield *et al.*, 2007). Πράγματι, σε μια μικρή μετα-ανάλυση, η σχέση μεταξύ του FMD και του καρδιαγγειακού κινδύνου ήταν πιο εμφανής σε χαμηλού κινδύνου πληθυσμούς (Witte *et al.*, 2005).

### ***Περιορισμοί της μεθόδου FMD***

Η εκτίμηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας με τη μέθοδο της αγγειοδιαστολής δια της ροής έχει συμβάλλει σημαντικά στη μελέτη της διαδικασίας της αθηροσκλήρωσης. Παρ' όλα αυτά, η τεχνική δεν είναι ακόμη κατάλληλη για χρήση στην καθημερινή κλινική πράξη, διότι υπάρχουν ορισμένοι περιορισμοί που πρέπει να ξεπεραστούν. Αυτοί αφορούν κυρίως την έλλειψη ομόφωνου ορισμού φυσιολογικού FMD καθώς και την ποικιλία μεταξύ των διαφόρων ερευνητικών κέντρων τόσο στη διαδικασία της τεχνικής όσο και στην ανάλυση της εικόνας (Faulx *et al.*, 2003).

Τεχνικώς, η μέτρηση της διαμέτρου της βραχιόνιας αρτηρίας μπορεί να είναι δύσκολη, ιδίως σε παχύσαρκα άτομα ή παιδιατρικούς ασθενείς και εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τον χειριστή. Ακόμη, ιδιαίτερη σημασία έχει ο χρόνος της απεικόνισης. Κατά συνθήκη, οι περισσότεροι συγγραφείς λαμβάνουν το FMD εξήντα δευτερόλεπτα μετά την απελευθέρωση της περιχειρίδας (Faulx *et al.*, 2003, Deanfield *et al.*, 2007). Ωστόσο, οι περιορισμοί αυτοί μπορούν να ξεπεραστούν με την εξέλιξη της τεχνολογίας, καθώς καινούρια συστήματα επιτρέπουν τη συνεχή καταγραφή ροής και διαμέτρου, διευκολύνοντας έτσι την ανίχνευση της μέγιστης αγγειακής διαμέτρου και ελαχιστοποιώντας την επίδραση του χειριστή (Woodman *et al.*, 2001).

Επιπλέον, η θέση της περίσφιξης μπορεί να επηρεάσει την ένταση του FMD παράγοντάς το με διαφορετικούς μηχανισμούς. Έτσι, το FMD βρέθηκε μεγαλύτερο όταν η περιχειρίδα τοποθετήθηκε στον εγγύς βραχίονα παρά στον πήχη. Η εξήγηση αυτού του φαινομένου δεν είναι γνωστή, αν και μερικοί συγγραφείς υποθέτουν ότι ο όγκος των ιστών που γίνεται ισχαιμικός – και που είναι μεγαλύτερος όταν η περιχειρίδα τοποθετείται στο βραχίονα - μπορεί να οφείλεται για την αύξηση του FMD (Berry *et al.*, 2000). Επομένως, όταν ερμηνεύονται αποτελέσματα μελετών με FMD, η θέση της περίσφιξης θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη.

Επίσης η ηλικία, το φύλο, η φυλή, η ύπαρξη ή όχι εμμηνόπαυσης καθώς και περιβαλλοντικοί ή φυσιολογικοί παράγοντες, όπως η άσκηση, η κατανάλωση φαγητού ή καφεΐνης ή αλλαγές στη θερμοκρασία μπορούν να επηρεάσουν την ένταση του FMD (Deanfield *et al.*, 2007). Το FMD καθορίζεται ακόμη από το μέγεθος της προΐσχαιμικής αγγειοδιαστολής (Mitsell *et al.*, 2005).

Τέλος, το FMD της βραχιόνιας αρτηρίας, αν και είναι ο κύριος ρυθμιστής της αγγειακής ομοιοστασίας, αντανακλά μόνο μία όψη της ενδοθηλιακής λειτουργίας. Όπως έχουν δείξει αρκετές μελέτες, άλλοι δείκτες ενδοθηλιακής λειτουργίας, όπως δείκτες φλεγμονής και θρόμβωσης, εκφράζονται ποικιλοτρόπως σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις και αντιδρούν διαφορετικά από ότι το FMD σε θεραπευτικές παρεμβάσεις (Koh *et al.*, 2001, Rajagopalan *et al.*, 2002). Επομένως, μια συνολική προσέγγιση που θα περιλαμβάνει μετρήσεις γενετικής προδιάθεσης, παραγόντων κινδύνου, ενδοθηλιακής λειτουργίας και δομικής αρτηριακής νόσου φαίνεται ότι είναι ο καλύτερος τρόπος εκτίμησης της βαρύτητας της νόσου, καθώς και της επίδρασης των διαφόρων θεραπευτικών παρεμβάσεων (Deanfield *et al.*, 2007).

## **1.5. ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΕΣ ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΤΗΣ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ**

Η τρέχουσα έρευνα ελέγχει στρατηγικές που θα μπορούσαν να βελτιώσουν την ενδοθηλιακή λειτουργία. Πράγματι, μελέτες έχουν δείξει ότι η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, τόσο σε μοντέλα ζώων όσο και στον άνθρωπο, μπορεί να περιοριστεί με μία ποικιλία παρεμβάσεων, που αφορούν κυρίως τη μείωση των γνωστών παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου (Hirata *et al.*, 2010). Αν οι στρατηγικές αυτές εφαρμοστούν πρώιμα στην πορεία της νόσου είναι πιθανό να προληφθεί ή και να αναστραφεί η διαδικασία της αθηρογένεσης. Ακόμα και σε προχωρημένη νόσο, η τροποποίηση της στεφανιαίας ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας



μπορεί να μειώσει την τάση για αγγειοσύσπαση, θρόμβωση ή και τα δύο και επομένως να μειώσει τον κίνδυνο οξέων καρδιαγγειακών συμβαμάτων (Celermajer *et al.*,1997).

### **1.5.1 Μη φαρμακευτικές παρεμβάσεις**

#### **1.5.1.1 Διακοπή του καπνίσματος.**

Το κάπνισμα ασκεί δυσμενή, αναστρέψιμη επίδραση στη λειτουργία του ενδοθηλίου. Όπως έδειξαν οι Celermajer *et al* (1993), το FMD είναι καλύτερο σε άνδρες πρώην καπνιστές σε σύγκριση με ενεργούς καπνιστές, ενώ και οι δύο ομάδες είχαν χειρότερο FMD σε σύγκριση με μη καπνιστές. Επιπλέον, ο κίνδυνος εκδήλωσης εμφράγματος του μυοκαρδίου των ανδρών καπνιστών ελαττώθηκε μέσα σε λίγα χρόνια από τη διακοπή του καπνίσματος στα επίπεδα κινδύνου των ανδρών που δεν κάπνισαν ποτέ (Rosenberg *et al.*,1985). Νεότερη μελέτη των Johnson *et al* (2010) έδειξε ότι η διακοπή του καπνίσματος για ένα χρόνο βελτίωσε σημαντικά το FMD, παρά την αύξηση του σωματικού βάρους που σημειώθηκε. Παρόμοια ήταν τα ευρήματα μελέτης του Cho (2012) σε νοσηλευόμενους ασθενείς με στηθάγχη, των οποίων το FMD επίσης βελτιώθηκε τρεις μήνες μετά τη διακοπή του καπνίσματος.

#### **1.5.1.2 Μείωση σωματικού βάρους**

Η μείωση του σωματικού βάρους έχει δείξει ότι βελτίωσε την ενδοθηλιακή λειτουργία σε παχύσαρκους, στεφανιαίους ασθενείς (Ziccardi *et al.*,2002). Η βελτίωση αυτή θεωρείται ότι οφείλεται στην μείωση των παραγόντων κινδύνου, που συνοδεύουν την παχυσαρκία, αλλά και στη μειωμένη παραγωγή κυττοκινών από το λιπώδη ιστό (Ziccardi *et al.*,2002, Hirata *et al.*,2010).

#### **1.5.1.3 Δίαιτα πτωχή σε χοληστερόλη.**

Οι Ohara *et al* (1993) έδειξαν ότι η χορήγηση λίπους με τη δίαιτα προκάλεσε διαταραχή της ενδοθηλιοεξαρτώμενης αγγειοχάλασης και αύξησε την παραγωγή περοξειδίου από το ενδοθήλιο της αορτής κουνελιών. Αντίθετα, η μείωση της διαιτητικής πρόσληψης χοληστερόλης όχι μόνο βελτίωσε την ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή, αλλά μείωσε και την ενδοθηλιακή παραγωγή περοξειδίου (Ohara *et al.*,1995).

#### **1.5.1.4 Περιορισμός της διαιτητικής πρόσληψης άλατος**

Όπως είναι γνωστό, η πρόσληψη άλατος αυξάνει την αρτηριακή πίεση, η οποία συνοδεύεται από ενδοθηλιακή δυσλειτουργία (Hirata *et al.*,2010). Πράγματι, in vitro μελέτη

έδειξε ότι όταν η εξωκυττάρια συγκέντρωση νατρίου σε καλλιέργειες ενδοθηλιακών κυττάρων αυξήθηκε από 135 σε 145 mM, αυξήθηκε παράλληλα και η σκληρότητα αυτών, που αποδόθηκε σε μειωμένη παραγωγή NO (Oberleithner *et al.*, 2007).

#### **1.5.1.5 Σωματική άσκηση.**

Η άσκηση παίζει πρωτεύοντα ρόλο τόσο στην πρωτογενή όσο και στη δευτερογενή πρόληψη της στεφανιαίας νόσου. Επιδημιολογικές μελέτες δείχνουν σχεδόν τη μισή επίπτωση στεφανιαίας νόσου σε δραστήρια άτομα από ότι σε αυτά με μειωμένη φυσική δραστηριότητα. Ο καθιστικός τρόπος ζωής θεωρείται ως ένας από τους πιο σημαντικούς, τροποποιήσιμους παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακή νοσηρότητα και θνησιμότητα (Leung *et al.*, 2008, Yung *et al.*, 2009).

Όσον αφορά την ενδοθηλιακή λειτουργία, η συστηματική αύξηση φαίνεται ότι έχει θετική επίδραση στο FMD (Jennings *et al.*, 1997, Clarkson *et al.*, 1999). Αυτή αποδίδεται κυρίως στην αύξηση της παραγωγής NO, η οποία προκαλείται από την αυξημένη τάση τριβής στο αγγειακό τοίχωμα λόγω της αυξημένης αιματικής ροής κατά την άσκηση. Επίσης, η άσκηση θεωρείται ότι μειώνει το οξειδωτικό στρες και αυξάνει τον αριθμό των αρχέγονων ενδοθηλιακών κυττάρων (Hirata *et al.*, 2010). Πράγματι, οι Kelishadi *et al* (2007), μετά από έξι εβδομάδων δίαιτα και άσκηση σε παχύσαρκα παιδιά, παρατήρησαν βελτίωση του FMD. Σε μια άλλη μελέτη ασθενών με περιορισμένη σωματική δραστηριότητα εξαιτίας συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας (Homing *et al.*, 1996), η συστηματική άσκηση με χειρόσφιξη επί τέσσερις εβδομάδες βελτίωσε το FMD στο ασκούμενο άκρο, πιθανότατα μέσω της αύξησης της παραγωγής NO από το ενδοθήλιο.

## **1.5.2 Φαρμακευτικές παρεμβάσεις**

### **1.5.2.1 Υπολιπιδαιμικοί παράγοντες**

Οι στατίνες, αναστολείς της HMG Co ρεντουκτάσης, που χρησιμοποιούνται για τη μείωση των ισχαιμικών εγκεφαλικών και καρδιακών επεισοδίων, έχει δείχτεί ότι βελτιώνουν επίσης την ενδοθηλιακή λειτουργία σε ασθενείς με δυσλιπιδαιμία (Hirata *et al.*, 2010). Η βελτίωση στο FMD, που παρατηρείται 2-12 εβδομάδες από τη χορήγηση της στατίνης, δεν συμβαίνει παράλληλα με τη μείωση της χοληστερόλης, αλλά φαίνεται ότι είναι πολυπαραγοντικό αποτέλεσμα (Hirata *et al.*, 2010). Έτσι, οι Treasure *et al* (1995) έδειξαν ότι η υπολιπιδαιμική θεραπεία ελαττώνει την επίπτωση των οξέων στεφανιαίων συμβαμάτων, ακόμα και όταν απουσιάζουν αγγειογραφικές ενδείξεις υποστροφής της αθηροσκλήρωσης. Θεώρησαν ότι η

αποκατάσταση της στεφανιαίας ενδοθηλιακής λειτουργίας είναι πιο σημαντική για τη βελτίωση της κλινικής έκβασης από ότι η ελάττωση του βαθμού της στένωσης. Οι Tamai *et al* (1997) έδειξαν ότι η βραχιόνια αγγειοδιασταλτική λειτουργία βελτιώθηκε εντός ολίγων ωρών από τη διενέργεια πλασμαφαίρεσης σε ασθενείς με οικογενή υπερχολεστερολαιμία. Επίσης, οι Anderson *et al* (1995) μελέτησαν το συνδυασμό υπολιπιδαιμικής και αντιοξειδωτικής θεραπείας (με λοβαστατίνη και προμπουκόλη, αντίστοιχα) στη στεφανιαία ενδοθηλιακή λειτουργία. Ενώ η μείωση της LDL-χοληστερόλης συνέβαλε στη βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας, ο συνδυασμός λοβαστατίνης και προμπουκόλης επανέφερε την ενδοθηλιακή λειτουργία σχεδόν σε φυσιολογικά επίπεδα. Επίσης, η βελτίωση της ενδοθηλιακής ανταπόκρισης κατά τη διάρκεια της μελέτης συσχετίστηκε στενά με την αντίσταση στην οξείδωση της LDL-c (Anderson 1996). Επιπλέον, όπως έδειξαν οι VanBoven *et al.* (1996) και Andrews *et al.*(1997), η υπολιπιδαιμική θεραπεία δεν βελτιώνει μόνο τη στεφανιαία ενδοθηλιακή λειτουργία σε δυσλιπιδαιμικά άτομα, αλλά φαίνεται ότι ελαττώνει σημαντικά τον αριθμό και τη διάρκεια των παροδικών μυοκαρδιακών ισχαιμικών επεισοδίων. Τέλος, η χορήγηση ατορβαστατίνης αποκατέστησε την ενδοθηλιακή λειτουργία σε υγιείς καπνιστές (Agewall, Hernberg 2006), ενώ σε δυσλιπιδαιμικούς ασθενείς η βελτίωση του FMD διήρκεσε μόνο 36 ώρες μετά τη διακοπή του φαρμάκου (Tavena *et al.*, 2006). Η χορήγηση στατινών βελτίωσε την ενδοθηλιακή λειτουργία και σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου I και μικροαλβουμινουρία (Dogra *et al.*, 2005).

Η δράση αυτή των στατινών αποδίδεται στην ενεργοποίηση της οδού της PI3-κινάσης, την αυξημένη ενεργοποίηση της NOS, τη μείωση των προσκολλητικών μορίων καθώς και την αύξηση του αριθμού των αρχέγονων ενδοθηλιακών κυττάρων (Walter *et al.*,2002, Hirata *et al.*,2010).

Οι φιβράτες, οι οποίες ενεργοποιούν τους PPAR- $\alpha$  (peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$ ) υποδοχείς του αγγειακού τοιχώματος (Kersten *et al.*, 2000), φαίνεται ότι έχουν επίσης αγγειοπροστατευτική δράση, καθώς μειώνουν την αγγειακή ανάπτυξη, φλεγμονή και οξείδωση (Marx *et al.*, 2001).

### **1.5.2.2 Αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης ( $\alpha$ -MEA), AT1-αναστολείς**

Όπως έχουν δείξει οι Rajagopalan *et al.*, (1996), η αγγειοτενσίνη II (AgII) αυξάνει την παραγωγή περοξειδίου από το αγγειακό τοίχωμα μέσω της σύνδεσης με τον μεμβρανικό υποδοχέα NADH/NADPH. Μελέτες έχουν επίσης δείξει ότι οι  $\alpha$ -MEA βελτιώνουν την

ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή μειώνοντας τα επίπεδα της AgII, ενώ αυξάνουν την παραγωγή βραδυκινίνης και NO (Finta *et al.*, 1993, Sudhir *et al.*, 1993).

Στο άνθρωπο, η χορήγηση α-MEA βελτίωσε τη ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή, τόσο στη στεφανιαία όσο και την περιφερική κυκλοφορία (Homing *et al.*, 1997). Επίσης, σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο, η χορήγηση κιναπρίλης για έξι μήνες βελτίωσε σημαντικά την αγγειοκινητική λειτουργία του ενδοθηλίου των στεφανιαίων αρτηριών, χωρίς να ελαττώσει την αρτηριακή πίεση. Η δράση αυτή της κιναπρίλης αποδόθηκε στη μείωση της παραγωγής ανιόντων  $O_2^-$  από το αγγειακό τοίχωμα και τη μείωση του καταβολισμού της βραδυκινίνης, με αποτέλεσμα την αύξηση της απελευθέρωσης NO από τα ενδοθηλιακά κύτταρα (Mancini *et al.*, 1996). Η χορήγηση χαμηλής δόσης ενός AMEA σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου I βελτίωσε επίσης το FMD, γεγονός που αποδόθηκε στη μείωση των επιπέδων ADMA (Yazini *et al.*, 2007). Οι Yavuz *et al.* (2003) χορήγησαν AMEA ή ATI σε υπερτασικούς ασθενείς και παρατήρησαν ότι και οι δύο παράγοντες έχουν ευνοϊκή δράση στην ενδοθηλιακή λειτουργία. Ωστόσο, όπως έδειξαν οι Anderson *et al.* (1998, 2000), φαίνεται ότι υπάρχουν διαφορές μεταξύ των διαφόρων τύπων α-MEA στην αγγειοκινητική δράση. Τέλος, φαίνεται ότι οι α-MEA, πέρα από τη βελτίωση της ενδοθηλιακής φυσιολογίας, έχουν μακροπρόθεσμα αποτελέσματα, καθώς μειώνουν την επίπτωση κλινικών καρδιαγγειακών συμβαμάτων (Garg, Hassid 1995).

Οι αναστολείς των υποδοχέων της αγγειοτενσίνης I (ATI) φαίνεται επίσης ότι βελτιώνουν το FMD σε διάφορες κατηγορίες ασθενών (Benndorf *et al.*, 2007, Flammer *et al.*, 2007, Yavuz *et al.*, 2003). Η βελτίωση αυτή αποδίδεται στην αύξηση της παραγωγής NO, καθώς και την αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση των παραγόντων αυτών.

### **1.5.2.3 Αποκλειστές των διαύλων ασβεστίου.**

Σειρές μελετών (Habib *et al.*, 1986, Frielingsdorf *et al.*, 1996, Hirata *et al.*, 2010) έδειξαν ότι οι ανταγωνιστές ασβεστίου βελτιώνουν την ενδοθηλιακή λειτουργία αυξάνοντας την παραγωγή NO. Η αγγειοδιασταλτική δράση των ανταγωνιστών μειώθηκε όταν αφαιρέθηκαν τα ενδοθηλιακά κύτταρα ή χορηγήθηκε αναστολέας της NOS ή της βραδυκινίνης. Ως πιθανοί μηχανισμοί δράσης έχουν προταθεί η μείωση της αρτηριακής πίεσης, η αύξηση της αιματικής ροής καθώς και αντιοξειδωτική δράση των ανταγωνιστών ασβεστίου (Hirata *et al.*, 2010).

#### **1.5.2.4 Β-αναστολείς**

Γενικά, η ομάδα αυτή των φαρμάκων έχει ασθενή προστατευτική δράση στο ενδοθήλιο (Hirata *et al.*,2010). Ωστόσο, έχει αναφερθεί αύξηση της παραγωγής NO με κάποιους από τους παράγοντες αυτούς. Έτσι, οι Lekakis *et al* (2005) συγκρίνοντας τη δράση δύο εκλεκτικών β-1 αδρενεργικών ανταγωνιστών, της νεπιβολόλης και της ατενολόλης, στο FMD ασθενών με στεφανιαία νόσο, παρατήρησαν ότι η νεπιβολόλη, και όχι η ατενολόλη, βελτίωσε την ενδοθηλιακή λειτουργία των ασθενών αυτών, υποδεικνύοντας εκλεκτική δράση της νεπιβολόλης στο ενδοθήλιο. Επίσης, οι Bank *et al* (2007) έδειξαν ότι η καρβεντιλόλη, και όχι η μετοπρολόλη, βελτίωσε το FMD ασθενών με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2.

#### **1.5.2.5 Αναστολείς ρενίνης**

Μέχρι στιγμής, υπάρχει περιορισμένος αριθμός μελετών που όμως δείχνει προστατευτική δράση των παραγόντων αυτών στο ενδοθήλιο (Hirata *et al.*,2010). Πράγματι, μελέτη σε πειραματόζωα με τη χρήση αλισκιρένης αύξησε την παραγωγή NO, ενώ παράλληλα μείωσε την έκταση των αθηρωματικών πλακών στην αορτή (Imanishi *et al.*,2008). Μελέτες από τη δράση τους στον άνθρωπο αναμένονται σύντομα (Hirata *et al.*,2010).

#### **1.5.2.6 Αντιοξειδωτικά**

Πρόκειται για ουσίες που ελαττώνουν την τάση της LDL-c προς οξείδωση και δεσμεύουν τις ελεύθερες ρίζες στο σώμα, μειώνοντας έτσι το οξειδωτικό φορτίο του οργανισμού. *In vitro*, τα αντιοξειδωτικά μειώνουν την έκφραση των προσκολλητικών μορίων (Wu *et al.*,1999), ελαττώνουν την προσκόλληση των μονοκυττάρων στο ενδοθήλιο (Faruqi *et al.*,1994) και βελτιώνουν την ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή (Fontana *et al.*, 1999).

Στην κλινική έρευνα, μελέτες έχουν δείξει ότι η βιταμίνη C (Vitamin C) βελτιώνει άμεσα την ενδοθηλιοεξαρτώμενη αντίδραση της βραχιόνιας αρτηρίας σε ασθενείς με ποικίλους παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο (Heitzer *et al.*,1996, Solzbach *et al.*,1997, Ting *et al.*,1997). Επίσης, η από του στόματος χορήγηση μεγάλων δόσεων Vitamin C βελτιώνει το βραχιόνιο FMD σε ασθενείς με εγκατεστημένη στεφανιαία νόσο (Levine *et al.*, 1996), αν και δεν υπάρχουν μακροπρόθεσμες μελέτες που να δείχνουν διατήρηση του αποτελέσματος αυτού.

Η α-τοκοφερόλη (Vitamin E), αν και ασκεί προστατευτική δράση ενάντια στην οξειδωση της LDL-c (Jialal 1995), δεν φαίνεται επίσης να έχει μακροπρόθεσμα αποτελέσματα στην ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοδιαστολή (Gilligan *et al.*, 1994, Elliot *et al.*, 1995).

#### **1.5.2.7 Θεραπεία υποκατάστασης με οιστρογόνα**

Ο εντοπισμός οιστρογονικών υποδοχέων στα ενδοθηλιακά και τα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα πολλών θηλαστικών, όπως και του ανθρώπου (Kim-Schulze *et al.*, 1996), οδήγησε στην υπόθεση ότι η ορμόνη ενδεχομένως επηρεάζει άμεσα τη λειτουργία των αγγείων (Colburn, Buonassisi 1978, McGill, Sheridan 1981).

Πράγματι, η θεραπεία υποκατάστασης με οιστρογόνα βελτίωσε οξέως την ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοχάλαση σε σειρές μελετών, τόσο σε ζώα (Williams *et al.*, 1994) όσο και στον άνθρωπο (Gilligan *et al.*, 1994, Reis *et al.*, 1994). Οι Guetta *et al.*, (1997) έδειξαν ότι η άμεση βελτίωση των οιστρογόνων στην ενδοθηλιακή λειτουργία μερικών γυναικών είναι εξαρτώμενη από το NO, επειδή αναστέλλεται από τη χορήγηση L-NMMA. Οι Sack *et al.*, (1994) έδειξαν επίσης ότι τα οιστρογόνα ελαττώνουν την επιρρέπεια της LDL-c προς οξειδωση.

Όμως, αν και η θεραπεία υποκατάστασης με οιστρογόνα βελτιώνει την ενδοθηλιακή λειτουργία σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, καθώς και σε γυναίκες με πρόωρη ωοθηκική ανεπάρκεια (Kalantaridou *et al.*, 2006), φαίνεται ότι δεν έχει το ίδιο ευνοϊκό αποτέλεσμα στην καρδιακή νοσηρότητα και θνητότητα (Campisi *et al.*, 2002, Herrington *et al.*, 2000, Hulley *et al.*, 1998, Mosca *et al.*, 2001). Η χορήγηση βιταμίνης E φαίνεται επίσης ότι βελτιώνει την ενδοθηλιακή λειτουργία σε γυναίκες που λαμβάνουν θεραπεία υποκατάστασης με οιστρογόνα, χωρίς όμως να μειώνουν τον κίνδυνο αθηροσκλήρωσης (The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators 2000, GISSI-Prevenzione Investigators 1999). Στη μελέτη HERS (Hulley *et al.*, 1998) η θεραπεία υποκατάστασης σε γυναίκες υψηλού κινδύνου αύξησε τα καρδιαγγειακά συμβάματα, κυρίως θρομβωτικά, κατά τη διάρκεια του πρώτου χρόνου. Όπως είναι γνωστό, τα οιστρογόνα ενεργοποιούν τον PAI-1, αυξάνουν τη συσσώρευση αιμοπεταλίων και αυτή τους η δράση φαίνεται ότι υπερνικά την ευνοϊκή τους επίδραση στην ενδοθηλιακή λειτουργία (Herrington *et al.*, 2001).

Τέλος, η προσθήκη προγεστερόνης στη θεραπεία υποκατάστασης με οιστρογόνα φαίνεται επίσης ότι συσχετίζεται με ευνοϊκή επίδραση στην ενδοθηλιακή λειτουργία (McCrohon *et al.*, 1996, Gerhard *et al.*, 1996 & 1998).

### 1.5.2.8 L-αργινίνη

Όπως έδειξαν οι Sellke *et al.*, (1990) και Creager *et al.*, (1992), η βραχυπρόθεσμη παρεντερική χορήγηση L-αργινίνης σχετίζεται με βελτίωση της στεφανιαίας και περιφερικής μικροαγγειακής λειτουργίας. Επίσης, η από του στόματος χορήγηση L-αργινίνης για τέσσερις εβδομάδες σε νέα υπερχοληστερολεμικά άτομα βελτίωσε την ενδοθηλιοεξαρτώμενη αγγειοχάλαση (Clarkson *et al.*, 1996), ενώ η χορήγηση L- και D-αργινίνης βελτίωσε άμεσα την από την Ach επαγόμενη αγγειοδιαστολή της βραχιόνιας αρτηρίας (Quyyumi 1998).

Ωστόσο, μελέτες σε ζώα δείχνουν ότι η ευνοϊκή επίδραση της L-αργινίνης στην ενδοθηλιακή λειτουργία δεν διαρκεί για μεγάλο χρονικό διάστημα (Jeremy *et al.*, 1996), αν και κάποιες μελέτες δεν συμφωνούν σε αυτό το σημείο (Aji *et al.*, 1997).

### 1.5.2.9 Ερυθροποιητίνη (EPO)

Η ερυθροποιητίνη ενεργοποιεί την οδό της R13-κινάσης και αυξάνει την παραγωγή NO (Hirata *et al.*, 2010). Επιπλέον, οι Heeschen *et al.*, (2003) έδειξαν ότι τα επίπεδα της EPO στο αίμα στεφανιαίων ασθενών είναι ανάλογα με τον αριθμό των αρχέγονων ενδοθηλιακών κυττάρων. Επιπλέον, η εξωγενής χορήγηση EPO αυξάνει τον αριθμό αυτών, γεγονός που υποδεικνύει ότι η EPO διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παραγωγή των κυττάρων αυτών.

### 1.5.2.10 Άλλοι παράγοντες

Σε άτομα με σακχαρώδη διαβήτη η υπεργλυκαιμία ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση-C-β στα ενδοθηλιακά κύτταρα (Inoguchi *et al.*, 1994). Τα αποτελέσματα της υπεργλυκαιμίας μπορούν να αναστραφούν από έναν αναστολέα της πρωτεϊνικής κινάσης-C-β, τον **LY333531** (Beckman *et al.*, 2002). Έτσι, στον άνθρωπο, ο παράγοντας LY333531 βελτιώνει την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία που προκαλείται από την υπεργλυκαιμία τόσο σε άτομα με φυσιολογικά επίπεδα γλυκόζης πλάσματος όσο και σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη.

Οι Hafström *et al.*, (2007), μελετώντας την επίδραση της **πρεδνιζολόνης** στην ενδοθηλιακή λειτουργία και την αθηροσκλήρωση σε ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα, δεν παρατήρησαν θετική επίδραση στο FMD, IMT και τις αθηροσκληρωτικές πλάκες.

Η επίδραση της **σιλδεναφίλης** διερευνήθηκε σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια (Guazzi *et al.*, 2007). Έτσι, παρατηρήθηκε αύξηση του FMD με ταυτόχρονη μείωση της συστολικής πνευμονικής αρτηριακής πίεσης. Επίσης, η χορήγηση εισπνεόμενης ιλοπρόστης σε ασθενείς

με ιδιοπαθή πνευμονική υπέρταση ελάττωσε την πνευμονική αρτηριακή πίεση και αύξησε το FMD (Wolf *et al.*,2007).

Τέλος, το εκχύλισμα **Ginkgo biloba** έχει βρεθεί ότι βελτιώνει αξιολογημένα τόσο το FMD όσο και τη στεφανιαία αιματική ροή (Wu *et al.*,2007).



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2<sup>ο</sup>

# ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΤΟΥ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ II (ΣΔ2)

### 2.1 Εισαγωγή

Ο Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου II (ΣΔ2) είναι μία χρόνια μεταβολική διαταραχή, που χαρακτηρίζεται από την ύπαρξη υπεργλυκαιμίας, η οποία προκαλείται από δύο βασικές μεταβολικές διαταραχές, την αντίσταση στην ινσουλίνη και την ανεπαρκή έκκριση ινσουλίνης από το πάγκρεας (DeFronzo 1997). Η αντίσταση στην ινσουλίνη εκδηλώνεται τόσο σε περιφερικό επίπεδο (μυϊκός και λιπώδης ιστός), όσο και στο ήπαρ και μπορεί να οριστεί ως απουσία ανταπόκρισης σε μία ή περισσότερες από τις βιολογικές δράσεις της ινσουλίνης (διαταραχή στο μεταβολισμό των υδατανθράκων, λιπώδους ιστού και πρωτεϊνών), (DeFronzo 1988). Πρόκειται για μία ανωμαλία που εμφανίζεται πολύ πρώιμα στη φυσική ιστορία του ΣΔ2 και κατά κανόνα εξακολουθεί να υφίσταται σε όλη τη διάρκεια της διαταραχής αυτής (DeFronzo 1977, 1988).

Τα διαγνωστικά κριτήρια του ΣΔ2 ορίστηκαν αρχικά από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (World Health Organization, WHO) το 1965 και στη συνέχεια από το Εθνικό Συμβούλιο Πληροφοριών για το Διαβήτη (National Diabetes Data Group, NDDG) το 1979. Οι τελευταίες οδηγίες δημοσιεύτηκαν από το Διεθνές Συμβούλιο Ειδικών (International Expert Committee) το 2009, το οποίο αποτελούσαν εκπρόσωποι της Αμερικανικής Ένωσης για το Διαβήτη (American Diabetes Association, ADA), της Διεθνούς Ομοσπονδίας για το Διαβήτη (International Diabetes Federation, IDF) και της Ευρωπαϊκής Ένωσης για τη Μελέτη του Διαβήτη (European Association for the Study of Diabetes, EASD) (ADA 2011).

Σύμφωνα με τους παραπάνω οργανισμούς, η διάγνωση του ΣΔ 2 τίθεται όταν ισχύει τουλάχιστον ένα από τα παρακάτω κριτήρια:

α) τυχαία ανεύρεση γλυκόζης πλάσματος  $\geq 200$  mg/dl σε συμπτωματικό ασθενή (πολυουρία, πολυδιψία, απώλεια βάρους κτλ), ή

β) γλυκόζη πλάσματος νηστείας  $\geq 126$  mg/dl (μετά από νηστεία 8 ωρών), σε τουλάχιστο δύο διαφορετικές μετρήσεις, ή

γ) γλυκόζη πλάσματος 2 ωρών  $\geq 200$  mg/dl σε OGGT με 75 gr γλυκόζης, ή

δ) HbA<sub>1c</sub>  $\geq 6.5\%$ . Η μέτρηση πρέπει να γίνει με τη μέθοδο που έχει πιστοποιηθεί από το National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) και τιτλοποιηθεί σύμφωνα με τις αρχές της Diabetes Control and Complications Trial (DCCT).

## 2.2 ΜΕΤΑΒΙΒΑΣΗ ΤΟΥ ΣΗΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΔΡΑΣΕΙΣ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ

### 2.2.1 Βιολογικές δράσεις ινσουλίνης

Η ινσουλίνη είναι μία ισχυρή αναβολική ορμόνη, που δρα κυρίως στο ήπαρ, το λιπώδη ιστό και τους σκελετικούς μύες (Ferrannini, DeFronzo 2004) και είναι απαραίτητη για τη διατήρηση της ομοιοστασίας της γλυκόζης, καθώς και τη ρύθμιση του μεταβολισμού των υδατανθράκων, λιπιδίων και πρωτεϊνών (Saltiel, Kahn 2001), (Εικόνα 2.1). Πιο ειδικά, η ινσουλίνη δρα ως εξής:

α) αυξάνει την πρόσληψη γλυκόζης από τους σκελετικούς μύες, ενώ παράλληλα καταστέλλει την παραγωγή γλυκόζης στο ήπαρ, μέσω της προαγωγής της σύνθεσης γλυκογόνου και της αναστολής της γλυκογονόλυσης και γλυκονεογένεσης (Li, Zhang 2007). Συντελεί ακόμη στην οξείδωση της γλυκόζης και την απόδοση ενέργειας στη μορφή του ATP (Cersosimo, DeFronzo 2006). Πιο ειδικά, σε κατάσταση νηστείας περίπου το 85% της ενδογενούς παραγωγής γλυκόζης γίνεται από το ήπαρ (γλυκογονόλυση και γλυκονεογένεση) και το υπόλοιπο από τους νεφρούς (DeFronzo 1997, Cersosimo *et al.*, 1999, Ekberg *et al.*, 1999). Η γλυκόζη αυτή διατίθεται κατά 75% στους μη εξαρτώμενους από την ινσουλίνη ιστούς (50% στον εγκέφαλο και 25% σε γαστρεντερικό σύστημα). Το υπόλοιπο 25% χρησιμοποιείται από τους ινσουλινοεξαρτώμενους ιστούς, ιδιαίτερα από τους μύες (DeFronzo *et al.*, 1985, Grill 1990).

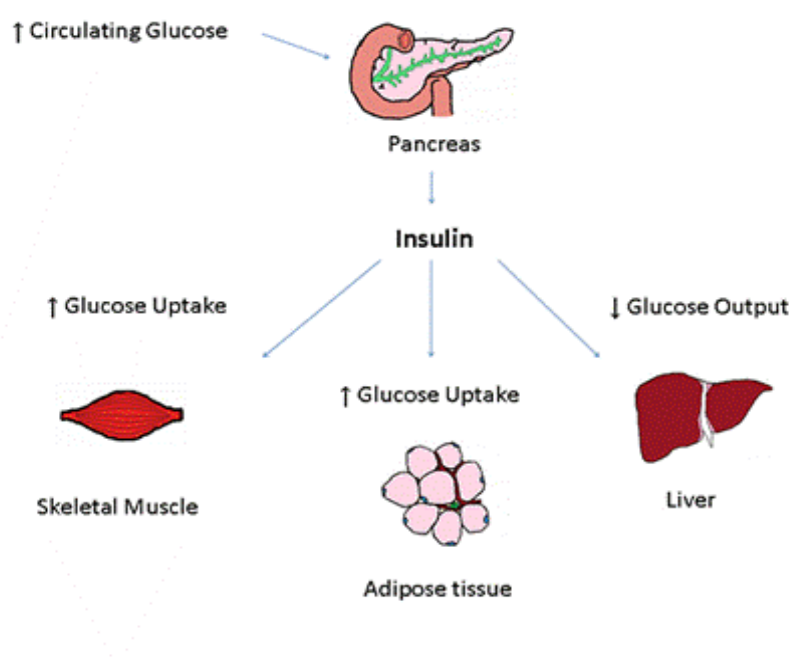
Μετά από τη λήψη γλυκόζης, η κατανομή της στους ιστούς μεταβάλλεται. Η υπεργλυκαιμία διεγείρει την έκκριση ινσουλίνης από το πάγκρεας, η οποία προκαλεί την πρόσληψη της γλυκόζης κυρίως από τους μύες (~80-85%), αλλά και το ήπαρ και την καταστολή της ενδογενούς παραγωγής γλυκόζης (DeFronzo 1997).

β) Στο λιπώδη ιστό, η ινσουλίνη αποτελεί ισχυρό αναστολέα της λιπόλυσης και της απελευθέρωσης ελεύθερων λιπαρών οξέων στην κυκλοφορία (Botion, Green 1999,

Rosenstock *et al.*,2001). Αντίθετα, συμβάλει στη λιπογένεση, αυξάνοντας τη διαθεσιμότητα των ελεύθερων λιπαρών οξέων στο ήπαρ, τη σύνθεση τριγλυκεριδίων και την αποθήκευσή τους στο λιπώδη ιστό, μέσω της ενεργοποίησης των ενζύμων της λιπογένεσης (συνθάση λιπαρών οξέων, ακετυλ-CoA καρβοξυλάση), (Cersosimo, DeFronzo 2006).

γ) αυξάνει τη σύνθεση πρωτεϊνών και εμποδίζει την πρωτεϊνόλυση (Cersosimo, DeFronzo 2006).

Σχηματικά, οι δράσεις της ινσουλίνης στο φυσιολογικό άτομο αποδίδονται ως εξής:



**Εικόνα 2.1:** Φυσιολογικές δράσεις ινσουλίνης.

Cohen 2012, [www.endotext.org](http://www.endotext.org).

## 2.2.2 Μεταβίβαση του σήματος της ινσουλίνης

### Υποδοχέας ινσουλίνης

Οι βιολογικές δράσεις της ινσουλίνης πραγματοποιούνται μέσω ειδικών μεμβρανικών υποδοχέων αυτής, που εκφράζονται σχεδόν σε κάθε κύτταρο του σώματος (Muniyappa *et*

*al.*,2007). Η σύνδεση της ινσουλίνης με τον υποδοχέα της επάγει την ενεργοποίηση ενός σύνθετου δικτύου μεταβίβασης σήματος, που ρυθμίζει διάφορες κυτταρικές λειτουργίες (Saltiel, Kahn 2001).

Ο υποδοχέας της ινσουλίνης (Insulin Receptor, IR) είναι ένα ετεροτετραμερές, που αποτελείται από δύο εξωκυττάρια α-υποομάδες και δύο διαμεμβρανικές β-υποομάδες (Li, Zhang 2007). Όταν η ινσουλίνη συνδεθεί με την α-υποομάδα του υποδοχέα, ενεργοποιείται η τυροσινική κινάση που συγγενεύει με τη β-υποομάδα αυτού. Αυτή, με τη σειρά της, φωσφορυλιώνει ομάδες ενδοκυττάρια δομικών πρωτεϊνών, που αποτελούν το υπόστρωμα του υποδοχέα της ινσουλίνης (IR substrate, IRS και Shc πρωτεΐνες) και χρησιμεύουν για την ενδοκυττάρια μεταβίβαση του σήματος (Muniyappa *et al.*,2007). Έτσι, ξεκινά ένας καταρράκτης φωσφορυλιώσεων και αποφωσφορυλιώσεων, που έχει ως αποτέλεσμα την επίτευξη των πλειοτρόπων δράσεων της ινσουλίνης (Kim *et al.*,2006).

Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί τέσσερις τύποι IRS πρωτεϊνών, οι οποίοι εμφανίζουν υψηλή ομολογία και αλληλοεπικάλυψη, καθώς και διαφορετική κατανομή στους ιστούς (Li, Zhang 2007). Από αυτούς, ο IRS-1 εντοπίζεται κυρίως στους σκελετικούς μύες, ενεργοποιεί τη φωσφατιδυλινοζιτολ-3 κινάση [phosphatidylinositol (PI)-3 kinase, PI-3 K] και επάγει τις δράσεις της ινσουλίνης στο μεταβολισμό της γλυκόζης (μεταφορά γλυκόζης και σύνθεση γλυκογόνου). Στο ήπαρ επικρατεί ο IRS-2 τύπος (De Fronzo 2010).

### **2.2.3 Οδοί δράσης της ινσουλίνης**

Γενικά, υπάρχουν δύο κύριες οδοί δράσης της ινσουλίνης, η οδός της PI-3 K, μέσω της οποίας πραγματοποιούνται οι μεταβολικές δράσεις της ινσουλίνης και η οδός της MAPK-κινάσης, η οποία είναι υπεύθυνη για τις μιτογόνες και αυξητικές δράσεις της ινσουλίνης (Εικόνα 2.2). Οι δύο αυτές οδοί, όπως θα περιγραφεί παρακάτω, έχουν πολύ σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της καρδιαγγειακής ομοιοστασίας (Muniyappa *et al.*,2007).

#### ***Οδός της PI-3 K***

Η οδός της PI-3 K χρησιμεύει για την πρόσληψη γλυκόζης από τα μυϊκά κύτταρα και τα λιποκύτταρα (μέσω των GLUT4 υποδοχέων), τη φωσφορυλίωσή της (μέσω της εξωκινάσης II), τη σύνθεση γλυκογόνου (μέσω της συνθάσης του γλυκογόνου) και τη ρύθμιση της

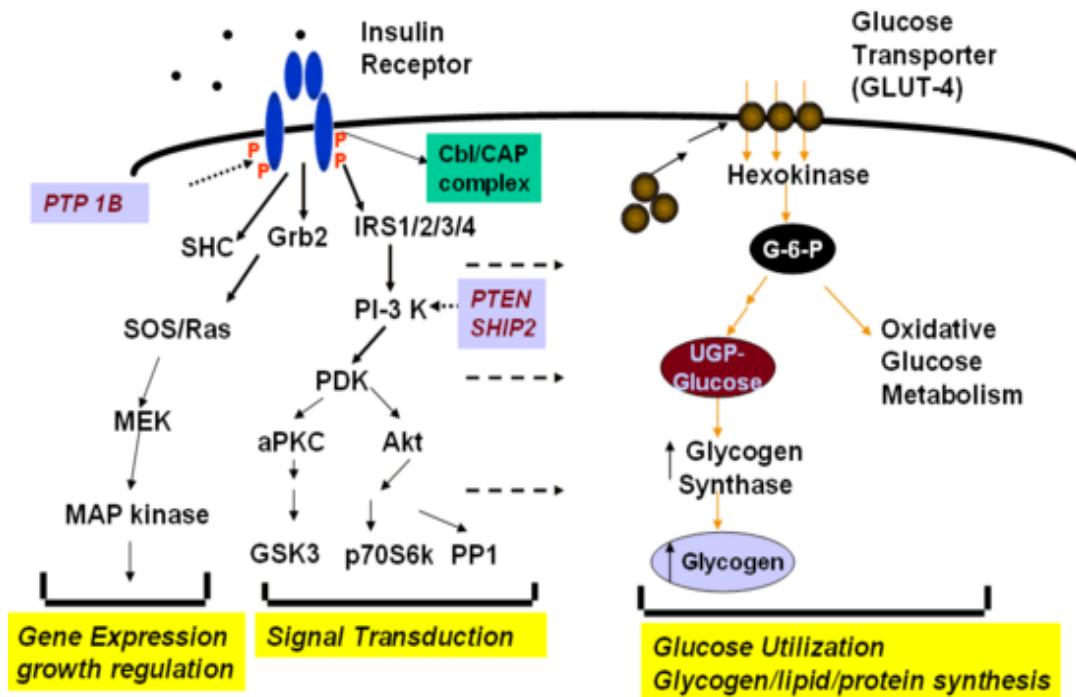
γλυκόλυσης και της οξειδωσης της γλυκόζης (μέσω της φωσφοφρουκτοκινάσης και της πυρουβικής δεϋδρογενάσης), (De Fronzo 2010). Η πρόσληψη της γλυκόζης επιτυγχάνεται με την μετατόπιση των GLUT4 υποδοχέων αυτής από ενδοκυττάριας θέσεις στην κυτταρική μεμβράνη (Li, Zhang 2007). Οι GLUT4 υποδοχείς ενεργοποιούνται μέσω της οδού της PI3 K, ενώ η περιορισμένη μετατόπισή τους αποτελεί πρώιμο ελάττωμα της αντίστασης στην ινσουλίνη (Shulman 2000).

### ***Οδός της MAPK***

Η δεύτερη οδός δράσης της ινσουλίνης περιλαμβάνει την φωσφορυλίωση της ομάδας Shc του υποστρώματος, που έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της μιτογόνου-ενεργοποιημένης πρωτεϊνικής κινάσης (mitogen-activated protein kinase, MAPK) και τη ρύθμιση λειτουργιών που σχετίζονται με την ανάπτυξη, τη διαφοροποίηση και τη μιτογένεση (Muniyappa *et al.*, 2007). Η ινσουλίνη, επομένως, αποτελεί έναν αυξητικό παράγοντα, που επιδρά στην κυτταρική αύξηση, πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση (De Fronzo 2010).

Πρέπει εδώ να σημειωθεί ότι η ινσουλίνη μόνη της έχει ήπια δράση αυξητικού παράγοντα, μπορεί ωστόσο να ενισχύσει σημαντικά τη δράση άλλων αυξητικών παραγόντων (Hsueh *et al.*, 1999).

Οι οδοί μετάδοσης του σήματος της ινσουλίνης είναι οργανωμένοι σε πολύ σύνθετα δίκτυα, που περιλαμβάνουν πολλαπλές οδούς ανάδρομης ρύθμισης, διασταυρούμενη επικοινωνία μεταξύ των δύο κύριων καναλιών καθώς και επικοινωνία με οδούς ετερόλογων υποδοχέων (Taniguchi *et al.*, 2006).



**Εικόνα 2.2.** Διαγραμματική απεικόνιση των οδών μεταβίβασης του σήματος της ινσουλίνης. Li, Zhang. Στο: [www.endotext.org](http://www.endotext.org)

### 2.3. ΔΡΑΣΗ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ ΣΤΟ ΑΓΓΕΙΑΚΟ ΤΟΙΧΩΜΑ

Η ινσουλίνη έχει άμεση δράση στο αγγειακό τοίχωμα, συμβάλλοντας είτε σε προστασία ή σε τραυματισμό του αγγειακού τοιχώματος, ανάλογα με το κυτταρικό τύπο στον οποίο δρα (Hsueh *et al.*, 1999).

#### 2.3.1 Προστατευτική δράση

Τα προστατευτικά αποτελέσματα επιτυγχάνονται με τη δράση της ινσουλίνης στα ενδοθηλιακά κύτταρα, μέσω της οδού της PI3K. Συγκεκριμένα, η σύνδεση της ινσουλίνης με τον υποδοχέα της φωσφορυλιώνει το IRS-1 υπόστρωμα, το οποίο στη συνέχεια συνδέεται και ενεργοποιεί τη PI3K, η οποία ενεργοποιεί το ένζυμο Akt και αυτό με τη σειρά του φωσφορυλιώνει άμεσα τη eNOS στη θέση Ser1177, με αποτέλεσμα την αύξηση της δραστηριότητας της eNOS και της παραγωγής NO (Dimmeler *et al.*, 1999, Montagnani *et al.*, 2001). Φαίνεται ότι η ινσουλίνη είναι απαραίτητη για την παραγωγή NO, καθώς η δράση άλλων αυξητικών παραγόντων στα ενδοθηλιακά κύτταρα ενεργοποιεί τις PI3-K και Akt,

χωρίς αυτό όμως να οδηγεί σε φωσφορυλίωση ή ενεργοποίηση της eNOS (Montagnani *et al.*,2001). Αντίθετα, άλλες ορμόνες, όπως η λεπτίνη, η αδιπονεκτίνη, τα οιστρογόνα, τα γλυκοκορτικοειδή και η δεϋδροεπιανδροστερόνη (dehydroepiandrosterone, DHEA) μπορούν να ενεργοποιήσουν τη eNOS στο αγγειακό ενδοθήλιο μέσω της PI 3-K, παράγοντας NO (Kim *et al.*,2006). Επομένως, μέσω της οδού της PI 3-K γίνονται παράλληλα τόσο η ενδοθηλιακή παραγωγή NO και επομένως η αγγειοδιαστολή, όσο και η μεταφορά γλυκόζης στους σκελετικούς μύες. Έτσι, η NO-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή συμβάλλει στην πρόσληψη γλυκόζης (Hsueh *et al.*,1999).

### 2.3.2 Βλαπτική δράση

Όμως, η ινσουλίνη προκαλεί ένα πλήθος βλαβερών επιδράσεων στο αγγειακό τοίχωμα προάγοντας, μέσω της οδού της MAPK, δράσεις των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων (vascular smooth muscle cells, VSMCs) που συμβάλλουν στην αθηρωσκήρωση και επαναστένωση (Hsueh *et al.*,1999). Μέσω της ίδιας οδού δρουν, εκτός από την ινσουλίνη, η AgII, η θρομβίνη και ο PDGF (platelet-derived growth factor), (Banskota *et al.*,1989). Πιο ειδικά, η ινσουλίνη ενισχύει τον πολλαπλασιασμό, την αύξηση και τη μετανάστευση των VSMCs, καθώς και την εξωκυττάρια παραγωγή υλικού από τα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα (Anderson *et al.*,1996). Η ινσουλίνη μόνη της έχει ήπια μόνο δράση στα VSMCs, αλλά ενισχύει σημαντικά τα αποτελέσματα των προερχόμενων από τα αιμοπετάλια και άλλων αυξητικών παραγόντων πάνω σε αυτά (Banskota *et al.*,1989).

Τέλος, η ινσουλίνη μπορεί να έχει δυσμενή επίδραση στο καρδιαγγειακό σύστημα δρώντας και στο ενδοθήλιο, μέσω πάλι της οδού της MAPK και προκαλώντας την έκκριση ET-1 (Kim *et al.*,2006). Η ET-1, όπως προαναφέρθηκε, είναι ισχυρός αγγειοσυσπαστικός παράγοντας που έχει δράση ανταγωνιστική του NO (Muniyappa *et al.*, 2007). Επιπλέον η ινσουλίνη, μέσω της ίδιας οδού, αυξάνει την έκφραση των PAI-1, ICAM-1, VCAM-1 και E-selectin από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, δημιουργώντας έτσι αθηρωγόνο περιβάλλον (Montagnani *et al.*,2002, Mukai *et al.*,2006).

Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, οι διαφορετικές αυτές αγγειακές δράσεις της ινσουλίνης βρίσκονται σε ισορροπία, διατηρώντας έτσι την καρδιαγγειακή ομοιοστασία (Potenza *et al.*,2005).

## 2.4 ΑΙΜΟΔΥΝΑΜΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗΣ

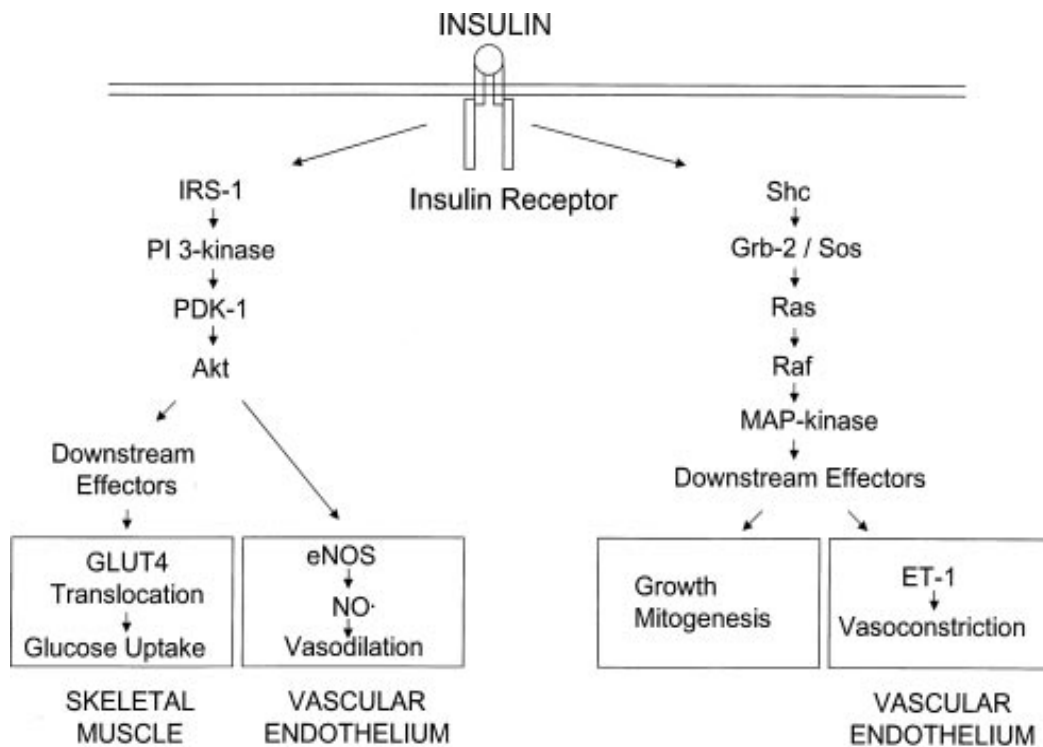
Όπως αναφέρθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο, η παραγωγή NO από το αγγειακό ενδοθήλιο οδηγεί σε αγγειοδιαστολή και αύξηση της αιματικής ροής. Πιο ειδικά, το NO διαχέεται στα αγγεία των παρακείμενων μυών προκαλώντας αγγειοδιαστολή, η οποία πραγματοποιείται σε δύο στάδια (Kim *et al.*, 2006): αρχικά, η διαστολή των τελικών αρτηριολίων αυξάνει τον αριθμό των διαχεόμενων τριχοειδών (στρατολόγηση τριχοειδών), η οποία πραγματοποιείται εντός λίγων λεπτών, χωρίς ωστόσο να προκαλεί ταυτόχρονα αλλαγές στη συνολική αιματική ροή του άκρου. Στη συνέχεια ακολουθεί η χάλαση των μεγάλων, μυϊκού τύπου αρτηριών, η οποία οδηγεί σε αύξηση της συνολικής αιματικής ροής του άκρου. Η φάση αυτή συμβαίνει εντός 30 λεπτών μετά από διέγερση με φυσιολογικές συγκεντρώσεις ινσουλίνης, ενώ η μέγιστη ροή επιτυγχάνεται μετά από δύο ώρες (Baron 1996). Η συνολική αγγειοδιασταλτική αντίδραση στην ινσουλίνη είναι συνδυασμός τόσο της στρατολόγησης των τριχοειδών όσο και της αύξησης της συνολικής αιματικής ροής (Kim *et al.*, 2006).

Πράγματι, μελέτες στον άνθρωπο έχουν δείξει ότι τόσο η ενδοφλέβια έγχυση ινσουλίνης (σε φυσιολογικά επίπεδα) όσο και η αύξηση των επιπέδων ινσουλίνης, που προκαλείται μετά από λήψη μεικτού γεύματος ή φόρτιση με γλυκόζη, προκαλεί αγγειοδιαστολή και αύξηση της αιματικής ροής με ένα NO-εξαρτώμενο τρόπο (Steinberg *et al.*, 1994).

### 2.4.1 Σύζευξη μεταβολικής και αγγειακής δράσης ινσουλίνης

Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 2.3, οι οδοί δράσης της ινσουλίνης ρυθμίζουν ταυτόχρονα τόσο τις μεταβολικές όσο και τις αγγειακές λειτουργίες αυτής (Kim *et al.*, 2006). Πράγματι, η είσοδος της γλυκόζης στα κύτταρα πραγματοποιείται με τη μετακίνηση των GLUT υποδοχέων από το εσωτερικό στην επιφάνεια του κυττάρου, μέσω της οδού της PI 3-κινάσης (Nystrom, Quon 1999, Saltiel, Kahn 2001). Επιπλέον, η ίδια οδός είναι αναγκαία για την παραγωγή NO από το αγγειακό ενδοθήλιο και τη συνεπαγόμενη αγγειοδιαστολή. Έτσι, αλλαγές στο μεταβολισμό μπορούν να προκαλέσουν αλλαγές στην αιματική ροή, ενώ αντίθετα η αυξημένη αιματική ροή επιφέρει αλλαγές στο μεταβολισμό. Η οδός της MAP-κινάσης δεν φαίνεται να έχει κάποιο ρόλο σε καμιά από τις παραπάνω δράσεις. Επομένως, η ύπαρξη μιας κοινής οδού δράσης φαίνεται ότι μπορεί να εξηγήσει τη σύζευξη της μεταβολικής με την αγγειακή ομοιοστασία, κάτω από φυσιολογικές συνθήκες (Kim *et al.*, 2006).





**Εικόνα 2.3.** Μεταβολικές και αγγειακές δράσεις ινσουλίνης.

*Kim et al. Στο: [www.endotext.org](http://www.endotext.org)*

## 2.5 ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ ΣΤΗΝ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ

Κάτω από συγκεκριμένες φυσιολογικές (εφηβεία, κύηση) και παθοφυσιολογικές συνθήκες (όπως παχυσαρκία, ΣΔ2, στρες, οξεία νόσος) οι βιολογικές δράσεις της ινσουλίνης αμβλύνονται και αναπτύσσεται αντίσταση στην ινσουλίνη (Cersosimo, DeFronzo 2006).

### 2.5.1 Ορισμός

Ως «αντίσταση στην ινσουλίνη» ορίζεται η αλλαγή στη φυσιολογική ρύθμιση της ομοιοστασίας της γλυκόζης, έτσι ώστε μια ορισμένη δόση ινσουλίνης να έχει μικρότερο αποτέλεσμα στο μεταβολισμό της γλυκόζης από ότι παρατηρείται σε φυσιολογικά άτομα. Η φυσιολογική αντίδραση στο φαινόμενο αυτό είναι η αύξηση της έκκρισης ινσουλίνης από το πάγκρεας, που οδηγεί σε υπερινσουλιναιμία. Αν ο βαθμός της υπερινσουλιναιμίας είναι ικανός ώστε να υπερνικήσει την αντίσταση, η ρύθμιση της γλυκόζης διατηρείται φυσιολογική. Αν όχι, τότε αναπτύσσεται διαταραχή ανοχής γλυκόζης και ΣΔ2 (Lebovitz, Banerji 2005).

### 2.5.2 Μοριακά αίτια αντίστασης στην ινσουλίνη

Η αντίσταση στην ινσουλίνη φαίνεται ότι οφείλεται σε βλάβες που αφορούν τόσο τον υποδοχέα της ινσουλίνης, όσο και τα επόμενα στάδια της μεταβίβασης του σήματος αυτής (Cersosimo *et al.*, 2011).

Πράγματι, μερικές μελέτες σε μονοκύτταρα και λιποκύτταρα διαβητικών τύπου 2 ασθενών έδειξαν μειωμένη σύνδεση της ινσουλίνης στον υποδοχέα της (Bajaj, DeFronzo 2003), εύρημα που ωστόσο δεν επαληθεύτηκε σε μελέτες μυϊκών και ηπατικών κυττάρων (Caro *et al.*, 1987).

Όσον αφορά τη ενεργότητα της τυροσινικής κινάσης, οι περισσότερες μελέτες έχουν δείξει ότι είναι μειωμένη, ενώ υφίσταται με την απώλεια βάρους, δείχνοντας ότι μάλλον πρόκειται για επίκτητη διαταραχή (DeFronzo 2010).

Στο επίπεδο τώρα της μεταβίβασης του σήματος, βρέθηκε ότι η φωσφορυλίωση τόσο του υποδοχέα της ινσουλίνης όσο και του IRS-1 είναι μειωμένες σε παχύσαρκα μη διαβητικά άτομα, ενώ σε τύπου 2 διαβητικούς ασθενείς είναι σχεδόν ανύπαρκτη (DeFronzo 2010). Επίσης, η σύνδεση του IRS-1 με την p85 υποομάδα της PI-3 κινάσης είναι σημαντικά μειωμένη και στις δύο ομάδες ασθενών (Cusi *et al.*, 2000). Πράγματι, μελέτες σε διαβητικά ζώα έδειξαν μείωση κατά 80% στη φωσφορυλίωση του IRS-1 και μεγαλύτερη από 90% μείωση στην ενεργοποίηση της PI-3 κινάσης (Folli *et al.*, 1993). Στον άνθρωπο, μελέτη σε ευγλυκαιμικούς, με αντίσταση στην ινσουλίνη απογόνους δύο διαβητικών γονέων φανέρωσε σημαντικά μειωμένη φωσφορυλίωση του IRS-1, σύνδεση με την πρωτεΐνη p85 και ενεργοποίηση της PI-3 κινάσης, παρά τη φυσιολογική ενεργοποίηση του υποδοχέα της ινσουλίνης. Οι διαταραχές αυτές είχαν ισχυρή συσχέτιση με το βαθμό της αντίστασης στην ινσουλίνη, όπως μετρήθηκε με τη διενέργεια ευγλυκαιμικής υπερινσουλιναιμικής δοκιμασίας ινσουλινικού αποκλεισμού (euglycemic hyperinsulinemic clamp), (Pratipanawat *et al.*, 2001).

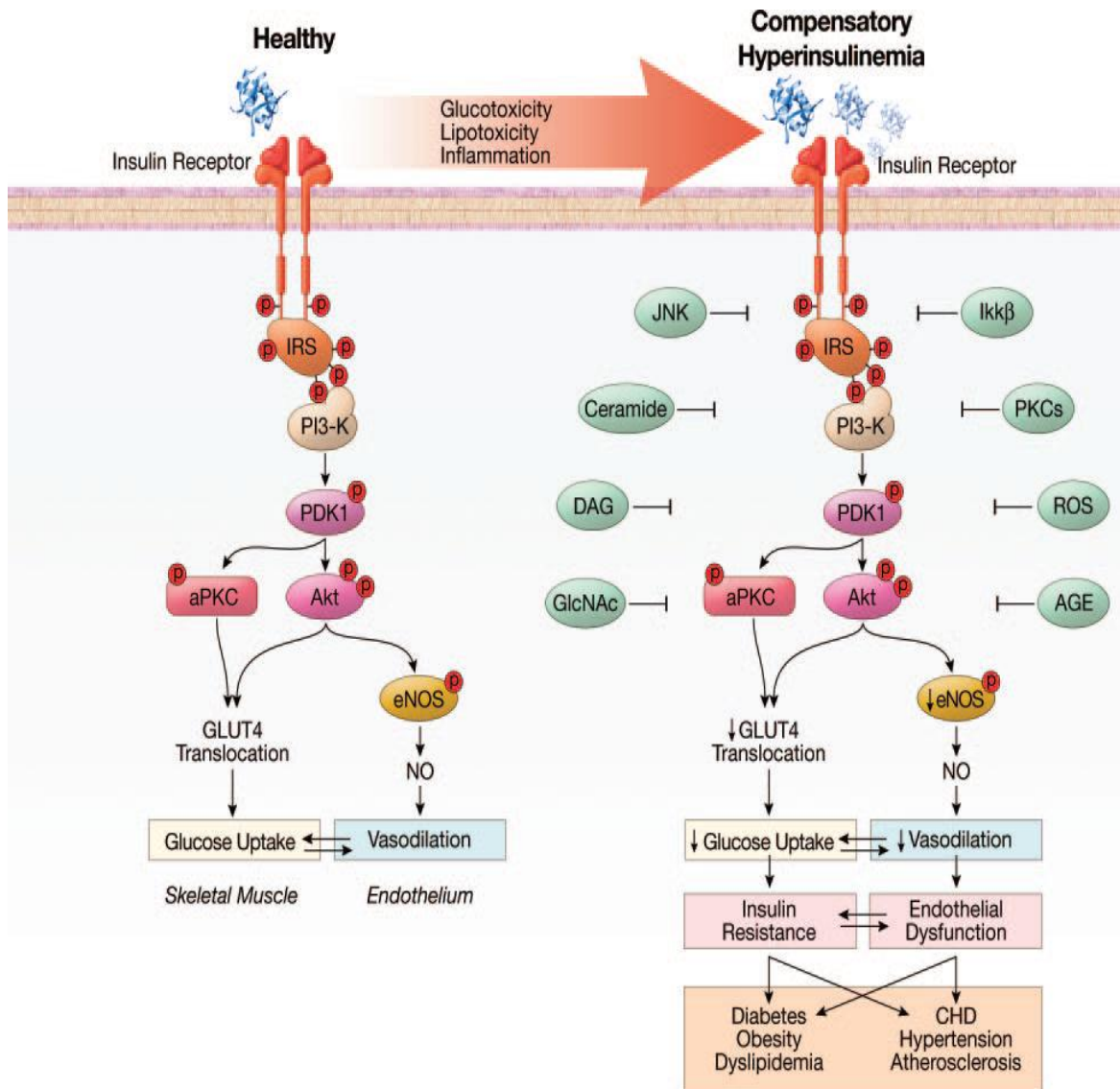
Συμπερασματικά, το κύριο μοριακό αίτιο του ΣΔ2 φαίνεται ότι είναι η διαταραχή στη σύνδεση του IRS με την PI-3 κινάση και τη συνακόλουθη ενεργοποίηση αυτής. Το πρόβλημα αυτό δεν φαίνεται να σχετίζεται με διαταραχή στην ενεργοποίηση του υποδοχέα της ινσουλίνης (Cersosimo *et al.*, 2011). Μία κοινή μετάλλαξη (Gly 972 Arg) του γονιδίου του IRS-1 σχετίζεται με παχυσαρκία, αντίσταση στην ινσουλίνη και ΣΔ2, χωρίς ωστόσο σαφή φυσιολογική σημασία (Hitman *et al.*, 1995, Imai *et al.*, 1997).

Σε αντίθεση με τη διαταραχή στην ενεργοποίηση της οδού της PI-3 κινάσης, η οδός της MAP κινάσης φαίνεται ότι ενεργοποιείται φυσιολογικά από την ινσουλίνη σε παχύσαρκους

και ΣΔ2 ασθενείς (Cusi *et al.*,2000). Η συνεχής αυτή ενεργοποίηση της MAP κινάσης, χωρίς να λειτουργεί η PI-3 κινάση, φαίνεται ότι ευθύνεται για την ανάπτυξη καρδιαγγειακής νόσου σε καταστάσεις αντίστασης στην ινσουλίνη (DeFronzo 2010).

### **2.5.3 Σχέση αντίστασης στην ινσουλίνη με ενδοθηλιακή δυσλειτουργία**

Πραγματικά, η αντίσταση στη μεταβολική οδό (της PI-3 κινάσης) της δράσης της ινσουλίνης συνεπάγεται αντιδραστική αύξηση στη λειτουργία του β-κυττάρου και υπερινσουλιναιμία, προκειμένου να διατηρηθεί η ευγλυκαιμία (Muniyappa *et al.*,2007). Ωστόσο, αυτή η υπερινσουλιναιμία θα οδηγήσει σε υπερδιέγερση της οδού της MAPK στα αγγεία, με αποτέλεσμα τη διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ των δύο κύριων οδών δράσης της ινσουλίνης (Potenza *et al.*,2005). Επομένως, υπερτερούν οι αθηρογόνες δράσεις της ινσουλίνης στα αγγεία, δηλαδή η παραγωγή ET-1, προσκολλητικών μορίων, αυξητικών παραγόντων, κολλαγόνου, φλεγμονωδών κυττοκινών καθώς και η μετανάστευση και ο πολλαπλασιασμός των αγγειακών λείων μυϊκών ινών. Παράλληλα, καταργείται η προστατευτική δράση της ινσουλίνης στο ενδοθήλιο, δηλαδή η παραγωγή NO, μέσω της οδού της PI-3 κινάσης (Verma *et al.*,2001), (Εικόνα 2.4). Ο μηχανισμός αυτός θα μπορούσε να εξηγήσει τον αυξημένο βαθμό αθηρωσκλήρωσης που παρατηρείται στα άτομα με ΣΔ2 (Cersosimo *et al.*,2011).



Εικόνα 2.4. Σχέση αντίστασης στην ινσουλίνη με ενδοθηλιακή δυσλειτουργία.

*Muniyappa et al., Endocrine Reviews 2007*

## 2.6 ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΟ ΣΥΝΔΡΟΜΟ

### 2.6.1 Ορισμός

Η αντίσταση στην ινσουλίνη, που είναι βασικό γνώρισμα του ΣΔ2, σχετίζεται ακόμη με ένα πλήθος άλλων μεταβολικών διαταραχών, που περιλαμβάνουν την κατανομή και το μεταβολισμό του λίπους, τη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης, της πήξης και της ινοδύλωσης (Kim *et al.*, 2006, Lebovitz, Banerji 2005). Τα παραπάνω στοιχεία αποτελούν κύριους παράγοντες καρδιαγγειακής νόσου (Ford *et al.*, 2010) και χαρακτηρίζονται από ενδοθηλιακή

δυσλειτουργία (Reaven 1988), όπως άλλωστε και ο ΣΔ2. Το σύνολο αυτό των διαταραχών αναφέρεται ως «σύνδρομο αντίστασης στην ινσουλίνη» ή «μεταβολικό σύνδρομο».

Σύμφωνα με την NCEP (National Cholesterol Education Program) ATP III (Adult Treatment Panel III) αναφορά (Grundy *et al.*, 2004), τα συστατικά του μεταβολικού συνδρόμου είναι τα εξής:

- Κοιλιακή παχυσαρκία (αυξημένη περίμετρος μέσης).
- Δυσλιπιδαιμία (αυξημένα τριγλυκερίδια, μειωμένη HDL, αυξημένη οξειδωμένη LDL).
- Αρτηριακή υπέρταση
- Διαταραχή ανοχής γλυκόζης / αντίσταση στην ινσουλίνη
- Προφλεγμονώδης κατάσταση (↑ CRP)
- Προθρομβωτική κατάσταση (↑ PAI-1 και ινωδογόνο).

### 2.6.2 Διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου

Πιο κάτω (Πίνακας 1) παρατίθενται τα κλινικά κριτήρια για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου, όπως έχουν καθοριστεί από τρεις τουλάχιστο διεθνείς οργανισμούς (Grundy *et al.*, 2004).

**Πίνακας 2.1.** ATP III Κλινικά Κριτήρια Μεταβολικού Συνδρόμου (NCEP 2002).

Παράγοντες Κινδύνου	Όριο καθορισμού
1. Κοιλιακή παχυσαρκία (περίμετρος μέσης)	
<i>Άνδρες</i>	>102 cm (40 in)
<i>Γυναίκες</i>	> 88 cm (35 in)
2. Τριγλυκερίδια	≥150 mg/dL
3. HDL χοληστερόλη	
<i>Άνδρες</i>	<40 mg/dL
<i>Γυναίκες</i>	<50 mg/dL
4. Αρτηριακή πίεση	≥ 130/85 mm Hg
5. Γλυκόζη νηστείας	≥110 mg/dL

Σύμφωνα με την ATP III, η διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου γίνεται όταν υπάρχουν τουλάχιστο δύο από τα προαναφερθέντα κριτήρια. Σαφής εκδήλωση της αντίστασης στην ινσουλίνη δεν απαιτείται για τη διάγνωση, χωρίς ωστόσο η παρουσία ΣΔ2 να την αποκλείει (Grundy *et al.*,2004).

Σε αντίθεση με την ATP III, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (Π.Ο.Υ), αναγνωρίζει την αντίσταση στην ινσουλίνη ως απαραίτητο συστατικό για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου (Πίνακας 2.2), (Grundy 2004).

**Πίνακας 2.2. Κλινικά κριτήρια καθορισμού του Μεταβολικού Συνδρόμου σύμφωνα με τον Π.Ο.Υ (World Health Organization, WHO) (Alberti 2009)**

**Αντίσταση στην ινσουλίνη, όπως ορίζεται από ένα από τα ακόλουθα:**

- ΣΔ2
- Διαταραχή γλυκόζης νηστείας
- Διαταραχή ανοχής γλυκόζης

**Συν οποιαδήποτε δύο από τα ακόλουθα:**

- Λήψη αντιυπερτασικής αγωγής και/ή υψηλή αρτηριακή πίεση ( $\geq 140$  mm Hg συστολική ή  $\geq 90$  mm Hg διαστολική)
- Τριγλυκερίδια πλάσματος  $\geq 150$  mg/dL ( $\geq 1.7$  mmol/L)
- HDL χοληστερόλη  $< 35$  mg/dL ( $< 0.9$  mmol/L) για άνδρες ή  $< 39$  mg/dL (1.0 mmol/L) για γυναίκες
- BMI  $> 30$  kg/m<sup>2</sup> και/ή αναλογία μέσης/περιφέρεια  $> 0.9$  στους άνδρες,  $> 0.85$  στις γυναίκες
- Ποσοστό απέκκρισης αλβουμίνης ούρων  $\geq 20$   $\mu\text{g}/\text{min}$  ή αναλογία αλβουμίνης: κρεατινίνη  $\geq 30$  mg/g

Στον επόμενο πίνακα (Πίνακας 2.3) παρατίθενται τα κλινικά κριτήρια για τη διάγνωση του Μεταβολικού Συνδρόμου κατά AACE (American Association of Clinical Endocrinologists)

**Πίνακας 2.3. Κλινικά Κριτήρια για τη διάγνωση του Μεταβολικού Συνδρόμου κατά AACE (American Association of Clinical Endocrinologists) (η διάγνωση καθορίζεται από την κρίση του κλινικού με βάση τους παράγοντες κινδύνου)**

<u>Παράγοντες κινδύνου</u>	<u>Όρια για διαταραχή</u>
1. Παχυσαρκία	BMI $\geq$ 25 kg/m <sup>2</sup>
2. Υπερτριγλυκεριδαιμία	$\geq$ 150 mg/dL (1.69 mmol/L)
3. ↓ HDL χοληστερόλη	
<i>Άνδρες</i>	<40 mg/dL (1.04 mmol/L)
<i>Γυναίκες</i>	<50 mg/dL (1.29 mmol/L)
4. Αρτηριακή υπέρταση	$\geq$ 130/85 mm Hg
5. 2-ώρες μετά από φόρτιση με γλυκόζη	>140 mg/dL
6. Γλυκόζη νηστείας	μεταξύ 110 και 126 mg/dL

Άλλοι παράγοντες κινδύνου

Οικογενειακό ιστορικό ΣΔ2

Αρτηριακή υπέρταση ή καρδιαγγειακή νόσος

Σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών

Καθιστικός τρόπος ζωής

Προχωρημένη ηλικία

Εθνικές ομάδες υψηλού κινδύνου για ΣΔ2 ή καρδιαγγειακή νόσο.

Η τελευταία αυτή ομάδα κλινικών κριτηρίων φαίνεται ότι αποτελεί υβρίδιο εκείνων της ATP III καθώς και του Π.Ο.Υ. Εδώ δεν καθορίζεται σαφής αριθμός κριτηρίων για τη διάγνωση του μεταβολικού συνδρόμου, καθώς αυτή αφήνεται στην κρίση του ειδικού (Grundy *et al.*,2004).

Πρόσφατα, στην προσπάθεια να υπάρξει μεγαλύτερη ομοιογένεια στα προαναφερθέντα κριτήρια, ομάδα διεθνών Οργανισμών (όπως οι NHBLI, AHA, World Heart Federation and the International Association for the Study of Obesity) δημοσίευσε μία νέα σειρά κριτηρίων (Πίνακας 2.4), παρέχοντας έτσι έναν «εναρμονισμένο» ορισμό του Μ.Σ (Alberti *et al.*,2009). Η διάγνωση γίνεται όταν πληρούνται τρεις από τους πέντε παράγοντες κινδύνου.

**Πίνακας 2.4: «Εναρμονισμένος» ορισμός του Μ.Σ**

ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ	ΟΡΙΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ
Περίμετρος μέσης	Όρια ειδικά για κάθε πληθυσμό και χώρα
Τριγλυκερίδια	$\geq 150$ mg/Dl
HDL – χοληστερόλη	Άνδρες $< 40$ mg/dL, γυναίκες $< 50$ mg/dL
Αρτηριακή Πίεση	$\geq 130/ \geq 85$
Γλυκόζη νηστείας	$\geq 100$ mg/dL

Συμπεριλαμβάνονται οι ασθενείς που λαμβάνουν αγωγή για τη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης και της υπεργλυκαιμίας.

### 2.6.3 Παθογένεια του Μεταβολικού Συνδρόμου

Έως τώρα, δεν έχει βρεθεί σαφές αίτιο ανάπτυξης του μεταβολικού συνδρόμου. Αντίθετα, φαίνεται ότι στην αιτιοπαθογένειά του εμπλέκονται τόσο γενετικοί όσο και περιβαλλοντικοί παράγοντες (Samaras, Campbell 2000).

#### 2.6.3.1 Γενετικοί παράγοντες

Όσον αφορά τους γενετικούς παράγοντες, έχει ενοχοποιηθεί ο υποσιτισμός κατά την ενδομήτρια ζωή, που προδιαθέτει στην ανάπτυξη συνδρόμου αντίστασης στην ινσουλίνη κατά την ενήλικη ζωή (Lebonitz, Banerji 2005). Τα λιποβαρή αυτά μωρά έχουν την τάση να γίνονται παχύσαρκοι ενήλικες. Πράγματι, σειρά επιδημιολογικών μελετών έχει δείξει σημαντική συσχέτιση μεταξύ του χαμηλού βάρους γέννησης και της ανάπτυξης αντίστασης στην ινσουλίνη, ΣΔ2 και μεταβολικού συνδρόμου στα επόμενα χρόνια (Barker *et al.*, 1993, Bavdekar *et al.*, 1999, Dabelea *et al.*, 1999). Ως αίτιο έχει προταθεί η υπόθεση ότι ο εμβρυϊκός υποσιτισμός προκαλεί την ενεργοποίηση μεταβολικών οδών που συντελούν στη μέγιστη απορρόφηση και συντήρηση θρεπτικών συστατικών, κατάσταση που παραμένει σε όλη τη ζωή του ατόμου (Phillips *et al.*, 1998). Η προδιάθεση αυτή, σε συνδυασμό με την αυξημένη



πρόσληψη τροφής και τη μειωμένη φυσική δραστηριότητα, που χαρακτηρίζουν το σύγχρονο τρόπο ζωής, οδηγούν στην εμφάνιση του μεταβολικού συνδρόμου.

### **2.6.3.2 Περιβαλλοντικοί παράγοντες**

#### ***Παχυσαρκία***

Όντως η παχυσαρκία, δηλαδή η αύξηση της μάζας του λιπώδους ιστού και ειδικά η κοιλιακή παχυσαρκία, έχουν ενοχοποιηθεί για τη συνεχώς αυξανόμενη επίπτωση του συνδρόμου (Lemieux *et al.*,1996). Περισσότερο από το 80% των ατόμων με ΣΔ2 είναι παχύσαρκοι, ενώ όλοι παρουσιάζουν αντίσταση στην ινσουλίνη. Έχει βρεθεί ότι η απώλεια βάρους σχετίζεται στενά με μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη και το αντίστροφο, υποδεικνύοντας ότι οι δύο αυτές παράμετροι σχετίζονται αμφίδρομα μεταξύ τους με σχέση αιτίου-αιτιατού (Bak *et al.*,1992, Freidenberg *et al.*,1992).

## **2.6.4 ΛΙΠΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ-ΑΝΤΙΣΤΑΣΗ ΣΤΗΝ ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ**

### **2.6.4.1 Φυσιολογία λιπώδους ιστού**

Όπως προαναφέρθηκε, ο σκοπός του λιπώδους ιστού είναι η αποθήκευση ενέργειας με τη μορφή τριγλυκεριδίων, η οποία απελευθερώνεται στη μορφή των ελεύθερων λιπαρών οξέων (free fatty acids, FFA) σε καταστάσεις αυξημένων ενεργειακών αναγκών του οργανισμού (Lebovitz, Banerji 2005). Με τον τρόπο αυτό διατηρείται η γλυκόζη για τις ανάγκες του εγκεφάλου (Boden, Shulman 2002). Πράγματι, τα FFA συνιστούν μία βασική πηγή ενέργειας για τον οργανισμό, καθώς αποτελούν το κύριο οξειδωτικό καύσιμο για τους περισσότερους ιστούς, όπως το ήπαρ, οι σκελετικοί μύες και το μυοκάρδιο. Ειδικά σε καταστάσεις αυξημένης ενεργειακής ανάγκης, όπως κατά τη διάρκεια νηστείας ή άσκησης, η οξείδωση των λιπιδίων μπορεί να καλύψει έως και το 70% των αναγκών αυτών (Felber *et al.*,1977).

Η αποθήκευση των τριγλυκεριδίων γίνεται στα μικρά περιφερικά λιποκύτταρα του υποδόριου ιστού. Όταν η αποθηκευτική ικανότητα αυτών των κυττάρων ξεπεραστεί, τότε τα τριγλυκερίδια αποθηκεύονται στα ηπατοκύτταρα, τα μυϊκά κύτταρα και τα σπλαχνικά λιποκύτταρα (Miranda *et al.*,2005). Αυτή η ανώμαλη συσσώρευση τριγλυκεριδίων, που χαρακτηρίζεται ως λιποτοξικότητα, στο σπλαχνικό λιπώδη ιστό και τους μύες μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη ηπατικής και μυϊκής αντίστασης στην ινσουλίνη και επομένως στην εμφάνιση του μεταβολικού συνδρόμου (Kelley, Mandarino 2000).

#### 2.6.4.2 Λιποτοξικότητα

Ωστόσο, αυτό που πραγματικά προκαλεί τη μεταβολική διαταραχή είναι η άμεση ροή ενεργών παραγόντων (FFA, TNF- $\alpha$ , αδιπονεκτίνη, λεπτίνη) από το σπλαχνικό λιπώδη ιστό (Lebovitz, Banerji 2005), καθώς έχει δείχτει ότι αυτός έχει υψηλότερο βαθμό λιπόλυσης και γρηγορότερη παραγωγή των παραγόντων αυτών σε σχέση με τον υποδόριο λιπώδη ιστό (Boden, Shulman 2002). Οι ουσίες αυτές περνούν από το σπλαχνικό λιπώδη ιστό στο ήπαρ μέσω της πυλαίας φλέβας και από εκεί στους περιφερικούς ιστούς (Boden, Shulman 2002), προκαλώντας «λιποτοξικότητα». Ο όρος αυτός χρησιμοποιήθηκε πρώτη φορά από τους Unger και Zhou (2001), για να περιγράψει τη βλαπτική επίδραση της συσσώρευσης λιπώδους ιστού στο μεταβολισμό της γλυκόζης. Το μέγεθος του όγκου του λιπώδους ιστού προσφέρει απλά μια αδρή εκτίμηση του ποια μπορεί να είναι η ροή (Lebovitz, Banerji 2005), μπορεί δε να υπολογιστεί με τη μέτρηση της περιμέτρου μέσης, την αναλογία περιμέτρου μέσης προς ισχίου καθώς και με απεικονιστικές και ραδιολογικές τεχνικές (Miranda *et al.*, 2005). Πράγματι, οι Banerji *et al.* (1997) με τη χρήση αξονικής τομογραφίας κορμού και άκρων, έδειξαν ότι η ευαισθησία στην ινσουλίνη (μετρούμενη με τη μέθοδο του ευγλυκαιμικού υπερινσουλιναιμικού κλαμπ) σχετίζεται αρνητικά με τον όγκο του σπλαχνικού λιπώδους ιστού, χωρίς να εμφανίζει σημαντική συσχέτιση με τον υποδόριο λιπώδη ιστό. Επιπλέον, η αύξηση της μάζας του σπλαχνικού λιπώδους ιστού βρέθηκε ότι σχετίζεται ισχυρά με την παρουσία και τη βαρύτητα της διαβητικής δυσλιπιδαιμίας, καθώς και με την εμφάνιση λιπώδους ήπατος (Lebovitz, Banerji 2005).

#### 2.6.4.3 Ο ρόλος των FFA

Η χρονίως αυξημένη συγκέντρωση FFA, που είναι αποτέλεσμα της παχυσαρκίας, φαίνεται ότι σχετίζεται με την έναρξη της αντίστασης στην ινσουλίνη στους σκελετικούς μύες και το ήπαρ καθώς και με τη μείωση της έκκρισης της ινσουλίνης, οδηγώντας στην εμφάνιση ΣΔ2 (Boden 2001, DeFronzo 2010). Πράγματι, μελέτες με μαγνητική σπεκτρογραφία έδειξαν ότι η ενδομυϊκή και ενδοηπατική συσσώρευση λίπους σχετίζεται με την ανάπτυξη αντίστασης στην ινσουλίνη στα όργανα αυτά, προκαλώντας μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και μειωμένη μιτοχονδριακή οξειδωση (Lowell, Shulman 2005, Savage *et al.*, 2005). Επιπλέον, η μειωμένη μιτοχονδριακή οξειδωση επάγει την οξειδωτική φωσφορυλίωση, προκαλώντας έτσι αυξημένη παραγωγή ελευθέρων ριζών (ROS) και οξειδωτικό στρες. Τα αυξημένα FFA και ειδικά τα

τοξικά παράγωγα του μεταβολισμού τους (acyl CoA, διακυλγλυκερόλη, κεραμίδια) ανταγωνίζονται τη γλυκόζη ως κύρια πηγή ενέργειας στους ιστούς, οδηγώντας σε μειωμένη πρόσληψη και χρησιμοποίησή της (Randle *et al.*, 1963). Στο ήπαρ, τα FFA αυξάνουν την ηπατική παραγωγή γλυκόζης μέσω της νεογλυκογένεσης, η οποία στα άτομα με ΣΔ2 έχει βρεθεί ότι είναι αυξημένη κατά 60% (Magnusson *et al.*, 1992). Επιπλέον, η ενδοκυττάρια συγκέντρωση FFA παρεμποδίζει τη μεταβίβαση του σήματος της ινσουλίνης, προκαλώντας τη μείωση της μετατόπισης των GLUT-4 υποδοχέων της γλυκόζης και περαιτέρω μείωση της χρησιμοποίησής αυτής (Cline *et al.*, 1999). Ο μοριακός μηχανισμός της παρεμπόδισης της δράσης της ινσουλίνης σχετίζεται με την οδό της PI-3-K και πιο συγκεκριμένα με το IRS-1 υπόστρωμα του υποδοχέα της ινσουλίνης. Ειδικότερα, τα FFA θεωρείται ότι ενεργοποιούν μια ενδοκυττάρια κινάση της σερίνης, η οποία φωσφορυλιώνει τις θέσεις της σερίνης του IRS-1 ή/και του υποδοχέα της ινσουλίνης, μπλοκάροντας την ικανότητα αυτών των μορίων να φωσφορυλιωθούν στη θέση της τυροσίνης και επομένως να ενεργοποιηθούν (Dresner *et al.*, 1999).

Είναι επίσης πιθανό ότι τα χρονίως αυξημένα FFA συμβάλλουν στην αντίσταση στην ινσουλίνη που παρατηρείται και στα β-κύτταρα του παγκρέατος και που οδηγεί σε μειωμένη έκκριση ινσουλίνης (Kulkarni *et al.*, 1999, Griffin *et al.*, 1999). Σύμφωνα με τη θεωρία της λιποτοξικότητας, τα FFA φαίνεται ότι έχουν άμεση τοξική δράση στα β-κύτταρα του παγκρέατος, αυξάνοντας την απόπτωσή τους (Unger, Zhou 2001) και οδηγώντας στην αυξημένη εναπόθεση αμυλοειδούς (Kahn *et al.*, 1999). Ωστόσο, αυτός ο μηχανισμός δράσης στο πάγκρεας δεν είναι αρκετά ισχυρός ώστε να προκαλέσει ανεπάρκεια ινσουλίνης, καθώς μόνο το 20% των παχύσαρκων ατόμων αναπτύσσει τελικά ΣΔ2. Επομένως, η δυσλειτουργία των β-κυττάρων φαίνεται ότι έχει κυρίως γενετική προδιάθεση (Boden 2001).

Τέλος, τα χρονίως αυξημένα FFA έχει βρεθεί ότι σχετίζονται και με άλλους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου, όπως η υπέρταση, η δυσλιπιδαιμία, η υπερουριχαιμία, η διαταραχή της ινωδολύσης και οι οποίοι αποτελούν συστατικά του συνδρόμου αντίστασης στην ινσουλίνη (Fagot *et al.*, 1998, Reaven 1988).

#### **2.6.4.4 Η παχυσαρκία ως χρόνια φλεγμονώδης κατάσταση - Ο ρόλος του TNF- $\alpha$**

Στους παράγοντες που εκκρίνονται από το λιπώδη ιστό και που ενοχοποιούνται για την πρόκληση αντίστασης στην ινσουλίνη ανήκει και ο TNF- $\alpha$ , κυττοκίνη που έχει βρεθεί ότι υπερεκφράζεται στα παχύσαρκα άτομα (Spiegelman, Hotamisligil 1993). Πράγματι, μελέτες

έχουν δείξει προστατευτικό αποτέλεσμα έναντι της ανάπτυξης αντίστασης στην ινσουλίνη, σε απουσία του TNF- $\alpha$  ή των υποδοχέων του (Uysal *et al.*, 1997). Φαίνεται ότι και ο TNF- $\alpha$  παρεμβαίνει στην μεταβίβαση του σήματος της ινσουλίνης στο επίπεδο των IRS πρωτεϊνών του υποστρώματος, ενεργοποιώντας φωσφορυλάσες που ενεργοποιούν τις θέσεις σερίνης του IRS, αντί της τυροσίνης. Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι διεγείρει και την τυροσινική φωσφατάση (PTP)1B, η οποία δρα ως φυσιολογικός αναστολέας της μεταβίβασης του σήματος της ινσουλίνης, αποφωσφορυλιώνοντας τις ενεργοποιημένες τυροσίνες του υποδοχέα και του υποστρώματος της ινσουλίνης (Hotamisligil *et al.*, 1994). Έχει ακόμη αναφερθεί αυξημένη ενεργοποίηση της p38MAPK από τον TNF- $\alpha$ , σε λιποκύτταρα και μυϊκά κύτταρα ΣΔ2 ασθενών (Carlson *et al.*, 2003). Ο TNF- $\alpha$  μπορεί να προκαλέσει τη σύνθεση και άλλων ισχυρών κυτοκινών, όπως η IL-6 και μόνος του ή σε συνδυασμό αυτές, να ασκήσει τις βιολογικές του δράσεις (Arner 2003).

Η αυξημένη αυτή έκκριση των κυτοκινών επάγει, με τη σειρά της, την έκκριση πρωτεϊνών οξείας φάσης από τα λιποκύτταρα (Guha *et al.*, 2000), κατατάσσοντας έτσι την παχυσαρκία στις καταστάσεις χρόνιας, υποκλινικής φλεγμονής (Gelaye *et al.*, 2010, Nakanishi *et al.*, 2005). Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι η παχυσαρκία σχετίζεται με αυξημένη διήθηση των λιποκυττάρων από μακροφάγα, πιθανώς μέσω της έκκρισης προσκολλητικών μορίων από το λιπώδη ιστό (Brake *et al.*, 2006, Weisberg *et al.*, 2006). Η αυξημένη αυτή διήθηση από τα μακροφάγα προκαλεί έκκριση από αυτά κυτοκινών, συμβάλλοντας έτσι περαιτέρω στη φλεγμονώδη διεργασία (Lumeng *et al.*, 2007). Πράγματι, η κύρια πρωτεΐνη οξείας φάσης, η CRP (Nakanishi *et al.*, 2005), έχει βρεθεί ότι είναι αυξημένη στην παχυσαρκία και σε άλλες καταστάσεις αντίστασης στην ινσουλίνη (Gelaye *et al.*, 2010, Nakanishi *et al.*, 2005). Η υποκλινική φλεγμονή θεωρείται πλέον ως ένας από τους νεότερους παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη αθηροσκλήρωσης, προκαλώντας δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και διευκολύνοντας έτσι την αλληλεπίδρασή του με τις τροποποιημένες λιποπρωτεΐνες, τα μονοκύτταρα/μακροφάγα και τα T-κύτταρα (Ross 1999). Αν και η CRP αποτελεί απλά ένα μη ειδικό δείκτη φλεγμονής, ακόμη και μικρές αυξήσεις στα επίπεδά της αποτελούν ανεξάρτητους προγνωστικούς παράγοντες καρδιαγγειακής νόσου (Ridker *et al.*, 2000, Sattar *et al.*, 2003). Επιπλέον, έχει αποδειχτεί ότι τα αυξημένα επίπεδα CRP καθιστούν έναν από τους πιο ισχυρούς προγνωστικούς παράγοντες μελλοντικών καρδιαγγειακών συμβαμάτων και ότι η προγνωστική αξία της υπερευαίσθητης-CRP ξεπερνά αυτήν της LDL (Ridker *et al.*, 2000).

#### 2.6.4.1.5 Ο ρόλος των αδιποκινών

Από το λιπώδη ιστό παράγονται και οι αδιποκίνες, ορμόνες που έχουν τόσο μεταβολικές όσο και αγγειακές δράσεις (Muniyara *et al.*,2007). Οι κυριότερες είναι η λεπτίνη και η αδιπονεκτίνη (Havel 2004), οι οποίες παίζουν κύριο ρόλο στη ρύθμιση της πρόσληψης και της κατανάλωσης ενέργειας, καθώς και το μεταβολισμό των υδατανθράκων και των λιπιδίων.

##### α) Λεπτίνη

Η λεπτίνη είναι μια πρωτεΐνη που έχει κύριο ρόλο στη ρύθμιση της πρόσληψης τροφής, την κατανάλωση ενέργειας και τη συνολική ενεργειακή ισορροπία του οργανισμού. Η έκφραση και η έκκρισή της σχετίζονται στενά με τον όγκο του λιπώδους ιστού και το μέγεθος των λιποκυττάρων (Consigned *et al.*,1996), οι κυριότερες δράσεις της δε φαίνεται ότι επάγονται κεντρικώς μέσω νευρομεταβιβαστών, όπως το νευροπεπτίδιο Υ (Cusin *et al.*,1996). Στις περιφερικές δράσεις της ανήκουν η ρύθμιση της έκκρισης και της δράσης της ινσουλίνης καθώς και ο ενεργειακός μεταβολισμός στα λιποκύτταρα και τους σκελετικούς μύες (Havel 2004).

Μελέτες έχουν δείξει ότι η ανεπάρκεια λεπτίνης ή του υποδοχέα της (συγγενής λιποδυστροφία ή επίκτητη, μετά πχ. από αντιρετροϊκή θεραπεία σε ασθενείς με HIV) σχετίζεται με σοβαρής μορφής αντίσταση στην ινσουλίνη και υπερλιπιδαιμία (Colombo *et al.*,2002, Ebihara *et al.*,2001). Οι διαταραχές αυτές υποστρέφουν ραγδαία εντός λίγων ωρών από τη χορήγηση λεπτίνης, πριν ακόμη σημειωθούν αλλαγές στην πρόσληψη τροφής ή το σωματικό βάρος (Kahn, Flier 2000). Τα παραπάνω ευνοϊκά μεταβολικά αποτελέσματα συσχετίστηκαν με τη μείωση της εναπόθεσης τριγλυκεριδίων στο ήπαρ και τους σκελετικούς μύες (Havel 2004). Πράγματι, έχει βρεθεί ότι η λεπτίνη επάγει την οξείδωση των λιπιδίων και αναστέλλει τη σύνθεσή τους, δράσεις που μπορούν να συμβάλλουν στη βελτίωση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη (Kahn, Flier 2000). Επιπλέον, η λεπτίνη φαίνεται ότι έχει άμεση δράση στο καρδιαγγειακό σύστημα όμοια με αυτή της ινσουλίνης, προκαλώντας αγγειοδιαστολή μέσω της οδού της PI-3 κινάσης (Muniyara *et al.*,2007). Επίσης, η χορήγηση λεπτίνης φαίνεται ότι υποστρέφει την καρδιακή δυσλειτουργία σε υπολεπτιναιμικά ποντίκια (Lee *et al.*,2004).

Τέλος, φαίνεται ότι η λεπτίνη έχει δράση και στο πάγκρεας, εμποδίζοντας άμεσα την έκκριση ινσουλίνης μέσω της διάνοιξης των διαύλων ATP-K<sup>+</sup> στα β-κύτταρα (Ahren, Havel 1999).

## **β) Αδιπονεκτίνη**

Από το διαφοροποιημένο λιπώδη ιστό παράγεται και η αδιπονεκτίνη, πρωτεΐνη η οποία κυκλοφορεί φυσιολογικά σε υψηλά επίπεδα στο αίμα (Chandran *et al.*,2003). Πρόκειται για μια ορμόνη που μιμείται τόσο τις αγγειακές όσο και τις μεταβολικές δράσεις της ινσουλίνης, και η αλληλεπίδραση μεταξύ αυτών των δύο ορμονών μπορεί να καθορίσει εν μέρει τον καρδιαγγειακό και μεταβολικό φαινότυπο σε καταστάσεις αντίστασης στην ινσουλίνη (Muniyara *et al.*,2007). Τα επίπεδα της αδιπονεκτίνης στο αίμα σχετίζονται θετικά με το βαθμό ευαισθησίας στην ινσουλίνη (Kadowaki, Yamauchi 2005). Έτσι, σε καταστάσεις αντίστασης στην ινσουλίνη, όπως στην παχυσαρκία, σε ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο, ΣΔ2, καρδιαγγειακή νόσο καθώς και σε αυτούς με διάφορες νεοπλασίες τα επίπεδά της είναι μειωμένα (Ziemke, Mantzoros 2010). Μελέτες σε ζώα έχουν δείξει ότι η έλλειψη αδιπονεκτίνης προκαλεί αντίσταση στην ινσουλίνη και αύξηση των FFA, ενώ η χορήγησή της αναστρέφει τις διαταραχές αυτές (Qatanani, Lazar 2007). Έχουν περιγραφεί διάφοροι μηχανισμοί σχετικά με τις μεταβολικές δράσεις της αδιπονεκτίνης: στο ήπαρ, μειώνει την εισροή και αυξάνει την οξείδωση των FFA, αυξάνει την ευαισθησία στην ινσουλίνη και μειώνει την ηπατική παραγωγή γλυκόζης. Στους μύες, η αδιπονεκτίνη επίσης αυξάνει την οξείδωση των FFA και τη χρησιμοποίηση της γλυκόζης, πιθανώς μέσω της ενεργοποίησης της AMPK, ενός κυτταρικού sensor ενέργειας (Qatanani, Lazar 2007). Τέλος, η αδιπονεκτίνη φαίνεται ότι έχει αντιφλεγμονώδεις και αντιαθηρωγόνες ιδιότητες, όπως η καταστολή της προκαλούμενης από τον TNF-α έκφρασης των προσκολλητικών μορίων στα ενδοθηλιακά κύτταρα και της παραγωγής κυτοκινών από τα μακροφάγα (Stefan, Stumvoll 2002). Ειδικά στο ενδοθήλιο, η αδιπονεκτίνη προκαλεί την παραγωγή NO και επάγει την αγγειοδιαστολή, κυρίως μέσω της ρύθμισης της έκφρασης της eNOS συνθάσης και της μείωσης της παραγωγής ROS στα ενδοθηλιακά κύτταρα (Hattori *et al.*,2003, Motoshima *et al.*,2004).

## **2.7 ΣΧΕΣΗ ΣΔ2-ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΗΣ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ**

### **2.7.1 Αίτια ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας στο ΣΔ2**

Όπως προαναφέρθηκε, η λιποτοξικότητα και η χρόνια υποκλινική φλεγμονή, που παρατηρούνται σε καταστάσεις αντίστασης στην ινσουλίνη, σε συνδυασμό με τη γλυκοτοξικότητα που χαρακτηρίζει το ΣΔ2, συμβάλλουν στη βλάβη του ενδοθηλίου και την

αυξημένη καρδιαγγειακή νοσηρότητα και θνησιμότητα των ΣΔ2 ασθενών (Εικόνα 2.5), (Kim *et al.*,2006).

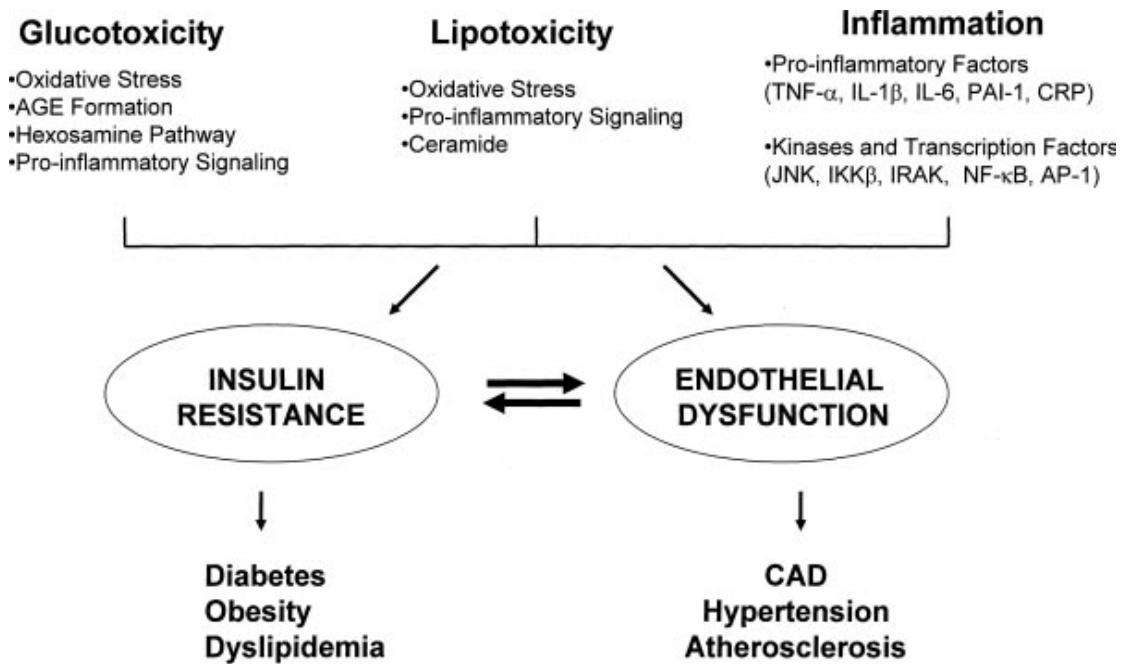
### **2.7.1.1 Γλυκοτοξικότητα**

Η υπεργλυκαιμία που σχετίζεται με το ΣΔ2 προκαλεί οξειδωτικό στρες, σχηματισμό τελικών προϊόντων μη ενζυμικής γλυκοζυλίωσης (advanced glycated end products, AGEs) και αυξημένη ροή αυτών μέσω της οδού της εξωζαμίνης (Muniyappa *et al.*,2007). Η αυξημένη παραγωγή ROS σχετίζεται με την ενεργοποίηση ποικίλων κινασών της σερίνης, οδηγώντας σε φωσφορυλίωση της σερίνης του IRS-1 και μειωμένη ενεργοποίηση της PI 3-κινάσης (Kim *et al.*,2006). Επιπλέον, οι ROS ενεργοποιούν προφλεγμονώδεις οδούς, επάγοντας έτσι την παραγωγή κυττοκινών όπως η IL-1 και ο TNF- $\alpha$ .(Kamata *et al.*, 2005). Επιπλέον, τα αυξημένα επίπεδα AGEs, που προέρχονται από τη μη ενζυμική γλυκοζυλίωση πρωτεϊνών και λιπιδίων, επίσης παρεμποδίζουν τη φωσφορυλίωση της τυροσίνης των IRS-1 και IRS-2 υποδοχέων και προκαλούν οξειδωτικό στρες (Miele *et al.*,2003).

### **2.7.2 Σύζευξη αντίστασης στην ινσουλίνη-ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας**

Όπως προαναφέρθηκε, σε συνθήκες υγείας υπάρχει σύζευξη μεταξύ των μεταβολικών και αγγειακών δράσεων της ινσουλίνης. Έτσι, σε καταστάσεις αντίστασης στην ινσουλίνη (ΣΔ2, παχυσαρκία, δυσλιπιδαιμία, μεταβολικό σύνδρομο), ποικίλοι στρεσογόνοι παράγοντες προκαλούν ταυτόχρονα αντίσταση στην ινσουλίνη στους μεταβολικούς ιστούς και ενδοθηλιακή δυσλειτουργία στα αγγεία (Kim *et al.*,2006). Έτσι, η γλυκοτοξικότητα, η λιποτοξικότητα και η φλεγμονή, που προκαλούν αντίσταση στην ινσουλίνη επιδρώντας ποικιλοτρόπως στην οδό της PI3-κινάσης, επηρεάζουν ταυτόχρονα με τις μεταβολικές και τις αγγειακές δράσεις της ινσουλίνης, οδηγώντας σε μειωμένη παραγωγή NO από το ενδοθήλιο (Muniyappa *et al.*,2007). Ταυτόχρονα η αντιδραστική υπερινσουλιναίμια, που είναι αποτέλεσμα της αντίστασης στην ινσουλίνη, επιτείνει τις προϋπερτασικές και αθηρωγόνες δράσεις της ινσουλίνης στο αγγειακό τοίχωμα (Taniguchi *et al.*, 2006). Αυξάνει, επίσης, την έκφραση των προσκολλητικών μορίων (ICAM, VCAM, E-selectin) καθώς και του PAI-1 και της ET-1 μέσω της ενεργοποίησης της οδού της MAPK κινάσης (Montagnani *et al.*,2001). Τα αίτια, επομένως, της αντίστασης στην ινσουλίνη δημιουργούν ένα φαύλο κύκλο, που ενισχύει την αμφίδρομη σχέση μεταξύ των μεταβολικών και καρδιαγγειακών διαταραχών (Kim *et al.*,2006). Έτσι, θεραπευτικές παρεμβάσεις που μειώνουν την αντίσταση στην ινσουλίνη

αναστρέφουν ταυτόχρονα και τις καρδιαγγειακές διαταραχές, όπως έχουν δείξει σειρές πειραματικών και κλινικών μελετών (Kim *et al.*,2006).



**Εικόνα 2.5.** Σχέση αντίστασης στην ινσουλίνη με ενδοθηλιακή δυσλειτουργία.  
*Kim et al. Circulation 2006;113:1888-1904.*

## 2.8 Επίδραση του ΣΔ2 στην καρδιακή δομή και λειτουργία

Ο ΣΔ2 σχετίζεται με σημαντικά αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης καρδιακής ανεπάρκειας (ΚΑ), (Nichols *et al.*,2004). Αν και η σχέση μεταξύ ΣΔ2 και καρδιακής ανεπάρκειας είναι καλά τεκμηριωμένη, οι υποκείμενοι μηχανισμοί παραμένουν ασαφείς. Οι συνυπάρχουσες νοσηρότητες, όπως η υπέρταση, η μικροαγγειοπάθεια, η μυοκαρδιακή ισχαιμία και η νεφροπάθεια μπορούν να εξηγήσουν την ανάπτυξη καρδιακής ανεπάρκειας στους ΣΔ2 ασθενείς. Η ύπαρξη της «διαβητικής καρδιομυοπάθειας», μιας κλινικής διαδικασίας που οδηγεί σε καρδιακή ανεπάρκεια ανεξάρτητα από την ύπαρξη αθηροσκλήρωσης και υπέρτασης έχει επίσης προταθεί στους ΣΔ2 ασθενείς (Boudina, Abel 2007, Fonarow, Srikanthan 2006). Η διαστολική δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας (ΔΔΑΚ) έχει αναγνωριστεί ως πρόιμη εκδήλωση μυοκαρδιακής δυσλειτουργίας στους ΣΔ2 ασθενείς. Η ΔΔΑΚ, εκτιμώμενη με υπερηχοκαρδιογραφία, ανιχνεύεται στο 60-75% ασυμπτωματικών ασθενών με ΣΔ2 (Annonu *et al.*,2001, Boyer *et al.*,2004).



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3<sup>ο</sup>

### ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ II

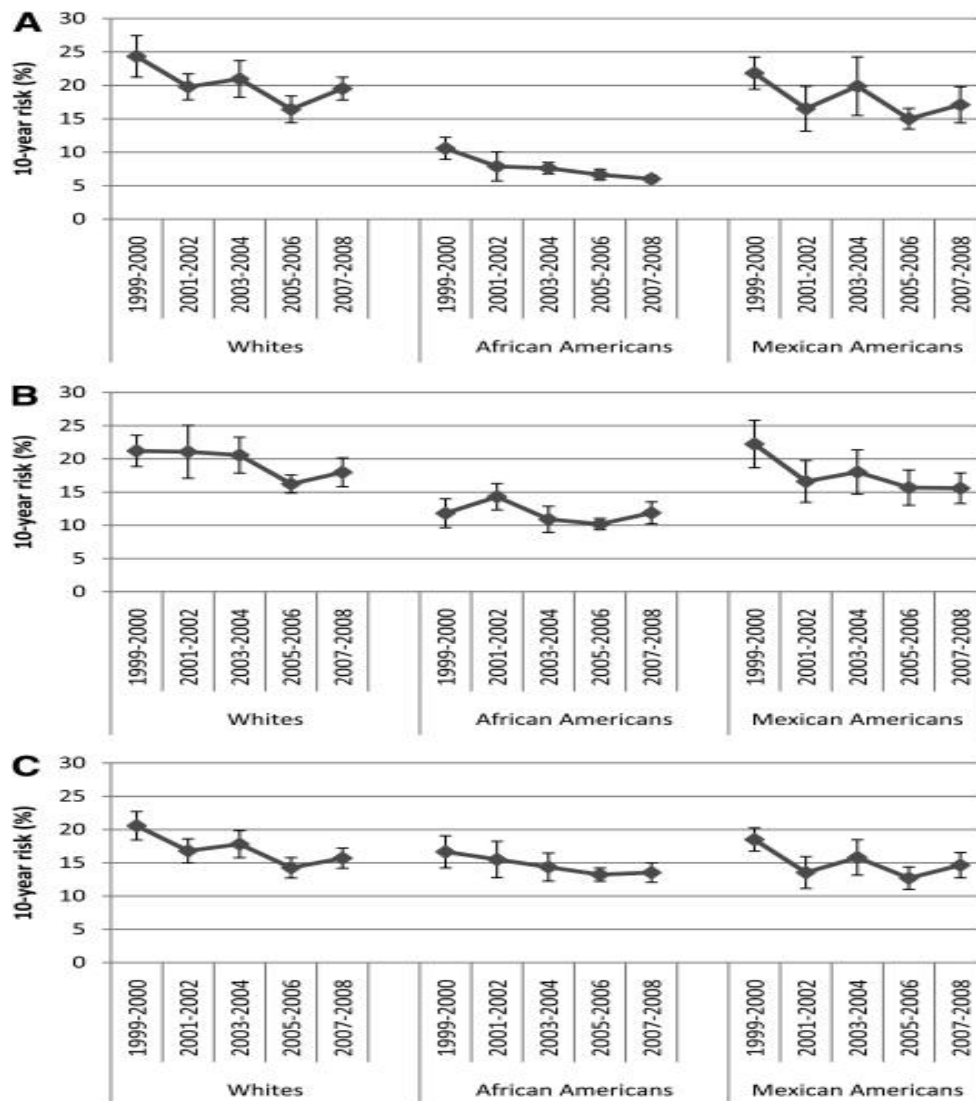
#### 3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο ΣΔ2 έχει γίνει μία συνεχώς αυξανόμενη και δαπανηρή χρόνια νόσος, η επίπτωση της οποίας έχει πλέον πάρει διαστάσεις επιδημίας, επηρεάζοντας ανθρώπους όλων των ηλικιών. Η έλλειψη άσκησης και η παχυσαρκία ευθύνονται κυρίως για τη ραγδαία αυτή αύξηση της επίπτωσης της νόσου, που παρατηρήθηκε τα τελευταία 30 χρόνια (Mazzola 2012). Όπως προαναφέρθηκε, ο ΣΔ2 συνοδεύεται από μακροαγγειακές και μικροαγγειακές επιπλοκές, στις οποίες αποδίδεται η σημαντική νοσηρότητα και θνησιμότητα (Mazzola 2012, Utsunomiya 2012), καθώς και το υψηλό κόστος που χαρακτηρίζει την αντιμετώπιση της νόσου (περίπου το 15% των δαπανών υγείας στις Η.Π.Α για το έτος 2007), (Stolar *et al.*,2008). Συγκεκριμένα, η υψηλή θνησιμότητα της νόσου οφείλεται κυρίως στις μακροαγγειακές επιπλοκές (εμφράγματα, αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια, περιφερική αρτηριακή νόσος), που ευθύνονται για το 80% των θανάτων αλλά και για το υψηλό κόστος της θεραπείας των ΣΔ2 ασθενών (Morrish *et al.*,2001).

Επομένως, ο σκοπός της θεραπείας των ασθενών αυτών δεν είναι μόνο ο γλυκαιμικός έλεγχος, αλλά και η πρόληψη των επιπλοκών. Πράγματι, η θεραπευτική προσέγγιση των ασθενών αυτών είναι πολυπαραγοντική και αποβλέπει όχι μόνο στη ρύθμιση της υπεργλυκαιμίας, αλλά και στον έλεγχο των παραγόντων κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο. Έτσι, για τη αντιμετώπισή της απαιτείται συνεχής ιατρική φροντίδα καθώς και εκπαίδευση και υποστήριξη των ασθενών, προκειμένου να προληφθούν οι οξείες επιπλοκές και να μειωθεί ο κίνδυνος εμφάνισης των μακροπρόθεσμων επιπλοκών (ADA 2013).

Οι πιο συχνές παθήσεις που συνυπάρχουν με το ΣΔ2, δηλαδή η υπέρταση, η δυσλιπιδαιμία, η υπερπηκτικότητα και η κεντρική παχυσαρκία, αποτελούν επίσης τους κλασσικούς παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο. Επιπλέον, ο ΣΔ2 από μόνος του αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο (ADA 2013). Επομένως, για την πρόληψη των καρδιαγγειακών επιπλοκών και προκειμένου να μειωθεί το κόστος από την

συνακόλουθη χρήση των υπηρεσιών υγείας που απαιτείται για την αντιμετώπισή τους, χρειάζεται επιθετική αντιμετώπιση όλων αυτών των παραγόντων κινδύνου (Stolar *et al.*, 2008). Πράγματι, μελέτες έχουν δείξει ότι ο έλεγχος καθενός από τους παράγοντες αυτούς μπορεί να επιβραδύνει ή και να μειώσει την επίπτωση της καρδιαγγειακής νόσου, με τα βέλτιστα αποτελέσματα να επιτυγχάνονται όταν οι παράγοντες αυτοί ρυθμίζονται συνολικά (Buse *et al.*, 2007, Gaede *et al.*, 2008). Έτσι, πρόσφατη μελέτη που διενεργήθηκε στις Η.ΠΑ σχετικά με τη δεκαετή επίπτωση της καρδιαγγειακής νόσου σε ΣΔ2 ασθενείς, έδειξε ότι ο καρδιαγγειακός κίνδυνος μειώθηκε σημαντικά (από 21.1% το διάστημα 1999–2000 σε 16.4% το 2007–2008,  $P_{\text{linear trend}} < 0.001$ ), (Ford 2011).



**Εικόνα 3.1.** Υπολογιζόμενος 10ετής κίνδυνος (95% CI) εμφάνισης στεφανιαίας νόσου σε ενήλικους με διαγνωσμένο ΣΔ2 στις Η.ΠΑ. *Diabetes Care.* 2011 June; 34(6): 1337–1343.

## 3.2 Θεραπεία ΣΔ2 ασθενών

Η παροχή φροντίδας στους διαβητικούς ασθενείς είναι πολυπαραγοντική και περιλαμβάνει τη συνεργασία διαφορετικών επαγγελματιών υγείας (ιατρών, νοσηλευτών, διαιτολόγων, ψυχολόγων), καθώς και του ίδιου του ασθενή. Οι ασθενείς, ειδικά, έχουν ενεργό ρόλο στη φροντίδα τους και η θεραπεία πρέπει να προσαρμόζεται στις ανάγκες, τις προσδοκίες και τον τρόπο ζωής τους. Επομένως, η εκπαίδευση των ασθενών σχετικά με την αυτοδιαχείριση της νόσου αποτελεί βασικό συστατικό της φροντίδας τους (ADA 2013).

Σχετικά με τη φαρμακευτική αντιμετώπιση της νόσου, αυτή πρέπει να περιλαμβάνει, όπως προαναφέρθηκε, όχι μόνο τον έλεγχο της υπεργλυκαιμίας, που αποτελεί την κύρια μεταβολική διαταραχή του ΣΔ2, αλλά και των συνυπαρχουσών νοσολογικών οντοτήτων, προκειμένου να προληφθούν οι μικροαγγειακές και μακροαγγειακές επιπλοκές (Mazzola 2012).

### 3.2.1 Υπεργλυκαιμία

#### 3.2.1.1 Σχέση γλυκαιμικού ελέγχου με επίπτωση επιπλοκών – κόστος υπηρεσιών υγείας

Σύμφωνα με τη μελέτη UKPDS (The United Kingdom Prospective Diabetes Study), η αυστηρή ρύθμιση του σακχάρου φαίνεται ότι συντελεί στην κατά 25% μείωση του κινδύνου για μικροαγγειακές επιπλοκές (UKPDS 1998), ενώ παράλληλα συμβάλει στη μείωση της θνησιμότητας και από καρδιαγγειακές επιπλοκές (Stratton *et al.*, 2000). Πράγματι, η τελευταία μελέτη έδειξε ότι για κάθε 1% μείωση της HbA<sub>1c</sub> παρατηρείται μείωση της θνησιμότητας από όλα τα αίτια κατά 21%, της επίπτωσης του εμφράγματος του μυοκαρδίου κατά 14% και των μικροαγγειακών επιπλοκών κατά 37%, με το μεγαλύτερο όφελος να παρατηρείται σε ασθενείς με HbA<sub>1c</sub> > 8%.

Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι η υπεργλυκαιμία μόνη της ευθύνεται εν μέρει μόνο για τον αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο που παρατηρείται στους ΣΔ2 ασθενείς. Αντίθετα, είναι η κυρίως υπεύθυνη για τις μικροαγγειακές επιπλοκές των ασθενών αυτών. Παρόμοια ήταν και τα ευρήματα της μελέτης ADVANCE (the Action in Diabetes and Vascular Disease: Preterax and Diamicron Modified Release Controlled Evaluation [ADVANCE] trial), η οποία έδειξε μη σημαντική μείωση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων

από τον εντατικό γλυκαιμικό έλεγχο (ADVANCE 2008). Ωστόσο, ακόμα και μικρές βελτιώσεις της υπεργλυκαιμίας μπορούν να μειώσουν τις επιπλοκές από το ΣΔ2, ιδιαίτερα στους ασθενείς με υψηλή HbA<sub>1c</sub>, που έχουν και τον μεγαλύτερο κίνδυνο για την εμφάνιση επιπλοκών (Stratton *et al.*, 2000).

<b>Πίνακας 3.1. Σχέση μεταξύ γλυκαιμικού ελέγχου και επιπλοκών από το ΣΔ2.</b>		
<b>Καταληκτικό σημείο</b>	<b>Μείωση του κινδύνου (%) για κάθε 1% μείωση της A1C (95% CI)</b>	<b>Τιμή P</b>
<b>Θνησιμότητα από όλα τα αίτια</b>	14 (9-19)	< 0.001
<b>Οποιοδήποτε σχετιζόμενο με το ΣΔ2 καταληκτικό σημείο</b>	21 (17-24)	< 0.001
<b>Θνησιμότητα από το ΣΔ2</b>	21 (15-27)	< 0.001
<b>Έμφραγμα του μυοκαρδίου</b>	14 (8-21)	< 0.001
<b>Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο</b>	12 (1-21)	0.035
<b>Ακρωτηριασμός κάτω άκρων ή θνησιμότητα από περιφερική αγγειακή νόσο</b>	43 (31-53)	< 0.001
<b>Καρδιακή ανεπάρκεια</b>	16 (3-26)	0.016
<b>Μικροαγγειοπάθεια</b>	37 (33-41)	< 0.001
<b>Καταρράκτης</b>	19 (11-26)	< 0.001

*Από τους Stratton et al., BMJ 2000.*

Ο καλός γλυκαιμικός έλεγχος έχει επίσης οφέλη και στο κόστος και τη χρήση των υπηρεσιών υγείας (Stolar *et al.*,2008). Έχει βρεθεί ότι το ετήσιο κόστος παρακολούθησης είναι υψηλότερο σε ασθενείς με αυξημένη HbA<sub>1c</sub>, καθώς και σε αυτούς με συνυπάρχουσα καρδιαγγειακή νόσο, αρτηριακή υπέρταση, συνδυασμό αυτών και κατάθλιψη (Gilmer *et al.*,2005). Πράγματι, μελέτη έδειξε ότι η επίτευξη HbA<sub>1c</sub> ≤ 7% μείωσε το ετήσιο κόστος παρακολούθησης κατά 32% (Shetty *et al.*, 2005).

### **3.2.1.2 Θεραπευτικοί στόχοι**

Για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας χρησιμοποιούνται δύο τεχνικές: ο αυτοέλεγχος των ασθενών με μετρήσεις γλυκόζης τριχοειδικού αίματος προγευματικά και δύο ώρες μεταγευματικά, καθώς και η HbA<sub>1c</sub> (ADA 2013).

Στόχος της υπογλυκαιμικής αγωγής, σύμφωνα με τις τελευταίες κατευθυντήριες οδηγίες της Αμερικανικής Διαβητολογικής Ένωσης (American Diabetes Association, ADA), είναι η επίτευξη  $HbA_{1c} < 7\%$  (ADA 2013). Ο στόχος αυτός βασίζεται σε τεκμηριωμένες αποδείξεις ότι αυτά τα επίπεδα γλυκόζης αίματος σχετίζονται με μειωμένη επίπτωση μικροαγγειακών επιπλοκών σε ασθενείς με ΣΔ1 ή ΣΔ2 και μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου (σχετιζόμενης κυρίως με νεφροπάθεια) σε ΣΔ1 ασθενείς (Mazzola 2012). Επίσης, αν ο στόχος αυτός επιτευχθεί νωρίς κατά τη διάγνωση του ΣΔ2, οδηγεί μακροπρόθεσμα στη μείωση του κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο (ADA 2013). Επίπεδα  $HbA_{1c} \geq 7\%$  επιβάλλουν την έναρξη ή την τροποποίηση της αγωγής, έως ότου επιτευχθεί ο στόχος. Όσον αφορά τα επίπεδα γλυκόζης νηστείας αίματος, ο στόχος είναι να βρίσκονται μεταξύ 70 και 130 mg/dL, ενώ δύο ώρες μεταγευματικά  $< 180$  mg/dL (Mazzola 2012).

Ωστόσο, για επιλεγμένους ασθενείς, όπως αυτοί με μικρή διάρκεια διαβήτη, μεγάλο προσδόκιμο επιβίωσης και χωρίς ιδιαίτερα καρδιαγγειακά προβλήματα, μπορούν να τεθούν πιο αυστηροί γλυκαιμικοί στόχοι, δηλαδή τιμές  $HbA_{1c}$  περίπου στο 6.5%. Στην περίπτωση αυτή θα πρέπει όμως να αποφεύγονται οι υπογλυκαιμίες ή άλλες σοβαρές παρενέργειες από τη θεραπεία (ADA 2013). Πράγματι, πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι οι πολύ αυστηροί γλυκαιμικοί στόχοι, και ιδιαίτερα τιμές  $HbA_{1c} < 6\%$ , σχετίζονται με αυξημένη καρδιαγγειακή θνησιμότητα και ότι δεν έχουν ευνοϊκό αποτέλεσμα στις πρωτεύουσες καρδιαγγειακές εκβάσεις (ADVANCE, Action 2008).

Αντίθετα, λιγότερο αυστηροί στόχοι ( $HbA_{1c} \sim 8\%$ ) πρέπει να εφαρμόζονται σε επιλεγμένους ασθενείς με ιστορικό σοβαρών υπογλυκαιμιών, περιορισμένο προσδόκιμο επιβίωσης, προχωρημένες μικροαγγειακές ή μακροαγγειακές επιπλοκές, μακροχρόνιο διαβήτη και σοβαρές συνοσηρότητες (ADA 2013).

Στον πίνακα 3.2 παρατίθενται συνοπτικά οι γλυκαιμικοί στόχοι για τους ΣΔ2 ασθενείς.

Πίνακας 3.2. Σύνοψη των γλυκαιμικών στόχων για μη εγκύους ενηλίκους ασθενείς με ΣΔ2 (ADA 2013)	
<b>A1C</b>	7.0%
<b>Προγευματική τιμή γλυκόζης τριχοειδικού αίματος</b>	70–130mg/dL (3.9–7.2mmol/L)
<b>Μέγιστη μεταγευματική τιμή γλυκόζης τριχοειδικού αίματος</b>	180 mg/dL (10.0 mmol/L)
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Οι στόχοι θα πρέπει να εξατομικεύονται με βάση:               <ul style="list-style-type: none"> <li>• Τη διάρκεια του ΣΔ2</li> <li>• Την ηλικία /προσδόκιμο επιβίωσης</li> <li>• Τις συνυπάρχουσες νόσους</li> <li>• Γνωστή καρδιαγγειακή νόσο ή σοβαρές μικροαγγειακές επιπλοκές</li> <li>• Ανεπίγνωστη υπογλυκαιμία</li> <li>• Προσωπικές εκτιμήσεις των ασθενών</li> </ul> </li> <li>• Περισσότερο ή λιγότερο αυστηροί γλυκαιμικοί στόχοι θα πρέπει να εφαρμόζονται για συγκεκριμένους ασθενείς</li> <li>• Οι μεταγευματικές τιμές γλυκόζης θα πρέπει να ελέγχονται στην περίπτωση που δεν επιτυγχάνεται ο στόχος της HbA1c και οι προγευματικές τιμές γλυκόζης είναι εντός των φυσιολογικών ορίων.</li> </ul>	
Οι μεταγευματικές μετρήσεις της γλυκόζης θα πρέπει να γίνονται 1-2 ώρες μετά την έναρξη του γεύματος.	

### 3.2.1.3 Θεραπεία υπεργλυκαιμίας

Η θεραπευτική αντιμετώπιση της υπεργλυκαιμίας περιλαμβάνει, παραδοσιακά, τη χρήση φαρμακευτικών παραγόντων που στοχεύουν στις δύο κύριες μεταβολικές διαταραχές που την προκαλούν, δηλαδή την ανεπάρκεια των β-κυττάρων ή/και την αντίσταση στην ινσουλίνη (σε μυϊκό, λιπώδη ιστό και ήπαρ). Τελευταία, ωστόσο, έχουν προστεθεί στη φαρμακευτική φαρέτρα νέοι παράγοντες, που στοχεύουν σε άλλες διαταραχές, που πρόσφατα έχει ανακαλυφθεί ότι συντελούν στην επαγωγή της υπεργλυκαιμίας (Mazzola 2012).

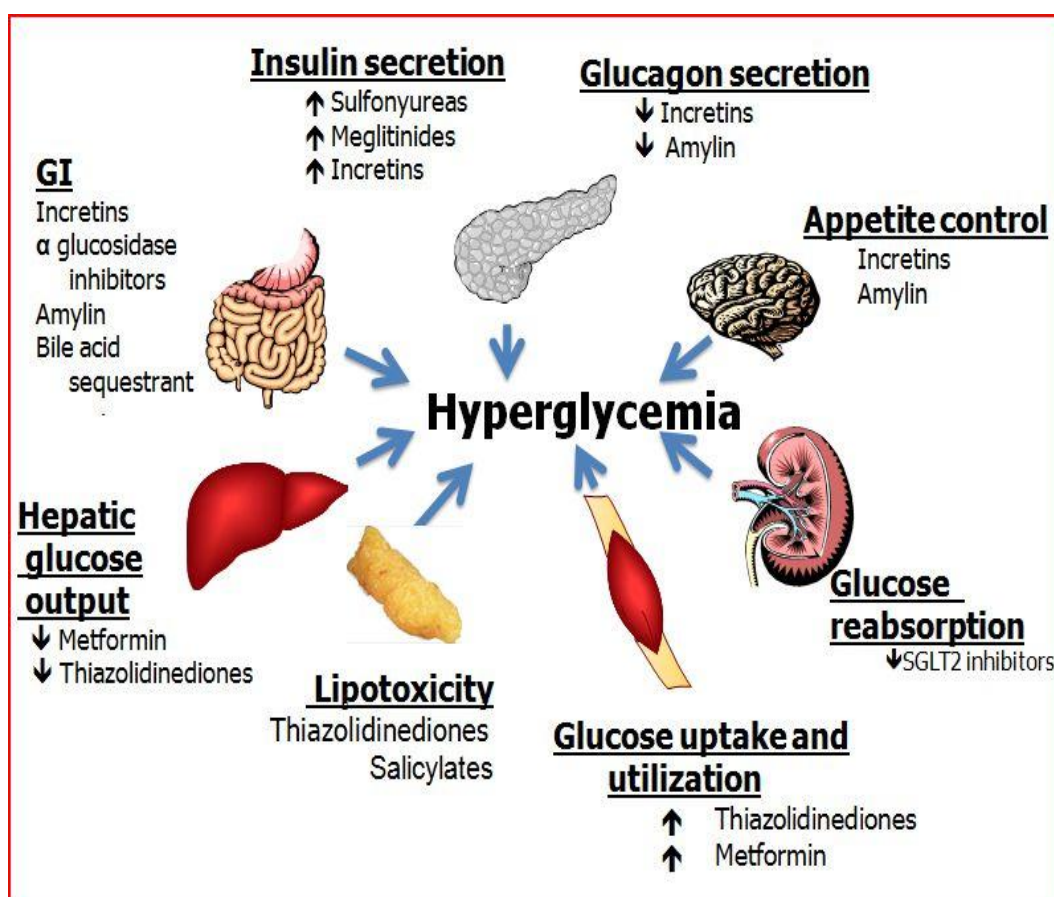
Πιο ειδικά, τέσσερα είναι πλέον τα μεταβολικά αίτια που θεωρείται ότι προκαλούν υπεργλυκαιμία στο ΣΔ2 (DeFronzo 2009, Koshiyama *et al.*,2008):

- 1) Η αντίσταση στην ινσουλίνη (σε μυϊκό και λιπώδη ιστό), που οδηγεί σε μεταγευματική υπεργλυκαιμία και εξεσημασμένη λιπόλυση, αντίστοιχα.

- 2) Η μειωμένη παραγωγή ινσουλίνης από τα β-κύτταρα του παγκρέατος.
- 3) Η αντίσταση στην ινσουλίνη στο ήπαρ, που προκαλεί αυξημένη παραγωγή γλυκόζης και συντελεί κυρίως στην πρωινή υπεργλυκαιμία.
- 4) Η αντίσταση ή/και ανεπάρκεια ινκρετινών στο γαστρεντερικό σωλήνα, που θα περιγραφεί αναλυτικά στη συνέχεια του κεφαλαίου.

Τελευταία, μελετάται και η αυξημένη επαναρρόφηση γλυκόζης από τους νεφρούς ως αίτιο υπεργλυκαιμίας (DeFronzo 2009).

Η ιδανική θεραπευτική στρατηγική για την αντιμετώπιση της υπεργλυκαιμίας θα πρέπει να περιλαμβάνει τη διευθέτηση και των τεσσάρων αυτών μεταβολικών διαταραχών (Stolar *et al.*, 2008). Επίσης, θα πρέπει να συνεκτιμάται και η πιθανή επίδραση των φαρμάκων αυτών στις συνοσηρότητες, που χαρακτηρίζουν το ΣΔ2 (ΑΥ, δυσλιπιδαιμία, παχυσαρκία, διαταραχές πήξης κ.α) (Mazzola 2012).



Εικόνα 3.2. Θέσεις δράσης των αντιδιαβητικών παραγόντων.

Evans. Στο: [www.endotext.or](http://www.endotext.or)

### 3.3 Θεραπευτικά πρωτόκολλα

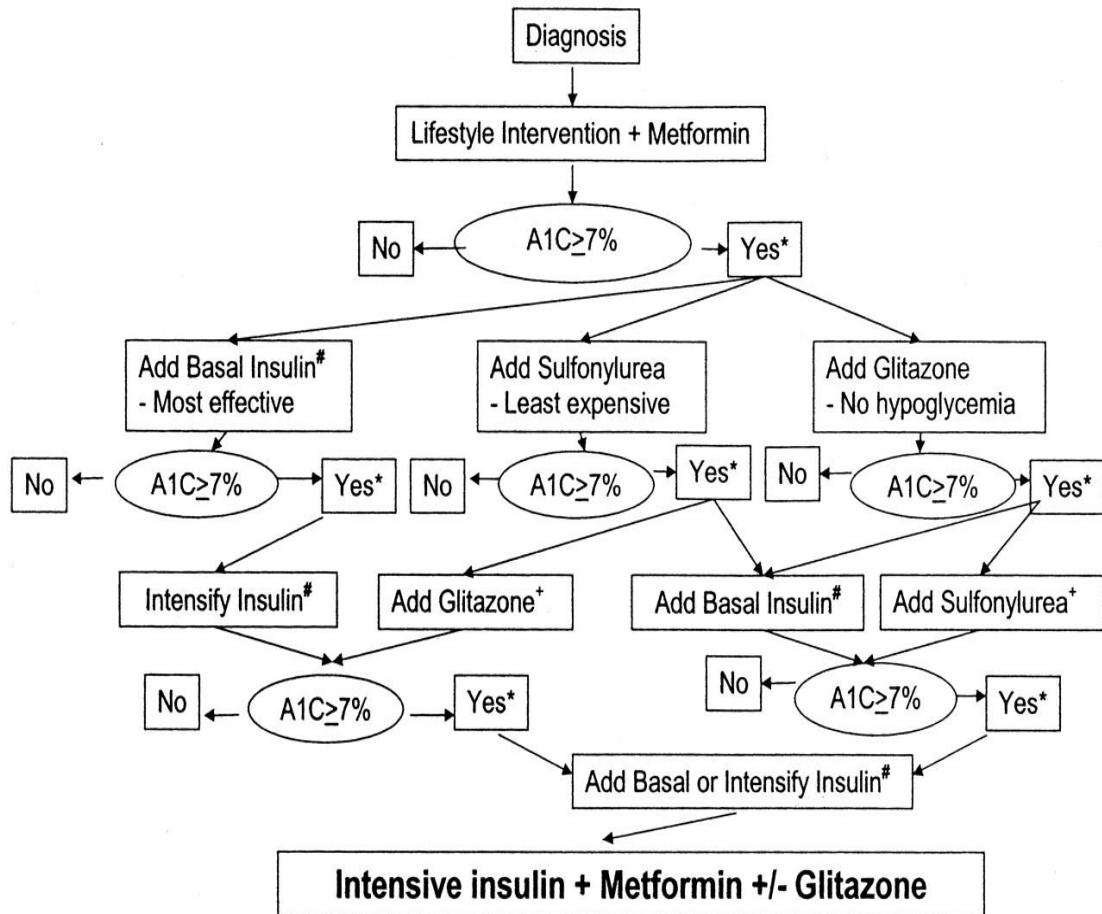
Η ADA και η EASD (European Association for the Study of Diabetes) ανακοίνωσαν πρόσφατα από κοινού τις τελευταίες κατευθυντήριες οδηγίες για την αντιμετώπιση της υπεργλυκαιμίας στους ΣΔ2 ασθενείς (ADA 2013).

Η αρχική θεραπευτική προσέγγιση πρέπει να περιλαμβάνει πάντα αλλαγές στον τρόπο ζωής, όπως διαίτα, άσκηση και απώλεια βάρους. Η διαίτα θα πρέπει να είναι περιορισμένη σε θερμίδες και υδατάνθρακες και πλούσια σε φυτικές ίνες και δημητριακά ολικής άλεσης. Η συνιστώμενη απώλεια βάρους θα πρέπει να είναι της τάξης του 5%-10%, ενώ η άσκηση θα πρέπει να περιλαμβάνει τουλάχιστον 150 λεπτά/εβδομάδα ήπια δραστηριότητα, όπως περπάτημα (ADA 2013). Ωστόσο, τα μέτρα αυτά, αν και είναι απαραίτητα για την επιτυχή αντιμετώπιση της υπεργλυκαιμίας, συνήθως δεν επαρκούν από μόνα τους για την επίτευξη  $HbA_{1c} < 7\%$ . Επιπλέον, η μακροπρόθεσμη συμμόρφωση σε αυτά είναι συνήθως ελλιπής, όπως αποδεικνύει το υψηλό ποσοστό επαναπρόσληψης βάρους μεταξύ των παχύσαρκων ασθενών. Η βαριατρική χειρουργική, που μπορεί να εφαρμοστεί σε ενήλικους ΣΔ2 ασθενείς με  $BMI \geq 35 \text{ kg/m}^2$  (ADA 2013), μπορεί να μειώσει το βάρος κατά 20 ή και περισσότερα κιλά και να οδηγήσει σε περιορισμό της βαρύτητας του ΣΔ2 (Mazzola 2012). Έτσι, η φαρμακευτική αντιμετώπιση παραμένει η κύρια μακροπρόθεσμη παρέμβαση για την πλειονότητα των ασθενών (Stolar *et al.*, 2008).

Στην εικόνα 3.3 παρατίθεται ο αλγόριθμος για τη θεραπεία της υπεργλυκαιμίας στο ΣΔ2, σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες της ADA το 2007.



### Algorithm for the metabolic management of type 2 diabetes.



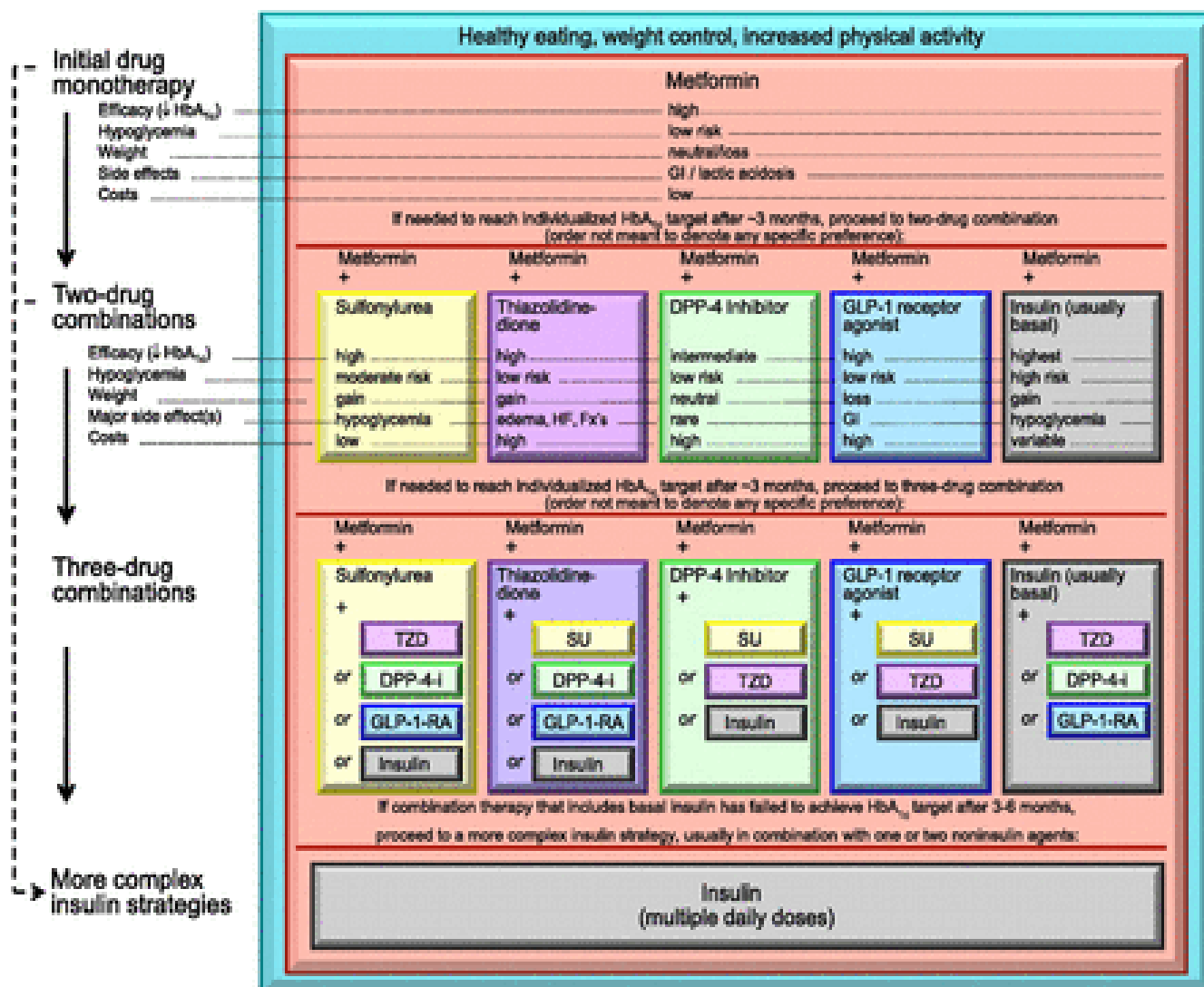
American Diabetes Association Dia Care 2007;30:S4-S41



Copyright © 2011 American Diabetes Association, Inc.

**Εικόνα 3.3.** Αλγόριθμος θεραπευτικής αντιμετώπισης ΣΔ2, ADA 2007.

Ωστόσο, με βάση τις τελευταίες κατευθυντήριες οδηγίες της ADA TO 2014, ο αλγόριθμος αυτός έχει διαμορφωθεί ως εξής (Εικόνα 3.4):



**Εικόνα 3.4.** Αλγόριθμος θεραπευτικής αντιμετώπισης ΣΔ2, ADA 2014.

*Diabetes Care 2014; 37(1): S14-80.*

Όπως φαίνεται και από τον παραπάνω αλγόριθμο, η μετφορμίνη αποτελεί την αρχική επιλογή για τη θεραπεία του ΣΔ2, εφόσον δεν αντενδεικνύεται και είναι καλά ανεκτή. Η HbA<sub>1c</sub> θα πρέπει να ελέγχεται κάθε 3 μήνες, έως ότου ο θεραπευτικός στόχος επιτευχθεί και στη συνέχεια κάθε 6 μήνες. Σε περίπτωση που η μονοθεραπεία με τη μέγιστη δόση μετφορμίνης δεν καταφέρει να πετύχει το στόχο σε 3 με 6 μήνες, απαιτείται η προσθήκη ενός δεύτερου παράγοντα π.ος (σουλφονουλουρίας, γλιταζόνης, DDP-4 αναστολέα), GLP-1 αναλόγου ή ινσουλίνης. Η ίδια τακτική θα πρέπει να εφαρμόζεται κάθε φορά που ο

θεραπευτικός στόχος αποτυγχάνει, στην πορεία του διαβήτη (Nathan *et al.*, 2009). Επίσης, σε νεοδιαγνωσθέντες ΣΔ2 ασθενείς με πολύ αυξημένα επίπεδα γλυκόζης,  $HbA_{1c} > 8.5\%$  ή έντονη συμπτωματολογία μπορεί να χορηγηθεί ινσουλίνη εξ αρχής, με ή χωρίς από του στόματος αγωγή. Εξαιτίας της προοδευτικής φύσης της νόσου, οι περισσότεροι ασθενείς θα χρειαστούν τελικά ινσουλίνη. Πρέπει να τονιστεί ότι η επιλογή της κατάλληλης θεραπευτικής αγωγής θα πρέπει να εξατομικεύεται ανάλογα με τον ασθενή. Δηλαδή, θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη η αποτελεσματικότητα, το κόστος, πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες, η επίδραση στο βάρος σώματος του ασθενούς, ο κίνδυνος υπογλυκαιμίας, οι συννοσηρότητες καθώς και οι προτιμήσεις και οι προσδοκίες του ασθενούς από την αγωγή του (ADA 2014).

Όσον αφορά τη μείωση των μακροπρόθεσμων επιπλοκών, οι οδηγίες αποφεύγουν να προτείνουν έναν συγκεκριμένο παράγοντα ή συνδυασμό έναντι άλλων, καθώς η ελάττωση του κινδύνου αποδίδεται κυρίως στο επίπεδο του γλυκαιμικού ελέγχου και όχι στις ιδιότητες του κάθε παράγοντα. Ωστόσο, η επίδραση του κάθε φαρμάκου στους καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου (υπέρταση, δυσλιπιδαιμία κτλ) καθώς επίσης και στο μακροπρόθεσμο γλυκαιμικό έλεγχο είναι επίσης σημαντικές (Stolar *et al.*, 2008, Mazzola 2012). Επίσης, κρίσιμο σημείο για την επιλογή αγωγής είναι και η διάρκεια του διαβήτη, καθώς ουσίες όπως οι γλιταζόνες και οι DPP-4 αναστολείς απαιτούν επαρκή έκκριση ενδογενούς ινσουλίνης για να δράσουν (Stolar *et al.*, 2008).

### **3.4 Υπογλυκαιμικά φάρμακα**

#### **3.4.1 Μετφορμίνη**

Η μετφορμίνη είναι το μόνο διαθέσιμο διγουανίδιο και χρησιμοποιείται, όπως προαναφέρθηκε, σαν θεραπεία πρώτης γραμμής για τη θεραπεία του ΣΔ2 (ADA 2013). Η χρήση της παλαιότερης φαινορμίνης έχει απαγορευθεί σε πολλές χώρες λόγω αυξημένης επίπτωσης θανατηφόρου γαλακτικής οξέωσης. Ο μηχανισμός δράσης της μετφορμίνης είναι η μείωση της ηπατικής παραγωγής γλυκόζης, επομένως και της υπεργλυκαιμίας νηστείας, μέσω της μείωσης της ηπατικής αντίστασης στην ινσουλίνη (Nathan *et al.*, 2006, Uwaifo, Ratner 2007). Επίσης, μειώνει σε μικρότερο βαθμό και την αντίσταση στην ινσουλίνη στους μύες, ελαττώνοντας και τη μεταγευματική υπεργλυκαιμία, ενώ μειώνει και την εντερική απορρόφηση της γλυκόζης (Fisman *et al.*, 2004). Η συνήθης δόση είναι 850-1000 mg 2 φορές την ημέρα, ενώ η μέγιστη δόση είναι 2.5g/24ωρο. Η μετφορμίνη δεν μεταβολίζεται, αλλά αποβάλλεται αναλλοίωτη από τους νεφρούς, τόσο μέσω σωληναριακής έκκρισης όσο και

σπειραματικής διήθησης σε νεφρική ανεπάρκεια (Goodarzi *et al.*, 2005). Όταν χρησιμοποιείται σαν μονοθεραπεία, η μετφορμίνη προκαλεί μείωση της  $Ab1_C$  της τάξης του 1.5% (Stolar *et al.*, 2008). Ωστόσο, η αποτελεσματικότητά της ως μονοθεραπεία είναι περιορισμένη, καθώς μόνο το 44% των ασθενών διατηρεί  $Ab1_C < 7\%$  μετά από 3 χρόνια, ενώ ακόμη μικρότερο ποσοστό, περίπου το 13% των ασθενών, εξακολουθεί να πετυχαίνει αυτό το στόχο μετά από 9 χρόνια. Ο περιορισμός της μακροχρόνιας αποτελεσματικότητας της μετφορμίνης ως μονοθεραπείας οφείλεται στην προοδευτική ανεπάρκεια των β-κυττάρων (Turner *et al.*, 1999).

Η χρήση της μετφορμίνης ως μονοθεραπεία σπάνια συνοδεύεται από υπογλυκαιμία. Ωστόσο, η συγχορήγηση με άλλους παράγοντες, κυρίως με ινσουλίνη ή σουλφονουλιδίες, μπορεί να οδηγήσει σε υπογλυκαιμία (Mazzola 2012). Η μετφορμίνη έχει ήπια ανορεξική δράση και, σε αντίθεση με τους περισσότερους αντιδιαβητικούς παράγοντες, δεν προκαλεί αύξηση του σωματικού βάρους. Για το λόγο αυτό η χορήγησή της προτιμάται συνήθως σε παχύσαρκους ασθενείς (Fisman *et al.*, 2004, Uwaifo, Ratner 2007).

Η χρήση της μετφορμίνης συνοδεύεται από ανεπιθύμητες ενέργειες κυρίως από το γαστρεντερικό, όπως διάρροια και ναυτία/έμετοι, που εμποδίζουν την επίτευξη χορήγησης της μέγιστης δόσης (Stolar *et al.*, 2008). Επίσης, η μακροχρόνια χορήγηση της μετφορμίνης προκαλεί δυσαπορρόφηση της ομάδας Β των βιταμινών και κυρίως της  $B_{12}$  και του φυλλικού οξέος (Adams *et al.*, 1983). Τέλος, η χορήγηση μετφορμίνης έχει σχετιστεί με σπάνιες περιπτώσεις θανατηφόρου γαλακτικής οξέωσης, ιδιαίτερα σε καταστάσεις που συνοδεύονται από ιστική υποξία. Ο δείκτης θνησιμότητας στις περιπτώσεις αυτές πλησιάζει το 50% (Misbin *et al.*, 1998). Για το λόγο αυτό, η χρήση της μετφορμίνης αντενδείκνυται σε νεφρική ανεπάρκεια (κρεατινίνη ορού  $\geq 1.5$  mg/dL στους άντρες και  $\geq 1.4$  mg/dL στις γυναίκες, ή GFR  $\leq 40$  ml/min), σε ασθενείς που έχουν λοίμωξη ή γάγγραινα, σε αλκοολισμό, στην κύηση και γαλουχία (Mazzola, 2012). Επίσης, θα πρέπει να χρησιμοποιείται με προσοχή σε ασθενείς με επηρεασμένη ηπατική λειτουργία καθώς και σε αυτούς με καρδιακή ανεπάρκεια και να διακόπτεται προσωρινά η χορήγησή της πριν από χειρουργικές επεμβάσεις ή ενδοφλέβια χορήγηση σκιαγραφικού για απεικονιστικούς σκοπούς (Stolar *et al.*, 2008).

Συνολικά, η μετφορμίνη λόγω της αποτελεσματικότητάς της, της μη πρόσληψης σωματικού βάρους, του χαμηλού κόστους και κινδύνου υπογλυκαιμίας συνιστάται από τις ADA-EASD σαν θεραπεία πρώτης γραμμής για το ΣΔ2 (Stolar *et al.*, 2008).

### 3.4.2 Σουλφονουλουρίες

Οι σουλφονουλουρίες είναι η παλαιότερη κατηγορία αντιδιαβητικών δισκίων, έχοντας διάρκεια ζωής περίπου 60 χρόνια και εξακολουθούν να αποτελούν βασικό εργαλείο στη θεραπεία των ΣΔ2 ασθενών. Διακρίνονται σε σουλφονουλουρίες «πρώτης γενεάς» (τολβουταμίδη, τολαζαμίδη, ακετοεξαμίδη και χλωροπροπαμίδη, που δεν κυκλοφορούν πλέον στη χώρα μας) και σε σουλφονουλουρίες «δεύτερης γενεάς» (γλιβενκλαμίδη, γλικλαζίδη, γλιπιζίδη, γλιμεπιρίδη), (Fisman *et al.*, 2004). Ο μηχανισμός δράσης των σουλφονουλουριών είναι η απευθείας διέγερση της έκκρισης ινσουλίνης από το πάγκρεας μέσω της σύνδεσης με ειδικούς υποδοχείς στα β-κύτταρα του παγκρέατος, η οποία ακολουθείται από κλείσιμο των ATP-εξαρτώμενων διαύλων καλίου ( $K^+$ ), εκπόλωση της κυτταρικής μεμβράνης, διάνοιξη των διαύλων ασβεστίου ( $Ca^{2+}$ ), είσοδο ιόντων ασβεστίου στο εσωτερικό του κυττάρου και διέγερση της έκκρισης ινσουλίνης (Uwaifo, Ratner, 2007). Η δράση αυτή των σουλφονουλουριών είναι υπεύθυνη τόσο για την έκκριση ινσουλίνης από τα β-κύτταρα του παγκρέατος όσο και για τις δυσμενείς συνέπειες από την καρδιά, που θα περιγραφούν στη συνέχεια (Fisman *et al.*, 2004).

Η κύρια δράση των σουλφονουλουριών είναι στην υπεργλυκαιμία νηστείας, με πολύ μικρότερη επίδραση στη μεταγευματική υπεργλυκαιμία (Uwaifo, Ratner, 2007). Όταν χρησιμοποιούνται σαν μονοθεραπεία, οι σουλφονουλουρίες προκαλούν μείωση της HbA1c όμοια με της μετορμίνης, δηλαδή περίπου κατά 1.5% (Nathan *et al.*, 2006). Οι σουλφονουλουρίες δεύτερης γενιάς έχουν γρηγορότερη έναρξη και μεγαλύτερη διάρκεια δράσης και μικρότερο χρόνο ημίσειας ζωής, σε σχέση με τις σουλφονουλουρίες πρώτης γενιάς (Evans *et al.*, 2010). Ειδική αναφορά πρέπει να γίνει στη γλιμεπιρίδη, η οποία είναι αποτελεσματική σε μικρότερες δόσεις, εμφανίζει αυξημένο χρόνο δράσης (χορηγείται μία φορά ημερησίως), μειωμένο κίνδυνο υπογλυκαιμίας, ενώ δεν αλληλεπιδρά με τους προσαρμοστικούς μηχανισμούς του μυοκαρδίου στην ισχαιμία, όπως θα περιγραφεί αναλυτικά παρακάτω (Uwaifo, Ratner, 2007).

Σε αντίθεση με τη μετορμίνη, οι σουλφονουλουρίες σχετίζονται πολύ συχνά με υπογλυκαιμία και με πρόσληψη σωματικού βάρους κατά 2 περίπου κιλά, με την έναρξη της θεραπείας (Stolar *et al.*, 2008). Οι νεότεροι ωστόσο παράγοντες, όπως η γλιμεπιρίδη, θεωρούνται ότι έχουν ουδέτερη επίδραση στο σωματικό βάρος (Mazzola, 2012). Αναφορικά με την υπογλυκαιμία, αποτελεί την κυριότερη παρενέργεια των σουλφονουλουριών, αν και σοβαρά επεισόδια που να απαιτούν νοσηλεία, όπως κόμα ή παραισθησίες, δεν είναι συχνά και εμφανίζονται κυρίως σε ηλικιωμένους. Για το λόγο αυτό, η έναρξη της αγωγής θα πρέπει

να γίνεται με την ελάχιστη συνιστώμενη δόση (Nathan *et al.*, 2006). Όπως και η μετφορμίνη, οι σουλφονουλουρίες έχουν περιορισμένο μακροπρόθεσμο αποτέλεσμα, καθώς παρουσιάζουν ετήσια μείωση της αποτελεσματικότητας της τάξης του 3-10%, που οφείλεται στην προοδευτική έκπτωση της λειτουργίας των β-κυττάρων (Lebovitz 2000).

Συνολικά, με βάση τη μακρόχρονη εμπειρία από τη χρήση των σουλφονουλουριών, την αποτελεσματικότητα και το χαμηλό κόστος, οι ADA-EASD συνιστούν τις σουλφονουλουρίες σαν θεραπεία δεύτερης γραμμής σε ασθενείς των οποίων η HbA<sub>1c</sub> παραμένει υψηλή, παρά τη λήψη μετφορμίνης (Nathan *et al.*, 2006).

### 3.4.3 Μεγλιτινίδες

Η κατηγορία αυτή των φαρμάκων χρησιμοποιείται πλέον σπάνια στη χώρα μας. Σε αυτές ανήκουν η ρεπαγλινίδη και η νατεγλινίδη. Πρόκειται για ινσουλινοεκκριτικούς παράγοντες, που έχουν μηχανισμό δράσης παρόμοιο με αυτόν των σουλφονουλουριών, δρουν δηλαδή κλείνοντας τις ATP-εξαρτώμενες αντλίες K<sup>+</sup>, αν και συνδέονται σε διαφορετικές θέσεις στους υποδοχείς αυτούς από ότι οι σουλφονουλουρίες (Fisman *et al.*, 2004). Χορηγούνται μέχρι και τρεις φορές την ημέρα, λίγο πριν από τη λήψη των γευμάτων και δρουν κυρίως στη μεταγευματική γλυκόζη. Επίσης, έχουν γρηγορότερη έναρξη δράσης και μικρότερο χρόνο ημίσειας ζωής από ότι οι σουλφονουλουρίες. Έτσι, προκαλούν συχνότερα υπογλυκαιμίες από ότι οι σουλφονουλουρίες. Από τις δύο μεγλιτινίδες, η νατεγλινίδη έχει πιο φυσιολογική επίδραση στην έκκριση ινσουλίνης από ότι η ρεπαγλινίδη, προκαλώντας σπανιότερα μεν υπογλυκαιμίες, αλλά μειώνοντας λιγότερο τη HbA<sub>1c</sub> (Hu *et al.*, 2001, Nathan *et al.*, 2006). Τέλος, προκαλούν αύξηση του σωματικού βάρους περίπου στον ίδιο βαθμό με τις σουλφονουλουρίες (Nathan *et al.*, 2006).

### 3.4.4 Αναστολείς της α-γλυκοσιδάσης

Οι αναστολείς της α-γλυκοσιδάσης (ακαρβόζη, βογλιβόζη και μιγλιτόλη) δρουν αναστέλλοντας τη δράση των εντερικών ενζύμων που ανήκουν στην ομάδα της α-γλυκοσιδάσης, τα οποία είναι βασικά για την ενζυματική υδρόλυση των ολιγοσακχαριτών και πολυσακχαριτών που λαμβάνονται με τη διατροφή. Με τον τρόπο αυτό παρεμποδίζουν την πέψη και εντερική απορρόφηση των υδατανθράκων, μειώνοντας έτσι τη μεταγευματική υπεργλυκαιμία (Uwaifo, Ratner, 2007). Τελευταία περιγράφηκε ένας ακόμη έμμεσος τρόπος

δράσης των παραγόντων αυτών, που αφορά την αύξηση της παραγωγής GLP-1 από το έντερο και τη μείωση των επιπέδων και της δραστηριότητας των DPP-4 αναστολέων (Fisman et al., 2009). Εξαιτίας του μηχανισμού δράσης τους δεν προκαλούν υπογλυκαιμία, ενώ η μείωση της HbA1c είναι μικρή, περίπου κατά 0.5% με 0.8%. Ωστόσο, επειδή δρουν στο έντερο, συνοδεύονται από γαστρεντερικές διαταραχές, που οδηγούν το 25-45% των ασθενών στη διακοπή του φαρμάκου (Mazzola, 2012).

### 3.4.5 Θειοζολιδινεδιόνες (TZDs)

Οι Θειοζολιδινεδιόνες (Thiazolidinediones-TZDs ή Γλιταζόνες) είναι μια νεότερη τάξη αντιδιαβητικών παραγόντων p.os, που ονομάζονται «ευαισθητοποιητές της ινσουλίνης», διότι αυξάνουν την ευαισθησία των σκελετικών μυών, του ήπατος και του λιπώδους ιστού στην ενδογενή και εξωγενή ινσουλίνη (Mazzola, 2012). Στην κατηγορία αυτή ανήκουν η τρογλιταζόνη (Rezulin), η πιογλιταζόνη (Actos) και η ροζιγλιταζόνη (Avandia). Η τρογλιταζόνη αποσύρθηκε το 2000 λόγω περιστατικών οξείας ηπατοκυτταρικής ανεπάρκειας, που σε μερικές περιπτώσεις οδήγησε σε θάνατο των ασθενών. Η ροζιγλιταζόνη χρησιμοποιήθηκε έως το Σεπτέμβριο του 2010, οπότε και αποσύρθηκε από την ευρωπαϊκή αγορά για λόγους καρδιαγγειακής ασφάλειας, όπως θα περιγραφεί αναλυτικά στη συνέχεια (Nathan et al., 2009). Στην αμερικανική αγορά συνεχίζει να κυκλοφορεί υπό προϋποθέσεις, περιοριζόμενη σε ασθενείς που δεν μπορούν να λάβουν καμία άλλη αντιδιαβητική αγωγή και εφόσον έχουν ενημερωθεί για τον πιθανό καρδιαγγειακό κίνδυνο (Woodcock et al., 2010). Σύμφωνα με τις τελευταίες κατευθυντήριες οδηγίες των ADA/EASD η πιογλιταζόνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως φάρμακο δεύτερης γραμμής, δηλαδή να προστεθεί σε μετφορμίνη (όταν δεν επιτυγχάνεται ο γλυκαιμικός στόχος), σε σουλφονουλουρία (όταν η χρήση μετφορμίνης αντενδείκνυται). Μπορεί επίσης να προστεθεί σε ήδη υπάρχουσα διπλοθεραπεία με μετφορμίνη και σουλφονουλουρία, καθώς και σε συνδυασμό με ινσουλίνη, όταν η χρήση της μετφορμίνης αντενδύκνεται). Η χρήση της ροζιγλιταζόνης δεν συνιστάται (Nathan et al., 2009). Στις Η.Π.Α, η ροζιγλιταζόνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μονοθεραπεία, να προστεθεί σε σουλφονουλουρία ή μετφορμίνη ή να χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με σουλφονουλουρία και μετφορμίνη. Ο συνδυασμός με ινσουλίνη δεν συνιστάται (Fisher 2009).

Οι TZDs είναι εκλεκτικοί αγωνιστές του PPAR-γ (peroxisome proliferator –activated receptor-γ), ενός ορμονικού πυρηνικού υποδοχέα που, όταν ενεργοποιείται, ρυθμίζει την έκφραση γονιδίων που αφορούν το μεταβολισμό των λιπιδίων, τη διαφοροποίηση του λιπώδους ιστού και τη δράση της ινσουλίνης. Η PPAR οικογένεια αποτελείται από τρεις

τύπους: PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$ , PPAR $\delta$ . Οι PPAR $\alpha$  ρυθμίζουν γονίδια σχετικά με την οξειδωση των λιπαρών οξέων και αποτελούν τους υποδοχείς για τις φιβράτες, ενώ οι PPAR $\delta$  φαίνεται ότι έχουν επίσης ρόλο στην οξειδωση των λιπαρών οξέων καθώς και το μεταβολισμό της HDL (Kliwer *et al.*, 1999, Takano, Komuro 2009).

Οι PPAR- $\gamma$  υποδοχείς είναι μέρος ενός ετεροδιμερούς, που περιλαμβάνει και έναν ρετινοειδή-X υποδοχέα (RXR). Οι PPAR- $\gamma$  υποδοχείς έχουν δύο υπότυπους: οι υπότυπος PPAR $\gamma_2$  βρίσκεται σε υψηλές συγκεντρώσεις στα λιποκύτταρα. Οι μύες περιέχουν PPAR $\gamma_1$  υποδοχείς και η συγκέντρωσή τους είναι περίπου 10-15% των PPAR $\gamma_2$  υποδοχέων. Υποδοχείς PPAR- $\gamma$  βρίσκονται επίσης στα μακροφάγα, στην καρδιά, σε αγγειακά μυϊκά κύτταρα, σε ενδοθηλιακά κύτταρα, στο ήπαρ, στο ενδοθήλιο του παχέος εντέρου και σε διάφορες καρκινικές κυτταρικές σειρές (Takano, Komuro 2009).

### **Μηχανισμός δράσης των TZDs**

Η κύρια δράση των TZDs είναι η μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη, που συνεπάγεται μείωση της γλυκόζης νηστείας, της ινσουλίνης και των FFA (Mudaliar, Henry 2001, Miyazaki *et al.*, 2002). Ωστόσο, με δεδομένο ότι οι σκελετικοί μύες έχουν σχετικά μικρό αριθμό PPAR- $\gamma$  υποδοχέων, ενώ αντίθετα ο λιπώδης ιστός έχει τη μεγαλύτερη συγκέντρωση PPAR- $\gamma$  υποδοχέων από κάθε ιστό, είναι πιθανό ότι η αύξηση στην ευαισθησία της ινσουλίνης είναι δευτερογενής και οφείλεται στην τροποποίηση του μεταβολισμού του λιπώδους ιστού από τις TZDS (Εικόνα 3.5), (Combs *et al.*, 2002).

Πράγματι, μελέτες έχουν δείξει ότι οι TZDs μειώνουν τη απελευθέρωση FFA και TNF- $\alpha$  από τον λιπώδη ιστό (Goldstein 1999, McGarry 2002), ενώ ταυτόχρονα αυξάνουν την παραγωγή αδιπονεκτίνης από αυτόν (Yamauchi *et al.*, 2001). Όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα FFA και ο TNF- $\alpha$  εμποδίζουν τη μετάδοση του σήματος της ινσουλίνης μέσω του ενδοκυττάρου καταρράκτη αυτής, ενώ η αδιπονεκτίνη αυξάνει τη δράση της ινσουλίνης. Επιπρόσθετα οι TZDs, όπως έχουν δείξει κάποιες μελέτες, φαίνεται ότι επιφέρουν μία ανακατανομή του σωματικού λιπώδους ιστού (Nathan *et al.*, 2009). Πιο ειδικά, διεγείρουν την διαφοροποίηση αρχέγονων κυττάρων του υποδόριου κυρίως λιπώδους ιστού σε λιποκύτταρα (Lebovitz, Banerji 2001), με αποτέλεσμα την αύξηση των μικρών λιποκυττάρων, που είναι πιο ευαίσθητα στη δράση της ινσουλίνης και αύξηση του υποδόριου λιπώδους ιστού. Με τον τρόπο αυτό μειώνεται η αναλογία του σπλαχνικού προς τον υποδόριο λιπώδη ιστό, διευκολύνοντας έτσι την αποθήκευση των FFA στην λιγότερο επιβλαβή υποδόρια περιοχή (Wyatt *et al.*, 2010).



## **Αποτελεσματικότητα**

Επειδή οι TZDs χρησιμοποιούνται κυρίως σε συνδυασμό με άλλους αντιδιαβητικούς παράγοντες, οι πληροφορίες σχετικά με την υπογλυκαιμική τους δράση ως μονοθεραπεία είναι περιορισμένες, με τις διάφορες μελέτες να δείχνουν μείωση της HbA1c της τάξης του 0.5% - 1.4% (Mazzola, 2012). Πρόκειται δηλαδή για ασθενή υπογλυκαιμικά φάρμακα, που δεν προκαλούν υπογλυκαιμία. Ωστόσο, έχουν μεγαλύτερη διάρκεια γλυκαιμικού ελέγχου καθώς, μειώνοντας την αντίσταση στην ινσουλίνη, ελαττώνουν την υπερινσουλιναιμία και διατηρούν τη λειτουργία του β-κυττάρου. Έτσι, μπορούν να καθυστερήσουν τη μετάβαση σε ινσουλίνη, ιδιαίτερα σε σύγκριση με τις σουλφονουλουργίες (Stolar *et al.*, 2008, Nathan *et al.*, 2009). Αλλά και σε ασθενείς υπό ινσουλινοθεραπεία, η προσθήκη TZDs μειώνει σημαντικά τις ανάγκες σε ινσουλίνη (Massi-Benedetti *et al.*, 2006, Home *et al.*, 2007). Η μέγιστη αποτελεσματικότητα της θεραπείας με TZDs εμφανίζεται μετά από 6-14 εβδομάδες (Schoonjans, Auwerx 2000).

## **Ανεπιθύμητες ενέργειες**

Γενικά, οι TZDs είναι καλά ανεκτές, τόσο σαν μονοθεραπεία όσο και κατά την προσθήκη τους στην ήδη υπάρχουσα αντιδιαβητική αγωγή. Συνήθως δεν προκαλούν υπογλυκαιμία, εκτός και αν προστεθούν σε σουλφονουλουργία ή ινσουλίνη, οπότε μπορούν να προκαλέσουν ήπια υπογλυκαιμία (Fisher 2009). Οι κύριες ανεπιθύμητες ενέργειες από τη χρήση των TZDs είναι το οίδημα, η αύξηση του σωματικού βάρους, η μείωση του αιματοκρίτη (αναιμία εξ αραιώσεως) και η αύξηση των ηπατικών ενζύμων (Mazzola, 2012). Το οίδημα μπορεί να είναι ήπιο περιφερικό οίδημα έως ανά σάρκα, οφείλεται στην αυξημένη επαναρρόφηση ύδατος και νατρίου στο άπω εσπειραμένο σωληνάριο και ανταποκρίνεται καλά στα καλιοσυντηρητικά διουρητικά (Olefsky, Saltiel 2000, Picard, Auwerx 2002). Μπορεί να προκαλέσει ή να επιδεινώσει προϋπάρχουσα καρδιακή ανεπάρκεια, γι αυτό και η χρήση των TZDs στην Ευρώπη αντενδείκνυται σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια ή ιστορικό καρδιακής ανεπάρκειας ή οξέος στεφανιαίου συνδρόμου, ενώ στις Η.Π.Α σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια σταδίου III-IV [New York Heart Association (NYHA) class III-IV], (Fisher 2009).

Στις λιγότερο συχνές παρενέργειες ανήκουν η αύξηση των τρανσαμινασών, η οποία είναι συνήθως ήπια και αναστρέψιμη, ενώ δεν έχουν αναφερθεί περιστατικά οξείας

ηπατοκυτταρικής ανεπάρκειας, όπως με την τρογλιταζόνη. Ωστόσο, η χρήση των TZDs αντενδύκνεται σε μέτρια έως σοβαρή ηπατική δυσλειτουργία (ALT>2.5 φορές από το ανώτερο φυσιολογικό όριο). Επίσης, η αύξηση του σωματικού βάρους κυμαίνεται από 2-4 kgr (Mazzola, 2012) και οφείλεται τόσο στο οίδημα όσο και στη μείωση της λεπτίνης, που έχει βρεθεί ότι προκαλείται από τις TZDs (Goetze *et al.*, 2002). Τελευταία, οι γλιταζόνες έχουν σχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο κατάγματος ισχίου στις γυναίκες, καθώς έχει βρεθεί ότι προκαλούν απώλεια της οστικής μάζας και δευτεροπαθή οστεοπόρωση. Ως μηχανισμός περιγράφεται η ενεργοποίηση της διαφοροποίησης μεσεγχυματικών κυττάρων των οστών από τις TZDs, που οδηγεί σε αυξημένη οστική απορρόφηση και μειωμένο οστικό σχηματισμό (Lecka-Czernik 2010). Επίσης τα τελευταία χρόνια παρατηρήθηκε αυξημένη επίπτωση καρκίνου ουροδόχου κύστης σε ασθενείς που ελάμβαναν μακροχρόνια θεραπεία με TZDs ( $\geq 2$  χρόνια), (Lewis *et al.*, 2011), που οδήγησε τον εθνικό οργανισμό διατροφής και φαρμάκων των Η.Π.Α [US Food and Drug Administration, (FDA)] να εκδώσει προειδοποιητική ανακοίνωση (FDA Drug Safety Communication) και χώρες όπως η Γαλλία και η Γερμανία να αποσύρουν το φάρμακο από την αγορά (Mamtani *et al.*, 2012). Στην Ελλάδα η χρήση της πιογλιταζόνης δεν συνιστάται σε ασθενείς με ενεργό καρκίνο της ουροδόχου κύστης ή με ιστορικό καρκίνου της ουροδόχου κύστης ή σε ασθενείς με αδιευκρίνιστη μακροσκοπική αιματουρία (Δελτίο Τύπου Actos).

Τέλος, μία αναδρομική μελέτη έδειξε ότι η χρήση TZDs σχετίζεται με 3-6 φορές αυξημένο κίνδυνο για οίδημα ωχράς κηλίδας [diabetic macular edema (DME)], που παρατηρήθηκε ένα χρόνο μετά την αγωγή και συνέχισε να υφίσταται κατά τη διάρκεια της 10ετούς παρακολούθησης (Medical Economics website, Mazzola, 2012).

### **Αποτελέσματα της δράσης των TZDs στα συστατικά του μεταβολικού συνδρόμου.**

Οι TZDs έχει βρεθεί ότι έχουν ευνοϊκή επίδραση συνολικά στα συστατικά του μεταβολικού συνδρόμου, που αποδίδεται στη μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη, επιδρώντας έτσι ευνοϊκά στη διαδικασία της αθηροσκλήρωσης (Εικόνα 3.5), (Uwaifo, Ratner 2007, Fisher 2009).

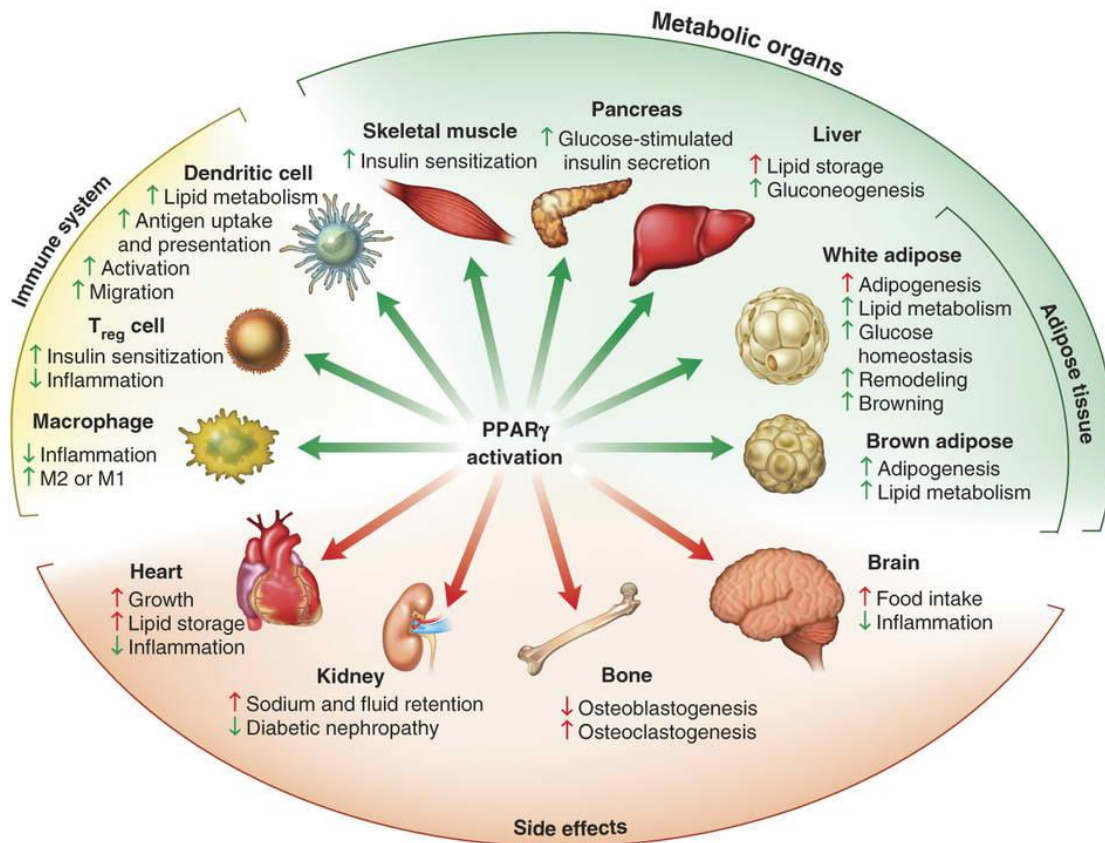
**Δυσλιπιδαιμία:** Μελέτες έχουν δείξει ότι η πιογλιταζόνη μειώνει τα FFA, τα τριγλυκερίδια περίπου κατά 10-20%, ενώ αυξάνει την HDL κατά 5-10%. Η υπολιπιδαιμική αυτή δράση της πιογλιταζόνης αποδόθηκε στη χημική της συγγένεια με τους PPAR- $\alpha$  υποδοχείς του υποδόριου λιπώδους ιστού, τους οποίους και ενεργοποιεί (Betteridge, Verges 2005, Fisher

2009). Όμως, η χρήση της πιογλιταζόνης αυξάνει και την LDL χοληστερόλη κατά 10-15%. Ωστόσο, η αύξηση αυτή της LDL οφείλεται στην αύξηση του μεγέθους και τη μείωση της πυκνότητάς της, καθώς η πιογλιταζόνη μετατρέπει τα μόρια της LDL χοληστερόλης από μικρά και πυκνά (περισσότερο αθηρωγόνα) σε μεγαλύτερα και πιο απομακρυσμένα (λιγότερο αθηρωγόνα, μειώνοντας παράλληλα και τον αριθμό τους (Lawrence *et al.*,2004, Perez *et al.*,2004).

Η δράση της ροζιγλιταζόνης στα λιπίδια φαίνεται ότι είναι διαφορετική από αυτή της πιογλιταζόνης (Goldberg *et al.*, 2005, Deeg *et al.*, 2007). Πράγματι, και οι δύο γλιταζόνες αυξάνουν την HDL χοληστερόλη, αν και με την πιογλιταζόνη η αύξηση είναι μεγαλύτερη. Η ροζιγλιταζόνη βρέθηκε ότι αυξάνει και τα τριγλυκερίδια, καθώς και το μέγεθος και τον αριθμό των μορίων της LDL χοληστερόλης. Επομένως, η αύξηση της LDL από τη ροζιγλιταζόνη είναι μεγαλύτερη από ότι με την πιογλιταζόνη. Τέλος, με τη χρήση της ροζιγλιταζίνης αυξάνουν τα επίπεδα της απολιποπρωτεΐνης B (ApoB), ενώ η πιογλιταζόνη έχει ουδέτερη επίδραση σε αυτή.

**Αρτηριακή υπέρταση:** Και οι δύο TZDs προκαλούν μικρή, αλλά σημαντική μείωση στη συστολική και διαστολική αρτηριακή πίεση, περίπου κατά 3–5 mmHg (Dormandy *et al.*,2005, Derosa *et al.*,2005 & 2007). Η αντιυπερτασική αυτή δράση των TZDs αποδόθηκε από τους συγγραφείς στη μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη και τη βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας.

**Φλεγμονή και θρόμβωση:** Τόσο ο ΣΔ2 όσο και η αθηροσκλήρωση είναι ασθένειες που χαρακτηρίζονται από υποκλινική φλεγμονή και προθρομβωτική κατάσταση, όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενα κεφάλαια. Τόσο η πιογλιταζόνη όσο και η ροζιγλιταζόνη έχει βρεθεί ότι μειώνουν δείκτες φλεγμονής, όπως η υπερευαίσθητη CRP (hs-CRP), (Hamann *et al.*,2008, Nissen *et al.*,2008) και θρόμβωσης, όπως ο PAI-1 και ο vWF (Haffner *et al.*,2002, Hanefeld *et al.*,2002). Επίσης, και οι δύο TZDs μειώνουν το πρωτεολυτικό ένζυμο MMP-9 (matrix metalloproteinase-9), το οποίο συμμετέχει στον αγγειακό ανασχηματισμό και τη δημιουργία θρόμβων (Smitko *et al.*,2003).



**Εικόνα 3.5.** Μεταβολικές δράσεις των PPAR $\gamma$ .

Από τους *Ahmadian M et al., Nature Medicine 2013, 99:557-566.*

### 3.4.6 Ανάλογα ινκρετινών και DPP-4 αναστολείς

Οι ινκρετίνες, κυρίως τα πεπτίδια GIP (glucose-dependent insulinotropic peptide) και GLP-1 (glucagon like peptide-1) είναι ορμόνες που εκκρίνονται από τα K και L κύτταρα του λεπτού εντέρου, αντίστοιχα, μετά από πρόσληψη τροφής και επάγουν την έκκριση ινσουλίνης από το πάγκρεας. Ευθύνονται για το «φαινόμενο των ινκρετινών», που περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1960 (Perley, Kirpnis 1967). Πρόκειται για τη σημαντικά μεγαλύτερη έκκριση ινσουλίνης που παρατηρείται μετά από φόρτιση γλυκόζης *po* σε σχέση με την ενδοφλέβια χορήγηση γλυκόζης, για τα ίδια επίπεδα γλυκόζης πλάσματος. Ο GLP-1 επάγει την έκκριση ινσουλίνης, μειώνει τη μεταγευματική υπεργλυκαιμία, την έκκριση γλυκαγόνης, ενώ καθυστερεί τη γαστρική κένωση. Ωστόσο, τόσο ο GLP-1 όσο και το GIP έχουν μικρό χρόνο δράσης (μερικά λεπτά), γιατί αποδομούνται γρήγορα από το πρωτεολυτικό ένζυμο dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4), (Mazzola, 2012).

Στους ΣΔ2 ασθενείς το «φαινόμενο των ινκρετινών» είναι μειωμένο περίπου κατά 36% (Evans *et al.*, 2010). Επίσης έχει βρεθεί ότι τα επίπεδα του GLP-1 είναι μειωμένα μετά από γεύμα, ενώ οι συγκεντρώσεις του GIP είναι φυσιολογικές ή και αυξημένες, υποδηλώνοντας αντίσταση στη δράση του GIP (Holst, Gromada 2004). Επομένως, ο GLP-1 φαίνεται ότι αποτελεί πιο λογική επιλογή για θεραπευτική παρέμβαση (Toft-Nielsen *et al.*, 2001).

Από θεραπευτική σκοπιά, τα επίπεδα του GLP-1 μπορούν να αυξηθούν είτε με εξωγενή χορήγηση συνθετικού GLP-1 αναλόγου, το οποίο θα είναι ανθεκτικό στη δράση των DPP-4 ενζύμων, ή με χορήγηση αναστολέων των DPP-4 ενζύμων. Σήμερα χρησιμοποιούνται τα GLP-1 ανάλογα εξενατίδη και λιραγλουτίδη, με υποδόρια χορήγηση, καθώς και παράγοντες p.os που εμποδίζουν τη δραστηριότητα των DPP-4 και ίσως και άλλων DPP ενζύμων, όπως τα DPP-8 και DPP-9 (Triplitt *et al.*, 2010).

Τα GLP-1 ανάλογα, εκτός των προαναφερθέντων μηχανισμών έχουν και κεντρική δράση, που προκαλεί πρόωρο αίσθημα κορεσμού και μείωση της όρεξης (Triplitt *et al.*, 2010). Δεν προκαλούν υπογλυκαιμία, ωστόσο συνοδεύονται από συχνές γαστρεντερικές διαταραχές, που όμως υφούνται στη συνέχεια. Λόγω της κεντρικής δράσης συνοδεύονται από απώλεια σωματικού βάρους περίπου 2-3 kgf σε διάστημα 6 μηνών. Υπάρχει μικρός κίνδυνος παγκρεατίτιδας από τη χρήση τους, χωρίς ωστόσο να έχει προς το παρόν διαλευκανθεί αν αυτή η παρατήρηση είναι αιτιολογική ή συμπτωματική. Τα GLP-1 ανάλογα χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με σουλφονουλουρία, μετφορμίνη ή/και TZD (Nathan *et al.*, 2009).

Οι DPP-4 αναστολείς (σιταγλιπτίνη, βιλδαγλιπτίνη, αλογλιπτίνη) μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με μετφορμίνη ή TZDs. Είναι καλά ανεκτά, προκαλούν μείωση της HbA1c κατά 0.6–0.9%, δεν συνοδεύονται από υπογλυκαιμία και έχουν ουδέτερη επίδραση στο σωματικό βάρος. Ωστόσο, επειδή DPP-4 υποδοχείς υπάρχουν και σε κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, υπάρχει πιθανότητα αλληλεπίδρασης με το ανοσοποιητικό, ενώ έχουν περιγραφεί συχνές λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος (Nathan *et al.*, 2009).

### 3.4.7 Ινσουλίνη

Η ινσουλίνη αποτελεί το πιο παλιό από τα θεραπευτικά μέσα για την αντιμετώπιση του ΣΔ2 και το πιο αποτελεσματικό για τη διόρθωση της υπεργλυκαιμίας, διότι μπορεί να μειώσει οποιαδήποτε τιμή HbA1c κοντά στους θεραπευτικούς στόχους. Σε αντίθεση με τους άλλους αντιδιαβητικούς παράγοντες, δεν υπάρχει μέγιστη δόση για την ινσουλίνη, πέρα από την

οποία δεν επιτυγχάνεται θεραπευτικό αποτέλεσμα. Αν και αρχικά η ινσουλινοθεραπεία περιλαμβάνει βασική ινσουλίνη, ενδιάμεσης ή βραδείας διάρκειας δράσης, στη συνέχεια προστίθεται και προγευματική ινσουλίνη (Nathan et al., 2009). Οι κατευθυντήριες οδηγίες των ADA-EASD (ADA 2013) τοποθετούν την προσθήκη ινσουλίνης ως θεραπεία δεύτερης γραμμής, σε ασθενείς που δεν ελέγχονται καλά με μετφορμίνη, ή τρίτης γραμμής, σε ασθενείς υπό διπλοθεραπεία που δεν επιτυγχάνουν το θεραπευτικό στόχο. Η ινσουλίνη αποτελεί τη θεραπεία εκλογής για βαριά, μη ελεγχόμενη ή συμπτωματική υπεργλυκαιμία (Stolar *et al.*, 2008).

Η ινσουλίνη έχει βρεθεί ότι μειώνει τα τριγλυκερίδια και την HDL χοληστερόλη, ιδιαίτερα σε ασθενείς με κακό γλυκαιμικό έλεγχο (Mazzola, 2012). Ωστόσο, η χρήση της συνοδεύεται και από σημαντικούς περιορισμούς. Η χορήγησή της γίνεται υποδορίως, ενώ μπορεί να απαιτηθούν πολλαπλές ενέσεις ημερησίως. Ο κίνδυνος για υπογλυκαιμία είναι σημαντικός, γεγονός που απαιτεί συχνό αυτοέλεγχο με μετρήσεις τριχοειδικού αίματος (Stolar *et al.*, 2008). Ακόμη, αυξάνει το σωματικό βάρος περίπου κατά 2-4 κιλά, ενώ σε εντατικοποιημένο σχήμα που απαιτεί πολλές μονάδες η αύξηση του βάρους μπορεί να φτάσει τα 8.7 κιλά (Henry *et al.*, 1993). Τέλος, η χρήση της ινσουλίνης συνοδεύεται από στίγμα, καθώς θεωρείται ως θεραπεία τελευταίας γραμμής, όταν όλα τα άλλα φάρμακα έχουν αποτύχει (Polonsky *et al.*, 2005).

### **3.4.8 Νέοι παράγοντες υπό δοκιμή**

Τελευταία ελέγχεται η δράση και άλλων παραγόντων στη θεραπεία του ΣΔ2, όπως ο αγωνιστής της αμυλίνης πραμλιντίνη, η χολεσεβελάμη (υπολιπιδαιμικός παράγοντας), η βρωμοκρυπτίνη, ένας δυαδικός PPAR- $\alpha/\gamma$  αγωνιστής, καθώς και αναστολέας του μεταφορέα νατρίου-γλυκόζης, που δρα σε επίπεδο νεφρού (Mazzola, 2012).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4<sup>ο</sup>

# ΔΡΑΣΕΙΣ ΑΝΤΙΔΙΑΒΗΤΙΚΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΣΕ ΕΝΔΟΘΗΛΙΟ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

### 4.1 Εισαγωγή

Όπως προαναφέρθηκε, η θεραπευτική αντιμετώπιση των ΣΔ2 ασθενών δεν αποσκοπεί μόνο στη γλυκαιμική ρύθμιση, αλλά και τον έλεγχο των υπόλοιπων συστατικών του μεταβολικού συνδρόμου που αποτελούν παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο, μειώνοντας έτσι τον καρδιαγγειακό κίνδυνο των ασθενών αυτών (Fisher 2009). Ωστόσο, κάποιιοι από τους υπογλυκαιμικούς παράγοντες που χρησιμοποιούνται για τη μείωση της γλυκόζης έχει βρεθεί ότι έχουν οφέλη και σε άλλες μεταβολικές διαταραχές, παρέχοντας έτσι ευρύτερη καρδιαγγειακή προστασία (Uwaifo, Ratner 2007).

### 4.2 Μετορμίνη και καρδιαγγειακό σύστημα

Στη μετορμίνη έχουν αποδοθεί αντιαθηρογόνες και καρδιοπροστατευτικές ιδιότητες (Scarpello, Howlett, 2008). Ειδικότερα, σύμφωνα με τη μελέτη BIGPRO 1 (The Biguanides and the Prevention of the Risk of Obesity), η μετορμίνη προάγει την ινωδόλυση, καθώς μειώνει τα επίπεδα του t-PA και του παράγοντα vWF. Επίσης, ελαττώνει την προσκόλληση των αιμοπεταλίων, μετριάζοντας έτσι την προθρομβωτική τάση που παρατηρείται στους ΣΔ2 ασθενείς (Charles *et al.*, 1998) και μειώνει την παραγωγή προσκολλητικών μορίων (Scarpello, Howlett, 2008). Ευεργετική είναι ακόμη η επίδραση της μετορμίνης στο λιπιδαιμικό προφίλ και το οξειδωτικό στρες, καθώς μελέτες έχουν δείξει ότι μειώνει τα επίπεδα και την οξείδωση των FFA, των τριγλυκεριδίων, της ολικής και της LDL χοληστερόλης, ενώ δεν επηρεάζει ή αυξάνει τα επίπεδα της HDL (Uwaifo, Ratner 2007). Ωστόσο, η μετορμίνη σχετίζεται και με μία αρνητική επίδραση στο καρδιαγγειακό. Όπως προαναφέρθηκε, η χορήγησή της προκαλεί δυσαπορρόφηση του φυλλικού οξέως, που μπορεί

να οδηγήσει, εκτός των άλλων και σε αύξηση των επιπέδων της ομοκυστεΐνης του αίματος. Ο παράγοντας αυτός είναι γνωστό ότι ευνοεί την αγγειακή βλάβη μέσω βλαπτικής επίδρασης στα αιμοπετάλια, τους παράγοντες πήξης και το ενδοθήλιο (Mayer *et al.*, 1996).

#### 4.2.1 Δείκτες αθηροσκλήρωσης

Αυτή η πλειοτρόπος δράση στο λιπιδαιμικό προφίλ και το οξειδωτικό στρες φαίνεται ότι ευνοεί το καρδιαγγειακό σύστημα, παρεμποδίζοντας το μηχανισμό της αθηροσκλήρωσης (Uwaifo, Ratner 2007). Πράγματι, μελέτες έχουν δείξει ότι η χορήγηση μετοφορμίνης σε ΣΔ2 ασθενείς μείωσε το πάχος του έσω-μέσου χιτώνα της καρωτίδας (carotid intima-media thickness-CIMT), που αποτελεί δείκτη αθηροσκλήρωσης (Katakami *et al.*, 2004, Matsumoto *et al.*, 2004).

Αλλά και στην ενδοθηλιακή λειτουργία το αποτέλεσμα από τη δράση της μετοφορμίνης είναι ευνοϊκό, τόσο σε πληθυσμούς μη διαβητικών, όσο και διαβητικών ασθενών. Πράγματι, η μετοφορμίνη βελτίωσε το FMD σε νέες γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (Orio *et al.*, 2005, Naka *et al.*, 2011), καθώς και σε ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο (Vitale *et al.*, 2005), δράση που αποδόθηκε στη μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη. Σε ΣΔ2 ασθενείς υπό δίαιτα, μελέτη των Mather *et al.* (2001) έδειξε ότι η χορήγηση μετοφορμίνης έναντι πλασέμπο βελτίωσε την ενδοθηλιακή λειτουργία (εκτιμώμενη με τη μέθοδο της πληθυσμογραφίας), που επίσης αποδόθηκε στη μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη. Ωστόσο, οι Natali *et al.*, (2004) δεν βρήκαν βελτίωση στην ενδοθηλιακή λειτουργία (με τη χρήση πληθυσμογραφίας) από τη μετοφορμίνη έναντι πιογλιταζόνης σε ΣΔ2 ασθενείς.

#### 4.2.2 Καρδιαγγειακή πρόγνωση

Αναφορικά με την επίδραση της μετοφορμίνης στην καρδιαγγειακή πρόγνωση, η μετα-ανάλυση των Lamanna *et al.* (2011) έδειξε ουδέτερο αποτέλεσμα. Ωστόσο, άλλες μελέτες και μετα-αναλύσεις έδειξαν μειωμένη καρδιαγγειακή θνησιμότητα από τη χρήση μετοφορμίνης (UKPDS 34, 1998, Gosmanova *et al.*, 2008, Selvin *et al.*, 2008).

Πρέπει, στο σημείο αυτό, να τονιστεί η πιθανή δυσμενής επίδραση της μετοφορμίνης στο καρδιαγγειακό, όταν προστίθεται σε μονοθεραπεία με σουλφονυλουρία (χλωροπροπαμίδη ή γλιβενκλαμίδη), όπως παρατήρησαν οι ερευνητές της μελέτης UKPDS (UKPDS 34, 1998). Σύμφωνα με τη μελέτη αυτή, η προσθήκη της μετοφορμίνης στους παραπάνω ασθενείς είχε ως αποτέλεσμα αυξημένη καρδιαγγειακή θνησιμότητα, σε σχέση με αυτούς που παρέμειναν στη



μονοθεραπεία με τη σουλφονουλουρία. Το φαινόμενο αυτό αποδόθηκε στο μικρότερο από τον αναμενόμενο αριθμό θανάτων στην ομάδα της μονοθεραπείας και όχι στην αύξηση του απόλυτου αριθμού των θανάτων στην ομάδα της διπλοθεραπείας. Ωστόσο, νεότερη μετα-ανάλυση των Lamanna *et al.* (2011) παρατήρησε επίσης αυξημένη θνησιμότητα με τον παραπάνω συνδυασμό, επισημαίνοντας την αναγκαιότητα για περαιτέρω διερεύνηση αυτού του φαινομένου.

### 4.3 Σουλφονουλουρίες και καρδιαγγειακό σύστημα

Οι σουλφονουλουρίες, ιδιαίτερα αυτές της πρώτης γενιάς, έχουν συσχετιστεί με αυξημένη πιθανότητα ισχαιμικής καρδιοπάθειας και καρδιαγγειακού θανάτου (Klimt *et al.*, 1070). Ωστόσο, οι νεότερες μελέτες δεν επιβεβαιώνουν το εύρημα αυτό. Πιο συγκεκριμένα, η μελέτη UKPDS 33 (1998) δεν έδειξε αυξημένα καρδιαγγειακά συμβάματα σε ΣΔ2 ασθενείς που ελάμβαναν χλωροπροπαμίδη ή γλιβενκλαμίδη, σε σύγκριση με αυτούς που ήταν σε ινσουλίνη. Επίσης, η μελέτη ADVANCE (2008) έδειξε μάλλον ουδέτερη επίδραση της γλικλαζίδης στο καρδιαγγειακό σύστημα (Nathan *et al.*, 2006).

Όπως προαναφέρθηκε, σε κυτταρικό επίπεδο οι σουλφονουλουρίες δρουν κλείνοντας τις ATP-εξαρτώμενες αντλίες  $K^+$ , που βρίσκονται στην επιφάνεια των  $\beta$ -κυττάρων του παγκρέατος, προκαλώντας έτσι την έκκριση ινσουλίνης (Fisman *et al.*, 2004). Ωστόσο, οι ίδιες αντλίες  $K^+$  βρίσκονται και στα καρδιακά μυϊκά και αγγειακά μυϊκά κύτταρα και οι οποίες κάτω από φυσιολογικές συνθήκες παραμένουν κλειστές. Σε περίπτωση όμως καρδιακής ισχαιμίας οι αντλίες αυτές ανοίγουν, εισάγοντας έτσι τη διαδικασία της «ισχαιμικής προετοιμασίας», που προστατεύει το μυοκάρδιο από την οξεία ισχαιμία (Terzic *et al.*, 1995). Οι σουλφονουλουρίες κλείνουν, μαζί με τις παγκρεατικές και τις καρδιακές ATP-εξαρτώμενες αντλίες  $K^+$ . Έτσι, σε περίπτωση ισχαιμίας, παρεμποδίζεται η διάνοιξη των διαύλων και ο μηχανισμός της ισχαιμικής προετοιμασίας (Brady, Terzic, 1998). Πράγματι, η μελέτη των Klepzig *et al.*, (1999) ανέδειξε την παρεμπόδιση του παραπάνω μηχανισμού από την γλιβενκλαμίδη (πρώτης γενιάς), έναντι της γλιμεπιρίδης (δεύτερης γενιάς), η οποία είναι περισσότερο ειδική για το πάγκρεας και δεν φαίνεται να αλληλεπιδρά με τις καρδιαγγειακές αντλίες  $K^+$ . Επιπρόσθετα, οι σουλφονουλουρίες φαίνεται ότι μειώνουν την μυοκαρδιακή αιματική ροή ηρεμίας, δυσχεραίνουν την ανάκαμψη της συστολικής λειτουργίας μετά από πειραματική ισχαιμία, αυξάνουν το τελικό μέγεθος του εμφράκτου, έχουν προαρρυθμικές

ιδιότητες και αυξάνουν την πρόωμη θνησιμότητα μετά από αγγειοπλαστική λόγω OEM (Fisman *et al.*, 2004).

Οι αγγειακές δράσεις των σουλφονουλουριών δεν έχουν μελετηθεί εκτενώς. Οι λίγες μελέτες που υπάρχουν δείχνουν μάλλον ουδέτερη επίδραση στην αγγειακή λειτουργία (Pfótzner *et al.*, 2005, Mazzone *et al.*, 2006). Ωστόσο, μία πρόσφατη μελέτη σχετικά με την επίδραση της γλικλαζίδης στην ενδοθηλιακή λειτουργία νεοδιαγνωσθέντων ΣΔ2 ασθενών έδειξε βελτίωση στο FMD, που αποδόθηκε στις αντιοξειδωτικές ιδιότητες της γλικλαζίδης (Chen *et al.*, 2011).

#### **4.4 Μεγλιτινίδες και καρδιαγγειακό σύστημα**

Η επίδραση των παραγόντων αυτών στο καρδιαγγειακό σύστημα έχει μελετηθεί πολύ λίγο. Έχει αναφερθεί ότι οι μεγλιτινίδες έχουν ουδέτερη δράση στο λιπιδαιμικό προφίλ, ενώ μέσω της μείωσης της μεταγευματικής υπεργλυκαιμίας ελαττώνουν το οξειδωτικό στρες, τη δραστηριότητα των αιμοπεταλίων και τους δείκτες φλεγμονής (Uwaifo, Ratner 2007, Papanas, Maltezos, 2009). Στον ίδιο μηχανισμό αποδόθηκε και ο περιορισμός της εξέλιξης του πάχους του καρωτιδικού έσω-μέσου χιτώνα (Carotid Intima Media Thickness, CIMT), (Esposito *et al.*, 2004) από τη χορήγηση ρεπαγλινίδης σε ΣΔ2. Τέλος, η ρεπαγλινίδα βελτίωσε την ενδοθηλιακή λειτουργία σε ασθενείς με διαταραχή ανοχής γλυκόζης (Schmoelzer, Wascher 2006). Αναφορικά με τον καρδιαγγειακό κίνδυνο από τη χρήση μεγλιτινίδων, μελέτη των Fleming *et al.* (1999), που συνέκρινε τη χορήγηση της ρεπαγλινίδης έναντι της γλιβενκλαμίδης, έδειξε αυξημένη νοσηρότητα από τη ρεπαγλινίδα, κυρίως λόγω οξέων ισχαιμικών συμβαμάτων. Επιπλέον, τα συμβάματα αυτά ήταν μεγαλύτερης βαρύτητας από εκείνα που σημειώθηκαν στην ομάδα της γλιβενκλαμίδης.

#### **4.5 Αναστολείς της α-γλυκοσιδάσης και καρδιαγγειακό**

Εξαιτίας της ικανότητάς τους να μειώνουν τη μεταγευματική υπεργλυκαιμία, οι αναστολείς της α-γλυκοσιδάσης περιορίζουν τη φλεγμονή, την παραγωγή ελευθέρων ριζών και το οξειδωτικό στρες καθώς και το σχηματισμό AGEs. Η έρευνα σχετικά με την επίδραση της κατηγορίας αυτής των φαρμάκων στο καρδιαγγειακό αφορά κυρίως την ακαρβόζη, γεγονός που εμποδίζει τη γενίκευση των συμπερασμάτων και στους άλλους δύο παράγοντες (Uwaifo, Ratner, 2007).

Έτσι, η μετα-ανάλυση των Hanefeld *et al.* (2004) συμπεριέλαβε 7 μελέτες με ακαρβόζη, διάρκειας μεγαλύτερης των 52 εβδομάδων, με στόχο την εκτίμηση της επίδρασης της ακαρβόζης στις μεταβολικές παραμέτρους και τα καρδιαγγειακά συμβάματα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης, η ακαρβόζη μείωσε την υπεργλυκαιμία, τα τριγλυκερίδια, το σωματικό βάρος και τη συστολική αρτηριακή πίεση. Επίσης μείωσε τον κίνδυνο εμφράγματος του μυοκαρδίου (H.R=0.36, 95% CI 0.16–0.80, P=0.0120), όπως και οποιουδήποτε καρδιαγγειακού συμβάντος (H.R=0.65, 95% CI 0.48–0.88, P=0.0061). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει ωστόσο η μελέτη STOP-NIDDM (Chiasson *et al.*, 2003), η μεγαλύτερη έως τώρα προοπτική μελέτη με τη χρήση ακαρβόζης σε άτομα με προδιαβήτη και νεοδιαγνωσθέντα ΣΔ2, διάρκειας 3.3 ετών. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης, η ακαρβόζη καθυστέρησε την εξέλιξη από τη διαταραχή ανοχής γλυκόζης σε ΣΔ2 κατά 25%, μείωσε τον κίνδυνο εμφράγματος του μυοκαρδίου (H.R=0.09, 95% CI 0.01–0.72, P=0.02) και εμφάνισης νέων περιστατικών αρτηριακής υπέρτασης (H.R=0.66, 95% CI 0.49–0.89, P=0.006). Επιπλέον, σε σχέση με πλασέμπο, καθυστέρησε σημαντικά την εξέλιξη του CIMT.

## 4.6 Θειαζολιδινεδιόνες (TZDs) και καρδιαγγειακό σύστημα

### 4.6.1 In vitro μελέτες 4.6.1.1 Μείωση υποκλινικής φλεγμονής και οξειδωτικού στρες

Η ενεργοποίηση του PPAR $\gamma$  υποδοχέα από τις TZDs εμποδίζει την έκφραση μορίων προσκόλλησης, όπως τα VCAM-1, ICAM-1, PECAM και E-selectin (Pasceri *et al.*, 2000), που είναι υπεύθυνα για την προσκόλληση των φλεγμονωδών κυττάρων στο ενδοθήλιο και τη μετανάστευσή τους στη συνέχεια στο αγγειακό τοίχωμα (Ross 1999). Με τον τρόπο αυτό περιορίζεται η ενεργοποίηση των μακροφάγων και μειώνεται η παραγωγή κυτοκινών, όπως ο TNF- $\alpha$ , η IL-1 $\beta$  και η IL-6. Επιπλέον, οι TZDs μπορούν να μειώσουν την παραγωγή ελευθέρων ριζών και να περιορίσουν έτσι το οξειδωτικό στρες (Hwang *et al.*, 2005).

### 4.6.1.2 Ρύθμιση αγγειακού τόνου

Η δράση αυτή επιτυγχάνεται μέσω της μείωσης της παραγωγής ET-1 (ενδοθηλίνη-1) και αύξησης της έκκρισης του CNP από το αγγειακό ενδοθήλιο (Iglarz *et al.*, 2003), καθώς και μείωσης της αγγειοτενσίνης II (AngII) στην κυκλοφορία (Dier *et al.*, 2002). Κυρίως όμως οφείλεται στην αυξημένη παραγωγή από το ενδοθήλιο NO, μέσω της ενεργοποίησης της iNOS συνθάσης (Polikandriotis *et al.*, 2005).

#### **4.6.1.3 Περιορισμός πολλαπλασιασμού και μετανάστευσης των αγγειακών λείων μυϊκών ινών (*vascular smooth muscle cells, VSMCs*).**

Η διαδικασία αυτή αποτελεί βασικό στάδιο της αθηροσκλήρωσης, καθώς συμβάλλει στην ανάπτυξη υπερπλασίας του έσω χιτώνα και το σχηματισμό πλάκας. Μελέτες έχουν δείξει ότι οι TZDs περιορίζουν το στάδιο αυτό, μέσω της μείωσης του VEGF (*vascular endothelial growth factor*), (Goetze *et al.*,2002) και της λεπτίνης (Sierra-Honigmann *et al.*,1998), παράγοντες που συντελούν άμεσα στον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των VSMCs, την αγγειακή διαπερατότητα και την αγγειογένεση (Hamblin *et al.*, 2009).

#### **4.6.14. Ενεργοποίηση αρχέγονων ενδοθηλιακών κυττάρων**

Πρόκειται για πρόδρομη μορφή ενδοθηλιακών κυττάρων, που βρίσκονται στην κυκλοφορία και προκαλούν επανενδοθηλιοποίηση και μειώνουν το σχηματισμό νέου χιτώνα μετά από τραυματισμό του ενδοθηλίου (Hamblin *et al.*, 2009). Τα κύτταρα αυτά έχει βρεθεί ότι ενεργοποιούνται από τις TZDs σε περίπτωση αγγειακής βλάβης (Wang *et al.*, 2004).

### **4.6.2 Μελέτες σε πειραματόζωα**

Μελέτες σε τραυματισμένες αρτηρίες ποντικών έδειξαν ότι, μετά από χορήγηση TZDs, η νεοσχηματισμένη περιοχή στον έσω χιτώνα καθώς και η επαναστένωση είχαν μειωθεί σημαντικά. Επίσης βρέθηκε ότι οι TZDs περιορίσαν την ανάπτυξη της υπέρτασης, διόρθωσαν δομικές ανωμαλίες, αποκατέστησαν την κυτταρική αύξηση στα φυσιολογικά επίπεδα, βελτίωσαν την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία (Walker *et al.*,1999, Diep *et al.*,2002), αύξησαν την παραγωγή NO και πρόλαβαν την απορρύθμιση των προ-φλεγμονωδών μεσολαβητών VCAM-1, PECAM-1 (Hamblin *et al.*, 2009).

### **4.6.3 Κλινικές μελέτες**

#### **4.6.3.1 Δείκτες αθηροσκλήρωσης**

Η ευνοϊκή επίδραση των TZDs στα συστατικά του μεταβολικού συνδρόμου και άλλους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου συνοδεύεται και από βελτίωση κλινικών δεικτών αθηροσκλήρωσης, όπως είναι η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, το πάχος του έσω-μέσου χιτώνα (*carotid intima-media thickness, CIMT*) και η αρτηριακή σκληρότητα (*arterial stiffness*).

Πρέπει ωστόσο να σημειωθεί ότι η υποστροφή των δεικτών αυτών δεν σημαίνει απαραίτητα μείωση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων, αλλά αποτελεί μέσο ανάδειξης της θετικής επίδρασης των TZDs στα αγγεία και καθορισμού των παραγόντων που σχετίζονται με το κλινικό όφελος (Fisher 2009).

#### 4.6.3.2 Ενδοθηλιακή δυσλειτουργία

Όπως προαναφέρθηκε, η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία αποτελεί τον πρωιμότερο δείκτη αθηροσκλήρωσης (Henderson, 1997) και μπορεί να βελτιωθεί με τη χρήση των TZDs, όπως έδειξαν σειρές μελετών. Έτσι, οι Natali *et al.*(2004) συνέκριναν τη χρήση ροζιγλιταζόνης έναντι μετοφομίνης και συμπέραναν ότι η ροζιγλιταζόνη, αλλά όχι η μετοφομίνη, βελτίωσε την ενδοθηλιακή λειτουργία των ΣΔ2 ασθενών, η οποία εκτιμήθηκε με τη μέθοδο της πληθυσμογραφίας. Η βελτίωση αυτή συνοδεύτηκε από μείωση των FFA και του TNF- $\alpha$ . Όμοια, οι Pistrosch *et al.*(2004) συνέκριναν την επίδραση της ροζιγλιταζόνης έναντι της νατεγλινίδης στην ενδοθηλιακή λειτουργία, πάλι με τη χρήση της πληθυσμογραφίας και διαπίστωσαν βελτίωση με τη ροζιγλιταζόνη, η οποία αποδόθηκε στη μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη. Όμοια ήταν τα ευρήματα και των Suzuki *et al.*(2007). Οι Wajsborg *et al.*(2007) διαπίστωσαν βελτίωση της λειτουργίας του ενδοθηλίου (με πληθυσμογραφία) από την πιογλιταζόνη, η οποία σχετίστηκε με τις παρατηρούμενες αλλαγές στο μεταβολισμό του λιπώδους ιστού. Επίσης, οι Fernandez *et al.*(2008) συνέκριναν τη χρήση πιογλιταζόνης έναντι ραμιπρίλης ή πλασέμπο σε ασθενείς υπό εντατικοποιημένο σχήμα ινσουλίνης και βρήκαν μεγαλύτερη βελτίωση της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας (με τη μέθοδο της πληθυσμογραφίας) από την πιογλιταζόνη, η οποία σχετίστηκε με μείωση στα FFA, τα τριγλυκερίδια και αύξηση της αδιπνεκτίνης. Η μελέτη αυτή δείχνει επίσης τα αγγειακά οφέλη από τη χρήση της πιογλιταζόνης ακόμη και σε ασθενείς με μακροχρόνιο διαβήτη. Αναφορικά με την επίδραση των TZDs στο οξειδωτικό στρες και την υποκλινική φλεγμονή, οι Rudofsky *et al.*(2007) δεν βρήκαν συσχέτιση της βελτίωσης του FMD με την μείωση της υποκλινικής φλεγμονής από την πιογλιταζόνη. Αντίθετα, οι Kelly *et al.*(2007) έδειξαν βελτίωση του FMD από τη ροζιγλιταζόνη που σχετίστηκε με μείωση της CRP, αλλά όχι του οξειδωτικού στρες.

Για να διερευνηθούν πιθανή απευθείας επίδραση των TZDs στο ενδοθήλιο, οι Martens *et al.*(2005) χορήγησαν πιογλιταζόνη σε ΣΔ2 ασθενείς για 4 εβδομάδες. Βρήκαν, με τη χρήση του FMD, υποστροφή της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας, η οποία δεν σχετίστηκε στατιστικά με καμία από τις παρατηρούμενες αλλαγές στις μεταβολικές παραμέτρους. Παρόμοια ήταν

και τα ευρήματα των Sourij *et al.*(2006) από τη χρήση πιογλιταζόνης σε ασθενείς με νεοδιαγνωσθέντα ΣΔ2 και στεφανιαία νόσο.

Ωστόσο, η πιογλιταζόνη έχει βρεθεί ότι έχει ευνοϊκή επίδραση στην ενδοθηλιακή λειτουργία και μη διαβητικών ασθενών με αντίσταση στην ινσουλίνη, όπως αυτοί με παράγοντες κινδύνου για καρδιαγγειακή νόσο (Horigo *et al.*,2005, Campria *et al.*,2006) καθώς και νέες γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (Naka *et al.*,2011).

#### **4.6.3.3 Αρτηριακή σκληρότητα**

Μελέτες έχουν δείξει ότι ο ΣΔ2 σχετίζεται με αυξημένη αρτηριακή σκληρότητα, η οποία συμβάλει στον αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο των ασθενών αυτών και μπορεί να εκτιμηθεί με τη μέτρηση της ταχύτητας σφυγμικού κύματος (pulse wave velocity, PWV), (Stehouwer *et al.*,2008). Η αρτηριακή σκληρότητα μπορεί να βελτιωθεί από τη χρήση της πιογλιταζόνης (Nakamura *et al.*,2004), ανεξάρτητα από τη βελτίωση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη, τη λειτουργία των β-κυττάρων ή τη μείωση της HbA1c (Sato *et al.*,2003, Watanabe *et al.*,2005, Sourij *et al.*,2006). Αναφορικά με την επίδραση της ροζιγλιταζόνης, οι Yu *et al.*,(2007) βρήκαν βελτίωση του PWV, ενώ οι Rahman *et al.*,(2007) έδειξαν ουδέτερο αποτέλεσμα.

#### **4.6.3.4 Πάχος έσω-μέσου χιτώνα (carotid intima-media thickness, CIMT)**

Το πάχος του έσω-μέσου χιτώνα αποτελεί παράγοντα κινδύνου για καρδιαγγειακά συμβάματα. Σύμφωνα με τη μετα-ανάλυση των Lorenz *et al.*,(2007), για κάθε απόλυτη αύξηση του CIMT κατά 0.1 mm ο μελλοντικός κίνδυνος για έμφραγμα του μυοκαρδίου αυξάνει κατά 10–15%, ενώ για AEE κατά 13–18%. Σχετικά με την επίδραση των TZDs στο CIMT ΣΔ2 ασθενών έχουν γίνει πολλές μελέτες, οι οποίες έδειξαν καθυστέρηση της εξέλιξης αυτού (Koshiyama *et al.*,2001, Nakamura *et al.*,2004, Langenfeld *et al.*,2005, Stocker *et al.*,2007, Davidson *et al.*,2008). Η πιο μακροπρόθεσμη από τις μελέτες αυτές ήταν η CHICAGO (Davidson *et al.*,2008), διάρκειας 18 μηνών, κατά την οποία χορηγήθηκε πιογλιταζόνη ή γλιμεπιρίδη σε νεοδιαγνωσθέντες ΣΔ2 ασθενείς χωρίς γνωστή στεφανιαία νόσο. Στο τέλος της μελέτης η πιογλιταζόνη καθυστέρησε σημαντικά την εξέλιξη του CIMT, δράση που συσχετίστηκε με τη μείωση των επιπέδων της HDL-C και της ινσουλίνης. Όμως και η ροζιγλιταζόνη μείωσε το CIMT ΣΔ2 ασθενών μετά από 12 μήνες θεραπεία, όχι όμως και αυτό ασθενών με σύνδρομο αντίστασης στην ινσουλίνη (Hedblad *et al.*,2007).

#### 4.6.3.5 Ενδαγγειακός υπέρηχος (*Intravascular ultrasound – IVUS*)

Τα τελευταία χρόνια κερδίζει έδαφος στην κλινική έρευνα η χρήση του ενδαγγειακού υπέρηχου (IVUS), για την οπτικοποίηση και μέτρηση των αθηρωματικών πλακών (Fisher 2009). Η εκτίμηση της εξέλιξης των αθηρωμάτων έχει συσχετιστεί με την πιθανότητα κύριων καρδιαγγειακών συμβαμάτων, με βάση συστήματα υπολογισμού συνολικού σκορ (von Birgelen *et al.*, 2004). Η πιο γνωστή μελέτη με τη μέθοδο αυτή είναι η PERISCOPE, η οποία έδειξε ότι η χορήγηση πιογλιταζίνης για 18 μήνες μείωσε σημαντικά το πάχος και τον όγκο των αθηρωματικών πλακών και επομένως την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης (Nissen *et al.*, 2008). Με τη χρήση IVUS εκτιμήθηκε επίσης η επίδραση της πιογλιταζόνης στην επαναστένωση μετά από τοποθέτηση ενδαγγειακού stent. Έτσι φάνηκε ότι η πιογλιταζόνη μείωσε το σχηματισμό νέου έσω ιστού σε ΣΔ2 ασθενείς (Takagi *et al.*, 2003 και 2005), ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο (Katayama *et al.*, 2007) καθώς και σε μη διαβητικούς ασθενείς (Marx *et al.*, 2005). Το εύρημα αυτό μεταφράζεται σε σημαντική μείωση του βαθμού της επαναστένωσης από την πιογλιταζόνη και τη ροζιγλιταζόνη (Nishio *et al.*, 2006, Yokoyama *et al.*, 2007). Μάλιστα, μία πρόσφατη μετα-ανάλυση προσδιόρισε την αναλογία πιθανοτήτων (odds ratio-OR) στο 0.29 [95% confidence interval (CI): 0.15–0.56] για επαναστένωση από την πιογλιταζόνη σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο, έναντι αυτών που έλαβαν την καθιερωμένη θεραπεία (Rosmarakis, Falagas 2007).

#### 4.6.4 Δράση γλιταζονών στην καρδιά

Οι καρδιαγγειακές δράσεις της πιογλιταζόνης στους ΣΔ2 ασθενείς είναι καλά τεκμηριωμένες. Η πιογλιταζόνη έχει βρεθεί ότι βελτιώνει το λιπιδαιμικό προφίλ, την αρτηριακή πίεση, τους δείκτες φλεγμονής και την ενδοθηλιακή λειτουργία, ενώ φαίνεται ότι μειώνει και τα καρδιαγγειακά συμβάματα στους ασθενείς αυτούς. Ωστόσο, η χορήγηση πιογλιταζόνης έχει συσχετιστεί επίσης με αύξηση της επίπτωσης σοβαρής, μη θανατηφόρου καρδιακής ανεπάρκειας (Lincoff *et al.*, 2007, Nesto *et al.*, 2003), κυρίως λόγω της αύξησης του σωματικού βάρους και του περιφερικού οιδήματος (Nesto *et al.*, 2003).

Μεγάλες κλινικές μελέτες και μετα-αναλύσεις έδειξαν ότι η πιογλιταζόνη μειώνει τον κίνδυνο καρδιαγγειακών συμβάντων, ωστόσο η χρήση της συσχετίστηκε με την εμφάνιση μη θανατηφόρου καρδιακής ανεπάρκειας (Dormandy *et al.*, 2005, Lincoff *et al.*, 2007). Από την άλλη μεριά και η ροζιγλιταζόνη συνδέθηκε με αυξημένο κίνδυνο καρδιακής ανεπάρκειας και εμφράγματος του μυοκαρδίου (Singh *et al.*, 2007). Επιπλέον, πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι

η ροζιγλιταζόνη, σε σύγκριση με την πιογλιταζόνη, σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εγκεφαλικού επεισοδίου, καρδιακής ανεπάρκειας και θνησιμότητας από όλα τα αίτια σε ασθενείς ηλικίας 65 ετών και άνω (Graham *et al.*,2010).

Οι μηχανισμοί που σχετίζονται με την ανάπτυξη καρδιακής ανεπάρκειας μετά από τη χορήγηση γλιταζονών δεν είναι πλήρως κατανοητοί. Ο συνδυασμός κατακράτησης υγρών που προκαλείται από τις γλιταζόνες και της υψηλής επίπτωσης ΔΔΑΚ στους ΣΔ2 ασθενείς θα μπορούσε να εξηγήσει την αυξημένη επίπτωση καρδιακής ανεπάρκειας από τη χρήση γλιταζονών (Nesto *et al.*,2003). Ωστόσο, οι γλιταζόνες θα μπορούσαν να έχουν και απευθείας δράση στην καρδιακή δομή και λειτουργία (Horio *et al.*,2005, Giles *et al.*,2008, Sambanis *et al.*,2008, Terui *et al.*,2009), καθώς αναστρέψιμη ανεπάρκεια της μιτροειδούς έχει επίσης αναφερθεί από τη χορήγηση πιογλιταζόνης (Dorkhan *et al.*,2009).

Ουδέτερο αποτέλεσμα στην καρδιακή δομή και τη συστολική λειτουργία από τη χορήγηση πιογλιταζόνης έχει αναφερθεί σε ΣΔ2 ασθενείς με φυσιολογική συστολική λειτουργία, παρά τα σημεία υπερφόρτωσης όγκου και κατακράτησης υγρών (Dorkhan 2009, Sambanis *et al.*,2008), όπως και σε ΣΔ2 ασθενείς με προϋπάρχουσα συστολική δυσλειτουργία, παρά την αύξηση στις νοσηλείες εξαιτίας καρδιακής ανεπάρκειας (Giles *et al.*,2008). Όμοιο ουδέτερο αποτέλεσμα παρατηρήθηκε και με τη ροζιγλιταζόνη (Dargie *et al.*,2007, St John Sutton *et al.*,2002).

Πειραματικές και κάποιες πρόσφατες κλινικές μελέτες διερεύνησαν την επίδραση των TZDs στη διαστολική λειτουργία της αριστερής κοιλίας. Η πιογλιταζόνη βρέθηκε ότι βελτιώνει τη ΔΔΑΚ προδιαβητικών ποντικών (Tsuji *et al.*,2001) ή προλαμβάνει τη ΔΔΑΚ σε ποντίκια με ΣΔ2 (Kim *et al.*,2003), ενώ διάφοροι μηχανισμοί, όπως η τροποποίηση του μυοκαρδιακού μεταβολισμού των λιπαρών οξέων και η μείωση της υπεργλυκαιμίας, της δυσλιπιδαιμίας και του οξειδωτικού στρες από την πιογλιταζόνη έχουν προταθεί. Επίσης, η δράση της πιογλιταζόνης στην αγγειογένεση, ανεξάρτητα από τη βελτίωση του γλυκαιμικού ελέγχου ή την ενεργοποίηση του PPAR- $\gamma$  έχουν επίσης προταθεί (Biscetti *et al.*,2009).

Σε μη διαβητικούς υπερτασικούς ασθενείς, η πιογλιταζόνη βελτίωσε τους συμβατικούς υπερηχοκαρδιογραφικούς δείκτες διαστολικής λειτουργίας της αριστερής κοιλίας (αύξησε την αναλογία E/A και το χρόνο επιβράδυνσης), (Horio *et al.*,2005). Σε μία μικρή μελέτη ΣΔ2 ασθενών, η ροζιγλιταζόνη αύξησε την ταχύτητα E' δια μέσω του μιτροειδικού δακτυλίου (κατά 12.7%) φανερώνοντας ιδιότητες βελτίωσης της διαστολής του μυοκαρδίου, με παράλληλη αύξηση του κλάσματος βράχυνσης (von Bibra *et al.*,2008). Ακόμη, μία αύξηση στη διαφραγματική ταχύτητα E' (κατά 7.7%), που συσχετίστηκε με μείωση των επιπέδων πλάσματος του κολλαγόνου τύπου III, βρέθηκε από τη χορήγηση πιογλιταζόνης σε ένα άλλο



μικρό δείγμα ΣΔ2 ασθενών (Terui *et al.*,2009). Σε μία πρόσφατη σύγχρονη μελέτη με MRI/PET σε άντρες με ΣΔ2 και σχετικά φυσιολογική καρδιακή λειτουργία, η ροζιλιταζόνη φάνηκε ότι επάγει ήπιες αλλαγές στο ποσοστό διαμυοειδικής πλήρωσης και το διαστολικό όγκο της αριστερής κοιλίας σε σταθερές πιέσεις πλήρωσης, ευρήματα συμβατά με βελτίωση της συσταλτικότητας της αριστερής κοιλίας (van der Meer *et al.*,2009). Αυτή η βελτίωση δεν μπορούσε να εξηγηθεί από καμία αλλαγή στις μεταβολικές παραμέτρους ή το μεταβολισμό του μυοκαρδίου.

#### **4.6.5 Καρδιαγγειακή έκβαση, νοσηρότητα και θνησιμότητα**

Ενώ οι προαναφερθείσες μελέτες δείχνουν σημαντική επίδραση των TZDs στην εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης, τα τελευταία χρόνια υπάρχει μεγάλη συζήτηση σχετικά με την καρδιαγγειακή ασφάλεια των TZDs (Fisher 2009).

##### **4.6.5.1 Ροζιλιταζόνη**

Ο θόρυβος ξεκίνησε από τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης των Nissen and Wolski (2007), οι οποίοι συμπεριέλαβαν 42 μελέτες διάρκειας μεγαλύτερης των 24 εβδομάδων, με το σύνολο των ασθενών να ανέρχεται στους 27.847. Από τη μελέτη προέκυψε ότι η ροζιλιταζόνη σχετίζεται με σημαντικά αυξημένο κίνδυνο για έμφραγμα του μυοκαρδίου (OR:1.43; 95% CI:1.03–1.98;  $p=0.03$ ) και μία τάση για αυξημένη καρδιαγγειακή θνησιμότητα (OR:1.64; 95% CI:0.98–2.74;  $p=0.06$ ). Ωστόσο, η μελέτη είχε σημαντικούς περιορισμούς, μερικοί εκ των οποίων σημειώθηκαν από τους ίδιους τους ερευνητές. Η ανάλυση έγινε εκ των υστέρων, με βάση περιορισμένες πληροφορίες από το σύνολο των δεδομένων και όχι σε επίπεδο ασθενών. Για τη σύγκριση χρησιμοποιήθηκαν τόσο ενεργές θεραπείες όσο και πλασέμπο, ενώ δεν εφαρμόστηκε συγκεκριμένη μέθοδος εκτίμησης των εκβάσεων. Επίσης, οι μελέτες είχαν διαφορετικό σχεδιασμό και δεν απέβλεπαν στην εκτίμηση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων. Επιπλέον, καθώς πολλές από τις μελέτες αυτές ήταν μικρού μεγέθους και διάρκειας, τα καρδιαγγειακά συμβάματα θα ήταν χαμηλά, γεγονός που θα μπορούσε να επηρεάσει σημαντικά το τελικό αποτέλεσμα. Τέλος, μελέτες χωρίς καθόλου καρδιαγγειακά γεγονότα ή θανάτους αποκλείστηκαν, πράγμα που δείχνει μία μορφή προκατάληψης (Psaty, Furberg 2007). Λαμβάνοντας υπόψη τους παραπάνω περιορισμούς ακολούθησαν και άλλες μετα-αναλύσεις, τα ευρήματα των οποίων ήταν περίπου ίδια με αυτά των Nissen και Wolski (Singh *et al.*, 2007, FDA 2007, Cobitz *et al.*, 2008, Dahabreh 2008,

GlaxoSmithKline). Ενδιαφέρον έχει η μετα-ανάλυση των Singh et al. (2007), οι οποίοι περιόρισαν την ανάλυση σε τέσσερις μελέτες διάρκειας  $\geq$  των 12 μηνών και σύνολο ασθενών 14,291. Η μελέτη έδειξε ότι η ροζιγλιταζόνη αυξάνει σημαντικά τον κίνδυνο εμφράγματος του μυοκαρδίου (RR: 1.42; 95% CI: 1.06–.91;  $p=0.02$ ), αλλά όχι την καρδιαγγειακή θνησιμότητα (RR: 0.90; 95% CI: 0.63–1.26;  $p=0.53$ ). Ο κίνδυνος αυτός φαίνεται ότι είναι ιδιαίτερα αυξημένος σε ινσουλινοθεραπευόμενους ΣΔ2 ασθενείς (Singh, Furberg 2009, Nissen, Wolski 2010).

Περίπου ίδια ήταν τα ευρήματα και από τη μελέτη RECORD (Rosiglitazone Evaluated for Cardiac Outcomes and Regulation of Glycaemia in Diabetes), μία προοπτική μελέτη εκτίμησης συγκεκριμένα των καρδιαγγειακών συμβαμάτων από τη χρήση της ροζιγλιταζόνης, διάρκειας 5-7 ετών (Home et al., 2009). Έτσι, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης, ο κίνδυνος για έμφραγμα του μυοκαρδίου από τη ροζιγλιταζόνη ήταν 1.14 (95 % CI 0.80–1.63;  $p=0.47$ ), δηλαδή οριακά αυξημένος, χωρίς να φτάσει στατιστική σημαντικότητα, ενώ για καρδιαγγειακή θνησιμότητα 0.84 (95 % CI 0.59–1.18;  $p=0.32$ ). Ο κίνδυνος για καρδιακή ανεπάρκεια που απαιτούσε νοσηλεία ή οδηγούσε σε θάνατο ανήλθε στο 2.10 (1.35-3.27). Επίσης, αυξημένο ήταν και το ποσοστό των καταγμάτων ισχίου, ιδίως στο γυναικείο πληθυσμό της μελέτης.

Εξαιτίας της δυσμενούς αυτής επίδρασης της ροζιγλιταζόνης στο καρδιαγγειακό, η ομάδα των ειδικών των ADA/EASD τάσσεται κατά της χρήσης της (Nathan *et al.*, 2009). Στις Η.Π.Α, η ροζιγλιταζόνη εξακολουθεί να χρησιμοποιείται ως μονοθεραπεία, ως προσθήκη σε σουλφονυλουρία ή μετφορμίνη ή σε συνδυασμό με σουλφονυλουρία και μετφορμίνη. Ο συνδυασμός με ινσουλίνη δεν συνιστάται (Fisher 2009).

#### 4.6.5.2 Πιογλιταζόνη

Στον αντίποδα των βλαπτικών συνεπειών στο καρδιαγγειακό από τη χρήση της ροζιγλιταζόνης βρίσκονται τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα της μελέτης PROactive (PROspective pioglitAzone Clinical Trial In macroVascular Events), σχετικά με την καρδιαγγειακή έκβαση ασθενών που λαμβάνουν πιογλιταζόνη (Dormandy *et al.*, 2005). Πρόκειται για μια προοπτική μελέτη εκτίμησης της πιογλιταζόνης στα μακροαγγειακά συμβάματα ΣΔ2 ασθενών υψηλού κινδύνου, με γνωστή μακροαγγειοπάθεια. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης, η χορήγηση πιογλιταζόνης για 34.5 μήνες οδήγησε σε μία μη σημαντική μείωση (HR 0.90, 95% CI = 0.80-1.02;  $P=0.095$ ) στα πρωτεύοντα καταληκτικά σημεία (θνησιμότητα από όλα τα αίτια, μη θανατηφόρο έμφραγμα μυοκαρδίου, οξεία στεφανιαία σύνδρομα, AEE, ενδαγγειακές ή χειρουργικές παρεμβάσεις στις στεφανιαίες

αρτηρίες ή τις αρτηρίες των κάτω άκρων και ακρωτηριασμούς πάνω από την ποδοκνημική άρθρωση). Συνοδεύτηκε ωστόσο από μία σημαντική μείωση κατά 16% (HR 0.84, 95% CI = 0.72-0.98; P=0.027) στα κύρια δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία (θνησιμότητα από όλα τα αίτια, μη θανατηφόρο έμφραγμα του μυοκαρδίου και αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο). Επιπλέον, οι ασθενείς στην ομάδα της πιογλιταζόνης παρουσίασαν αυξημένο κίνδυνο καρδιακής ανεπάρκειας (11% vs. 8% στην ομάδα του πλασέμπο,  $p < 0.0001$ ), αλλά όχι θανατηφόρας καρδιακής ανεπάρκειας (1% και για τις δύο ομάδες).

Ακολούθησαν διάφορες μετα-αναλύσεις, με ευρήματα παρόμοια με αυτά της PROactive (Lincoff *et al.*, 2007, Mannucci *et al.*, 2008, Nagajothi *et al.*, 2008). Ωστόσο και αυτές οι μετα-αναλύσεις έχουν περιορισμούς, όπως στην περίπτωση της ροζιγλιταζόνης. Όμως, σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα της PROactive, προσφέρουν ισχυρές ενδείξεις ωφέλειας από τη χρήση της πιογλιταζόνης στην καρδιαγγειακή έκβαση ΣΔ2 ασθενών (Fisher 2009).

Η πιογλιταζόνη ενδείκνυται ως δεύτερης ή τρίτης γραμμής θεραπεία του ΣΔ2, καθώς και σε συνδυασμό με ινσουλίνη (ADA 2014).

Συμπερασματικά, η πιογλιταζόνη μπορεί να καθυστερήσει την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης, όπως φάνηκε από τις μελέτες PERISCOPE και CHICAGO και να μειώσει τη συχνότητα εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε ΣΔ2 ασθενείς υψηλού κινδύνου, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της PROactive. Αντίθετα, η επίδραση της ροζιγλιταζόνης στην καρδιαγγειακή έκβαση των ΣΔ2 ασθενών φαίνεται ότι είναι δυσμενής.

#### **4.7 Ανάλογα ινκρετινών και DPP-4 αναστολείς και καρδιαγγειακό**

Όπως έδειξαν κλινικές και πειραματικές μελέτες, τα GLP-1 ανάλογα επηρεάζουν αρκετούς από τους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου, καθώς μειώνουν το σωματικό βάρος, τη συστολική αρτηριακή πίεση, βελτιώνουν το λιπιδαιμικό προφίλ, ενώ έχουν πιθανώς άμεση δράση στα καρδιακά μυοκύτταρα και το ενδοθήλιο (Lorber 2013). Πράγματι, η χορήγηση GLP-1 σε ΣΔ2 ασθενείς βελτίωσε την ενδοθηλιακή λειτουργία (εκτιμώμενη με πληθυσμογραφία), πιθανώς λόγω άμεσης επίδρασης στα ενδοθηλιακά κύτταρα (Basu *et al.*, 2007). Σε ΣΔ2 ασθενείς με στεφανιαία νόσο η θεραπεία με GLP-1 επίσης βελτίωσε την ενδοθηλιακή λειτουργία, χωρίς να μειώσει την ευαισθησία στην ινσουλίνη (Nystrom *et al.*, 2004). Επίσης, η συνεχής χορήγηση GLP-1 για 72 ώρες μετά από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου βελτίωσε τη λειτουργία της αριστερής κοιλίας (Nikolaidis *et al.*, 2004).

Ακόμη, η χορήγηση GLP-1 κατά τη διάρκεια γεύματος είχε προστατευτική επίδραση στο ενδοθήλιο, πιθανώς μέσω μείωσης της υπεργλυκαιμίας και ελέγχου του οξειδωτικού στρες (Ceriello *et al.*, 2011). Όμοια, η χορήγηση εξενατίδης εφάπαξ μετά από γεύμα πλούσιο σε λιπαρά βελτίωσε την ενδοθηλιακή λειτουργία ασθενών με IGT ή νεοδιαγνωσθέντα ΣΔ2, κυρίως λόγω της μείωσης των τριγλυκεριδίων (Koska *et al.*, 2010). Τέλος, και οι DPP-4 αναστολείς έχει βρεθεί ότι έχουν θετική επίδραση στο ενδοθήλιο (Matsubara *et al.*, 2012, van Poppel *et al.*, 2011, Ayaori *et al.*, 2013).

Φαίνεται ότι η προστατευτική αυτή δράση των GLP-1 αναλόγων στο καρδιαγγειακό οφείλεται τόσο στη ύπαρξη GLP-υποδοχέων στους ιστούς αυτούς όσο και σε ανεξάρτητες καρδιαγγειακές δράσεις των παραγόντων αυτών (Ban *et al.*, 2008).

#### **4.8 Ινσουλίνη και καρδιαγγειακό**

Η επίδραση της εξωγενούς χορήγησης ινσουλίνης στα αγγεία είναι θέμα αμφιλεγόμενο. Διάφορες πειραματικές και κλινικές μελέτες έδειξαν βλαπτική επίδραση και αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο. Άλλες μελέτες συνέκριναν την καθιερωμένη έναντι της εντατικοποιημένης θεραπείας και βρήκαν μείωση στις μικροαγγειακές επιπλοκές από την ινσουλίνη, αλλά μη σημαντικές διαφορές στην επίπτωση των μακροαγγειακών επιπλοκών (Muis *et al.*, 2005).

Αναφορικά με την ενδοθηλιακή λειτουργία, οι Gaenger *et al.* (2002) βρήκαν βελτίωση στο FMD από την προσθήκη ινσουλίνης, που σχετίστηκε με τη βελτίωση του γλυκαιμικού ελέγχου. Όμοια, οι Vehkavaara και Yki-Jarvinen (2004) έδειξαν βελτίωση στην ενδοθηλιακή λειτουργία από τη μακροχρόνια χορήγηση ινσουλίνης, όπως και οι Fernandez *et al.* (2008).

Σχετικά με τον καρδιαγγειακό κίνδυνο, οι Engel-Nitz *et al.* (2008) παρατήρησαν σημαντική μείωση στα καρδιαγγειακά συμβάματα από την ινσουλίνη. Αντίθετα ήταν τα ευρήματα της μελέτης ACCORD, η οποία έδειξε αυξημένη θνησιμότητα από την χρήση ινσουλίνης (Gerstein *et al.*, 2008). Ωστόσο άλλες μελέτες (VADT, ADVANCE) που χρησιμοποίησαν εντατικοποιημένο σχήμα σε όμοιους ασθενείς δεν έδειξαν το ίδιο αποτέλεσμα (Kelly *et al.*, 2009).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5<sup>ο</sup>

### ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

#### 5.1 Σκοπός της μελέτης

Η επίδραση των TZDs στο καρδιαγγειακό σύστημα και η ικανότητά τους να επηρεάζουν την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης στους ΣΔ2 ασθενείς δεν είναι ακόμη σαφής. Τα τελευταία χρόνια έχει υπάρξει ιδιαίτερο ερευνητικό ενδιαφέρον για αυτή την τάξη των αντιδιαβητικών παραγόντων, κυρίως λόγω των μη υπογλυκαιμικών τους δράσεων, όπως η βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ, της αρτηριακής πίεσης, καθώς και η αντιφλεγμονώδης και αντιθρομβωτική τους δράση. Από τα μέχρι τώρα δεδομένα φαίνεται ότι οι TZDs έχουν γενικά ευνοϊκή επίδραση στην ενδοθηλιακή λειτουργία, ενώ μπορούν να καθυστερήσουν την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης. Αναφορικά με την καρδιαγγειακή πρόγνωση, η πιогλιταζόνη μπορεί να μειώσει το ποσοστό εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε ΣΔ2 ασθενείς υψηλού κινδύνου, όπως φάνηκε κυρίως από τη μελέτη PROactive, ενώ αντίθετα η ροζιγλιταζόνη ενοχοποιείται για αύξηση των συμβαμάτων αυτών στους ΣΔ2 ασθενείς. Ωστόσο, όπως προαναφέρθηκε, η βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας δεν μεταφράζεται απαραίτητα σε βελτίωση της καρδιαγγειακής πρόγνωσης.

Η παρούσα μελέτη σχεδιάστηκε με κύριο σκοπό να διερευνήσει την επίδραση των γλιταζονών (πιогλιταζόνης ή ροζιγλιταζόνης) στην ενδοθηλιακή λειτουργία ασθενών με ΣΔ2 χωρίς γνωστή καρδιαγγειακή νόσο, οι οποίοι δεν είχαν επαρκή γλυκαιμικό έλεγχο με την έως τότε χορηγούμενη αντιδιαβητική αγωγή και που βρίσκονταν σε διαφορετικά στάδια της νόσου (διαφορετική χρονική διάρκεια από την διάγνωση της νόσου, ανάγκη για ένα ή περισσότερα αντιδιαβητικά φάρμακα ή χορήγηση ινσουλίνης).

Δευτερευόντως μελετήθηκαν:

- A) η επίδραση της πιогλιταζόνης στην μυοκαρδιακή λειτουργία και
- B) οι προγνωστικοί παράγοντες της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και αυξημένης αρτηριακής σκληρότητας στο σύνολο των διαβητικών ασθενών κατά το αρχικό στάδιο της μελέτης.

Η μελέτη απαρτίστηκε από τα παρακάτω τέσσερα μέρη:

- A) Προσθήκη πιогλιταζόνης (Actos) σε ασθενείς που είναι σε μονοθεραπεία με μετφορμίνη έναντι του συνδυασμού σουλφονυλουρία και μετφορμίνη (μελέτη A).

Β) Προσθήκη πιογλιταζόνης (Actos) σε ασθενείς που είναι σε μονοθεραπεία με σουλφονουλουρία, έναντι του συνδυασμού σουλφονουλουρία και μετφορμίνη, που είναι η κλασική βέλτιστη για αντιδιαβητική θεραπεία (μελέτη Β).

Γ) Προσθήκη πιογλιταζόνης σε ασθενείς που είναι σε διπλοθεραπεία με σουλφονουλουρία και μετφορμίνη, πριν και μετά την προσθήκη της πιογλιταζόνης (μελέτη Γ).

Δ) Προσθήκη ροζιγλιταζόνης (Avandia) σε ασθενείς υπό ινσουλίνη, πριν και μετά την προσθήκη της ροζιγλιταζόνης (μελέτη Δ).

## 5.2 Περιγραφή μελετών

Ο σκοπός της πρώτης μελέτης (μελέτη Α) ήταν η σύγκριση της επίδρασης της πιογλιταζόνης έναντι της γλιμεπιρίδης στην ενδοθηλιακή λειτουργία ΣΔ2 ασθενών που ήδη ελάμβαναν μετφορμίνη. Όπως περιγράφηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο (κεφάλαιο 3), η γλιμεπιρίδη ανήκει στις σουλφονουλουρίες δεύτερης γενιάς και επιτυγχάνει γλυκαιμικό έλεγχο μέσω της αύξησης της έκκρισης ινσουλίνης (ινσουλονοεκκριταγωγό). Τα αγγειακά οφέλη από τη χρήση των σουλφονουλουριών δεν έχουν μελετηθεί εκτενώς, ενώ θεωρούνται ότι έχουν μάλλον ουδέτερη επίδραση στην καρδιαγγειακή έκβαση. Αν και οι δύο αυτοί παράγοντες με διαφορετική φυσιολογική και μεταβολική δράση χρησιμοποιούνται ευρέως για τον γλυκαιμικό έλεγχο, δεν υπάρχουν ωστόσο αρκετές ενδείξεις σχετικά με το ποιος θα πρέπει να προτιμηθεί στην κλινική πράξη, ώστε να βελτιωθεί επιπλέον και η καρδιαγγειακή πρόγνωση.

Η δεύτερη ομάδα της μελέτης (μελέτη Β) αφορούσε την εκτίμηση του ρόλου της πιογλιταζόνης έναντι της μετφορμίνης στην ενδοθηλιακή λειτουργία ΣΔ2 ασθενών που ήταν σε θεραπεία με σουλφονουλουρία. Τόσο η πιογλιταζόνη όσο και η μετφορμίνη είναι ευαισθητοποιητές της ινσουλίνης, με διαφορετικό μηχανισμό δράσης, χωρίς ωστόσο να έχει συγκριθεί ποτέ μέχρι τώρα η επίδρασή τους στην αγγειακή λειτουργία.

Στην τρίτη ομάδα (μελέτη Γ) μελετήθηκε η δράση της προσθήκης πιογλιταζόνης σε ασθενείς που ελάμβαναν διπλοθεραπεία με σουλφονουλουρία και μετφορμίνη και είχαν μεγαλύτερη διάρκεια διαβήτη. Όπως προαναφέρθηκε, η καρδιαγγειακή ασφάλεια του συνδυασμού σουλφονουλουρίας με μετφορμίνη είναι υπό αμφισβήτηση, καθώς το σχήμα αυτό έχει συνδεθεί με αυξημένη καρδιαγγειακή θνησιμότητα, ενώ δεν υπάρχουν μέχρι τώρα μελέτες που να ελέγχουν την πιθανή βελτίωση από την πιογλιταζόνη στην καρδιαγγειακή πρόγνωση των ασθενών αυτών.

Ο σκοπός της τέταρτης ομάδας (μελέτη Δ) ήταν η εκτίμηση της προσθήκης ροζιγλιταζόνης στην ενδοθηλιακή λειτουργία ασθενών με προχωρημένο ΣΔ2, που ήταν σε

ινσουλινοθεραπεία. Είναι γνωστό ότι η ροζιγλιταζόνη σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφράγματος του μυοκαρδίου, ιδίως σε ινσουλινοθεραπευόμενους ασθενείς, χωρίς όμως να έχει ερευνηθεί ποτέ η επίδραση στην ενδοθηλιακή λειτουργία του συνδυασμού αυτού.

Οι ασθενείς της Α, Β και Γ μελέτης ελέγχθηκαν επιπλέον με υπερηχοκαρδιογραφική μελέτη, τόσο στο αρχικό σημείο της μελέτης όσο και κατά τον επανέλεγχο, προκειμένου να εκτιμηθεί η επίδραση της πιογλιταζόνης στην καρδιακή δομή και λειτουργία. Τέλος, στους ασθενείς όλων των ομάδων, στο αρχικό στάδιο της μελέτης, έγινε επιπρόσθετα εκτίμηση της αρτηριακής σκληρότητας, προκειμένου να προσδιοριστούν οι προγνωστικοί παράγοντες της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και αυξημένης αρτηριακής σκληρότητας στο σύνολο των διαβητικών ασθενών.





**ΕΙΔΙΚΟ  
ΜΕΡΟΣ**



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6<sup>ο</sup>

### ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

#### 6.1 Πληθυσμός μελέτης

Στη μελέτη συμμετείχαν ασθενείς με ΣΔ2 χωρίς κάποιο σοβαρό πρόβλημα υγείας και χωρίς γνωστό ιστορικό καρδιαγγειακών παθήσεων, οι οποίοι δεν επιτύγχαναν το γλυκαιμικό στόχο με την τρέχουσα αγωγή. Στους ασθενείς αυτούς έγινε διερεύνηση λειτουργικών δεικτών υποκλινικής αθηροσκλήρωσης των αγγείων με τη βοήθεια υπερήχων και περιφερικής αρτηριακής τονομετρίας, υπερηχοκαρδιογραφικός έλεγχος καθώς και βιοχημικός προσδιορισμός δεικτών υποκλινικής αγγειακής φλεγμονής, που συμμετέχουν στα αρχικά στάδια της αθηροσκλήρωσης, πριν και μετά τη θεραπευτική παρέμβαση.

##### 6.1.1 Κριτήρια εισόδου

Οι ασθενείς που συμμετείχαν τελικά στη μελέτη έπρεπε να πληρούν τα κάτωθι κριτήρια:

- ✓ Ηλικία 40-80 ετών
- ✓ Καλή γενική κατάσταση υγείας
- ✓ Διάρκεια της υπάρχουσας θεραπείας μεγαλύτερη από 6 μήνες
- ✓ HbA1c > 6.5%
- ✓ Φυσιολογική ηπατική και νεφρική λειτουργία.

##### 6.1.2 Κριτήρια αποκλεισμού

Οι ΣΔ2 ασθενείς που πληρούσαν τα κριτήρια εισόδου στη μελέτη εξαιρούνταν από τη συμμετοχή σε αυτή εφόσον παρουσίαζαν έστω και ένα από τα παρακάτω χαρακτηριστικά:

- Κλινικά συμπτώματα/σημεία ή γνωστό ιστορικό καρδιαγγειακών νοσημάτων (στεφανιαία νόσος, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, περιφερική αρτηριακή νόσος).

- Χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια (κλάσμα εξώθησης < 50%).
- Ηπατική δυσλειτουργία (ALT > 2.5 φορές του φυσιολογικού )
- Έκπτωση νεφρικής λειτουργίας (Cre > 1.4 mg/dl)
- Αναιμία
- Ενδοκρινοπάθειες
- Πρόσφατη έναρξη οποιασδήποτε αγωγής τις τελευταίες 8 εβδομάδες πριν την έναρξη της μελέτης.
- Οποιαδήποτε άλλη θεραπευτική παρέμβαση κατά τη διάρκεια της μελέτης.

Το δείγμα που χρησιμοποιήθηκε περιλάμβανε ασθενείς με ΣΔ2, που εκτιμήθηκαν στα εξωτερικά Ενδοκρινολογικά ιατρεία του Πανεπιστημιακού και Γενικού Νοσοκομείου Χατζηκώστα Ιωαννίνων στα πλαίσια του τακτικού εξαμηνιαίου ελέγχου τους, κατά το χρονικό διάστημα μεταξύ Οκτωβρίου 2003 και Ιουλίου 2005. Η επιλογή των ασθενών οι οποίοι θα συμμετείχαν στη μελέτη έγινε σύμφωνα με τη σειρά προσέλευσής τους στο εξωτερικό ιατρείο και αφού προηγήθηκε λήψη του ιατρικού τους ιστορικού, πλήρης κλινική εξέταση και διενέργεια ηλεκτροκαρδιογραφήματος. Από τους 500 περίπου ασθενείς που εξετάστηκαν κατά το χρονικό διάστημα της διαλογής μόνο οι 185 πληρούσαν τα κριτήρια εισόδου στη μελέτη και υπεβλήθησαν στον περαιτέρω έλεγχο των αγγείων που επέβαλλε το πρωτόκολλο της παρούσας μελέτης. Από αυτούς, τη μελέτη ολοκλήρωσαν 165 άτομα, η οποία διήρκησε από τον Οκτωβρίου 2003 έως τον Ιανουάριο του 2006.

## 6.2 Σχεδιασμός μελέτης

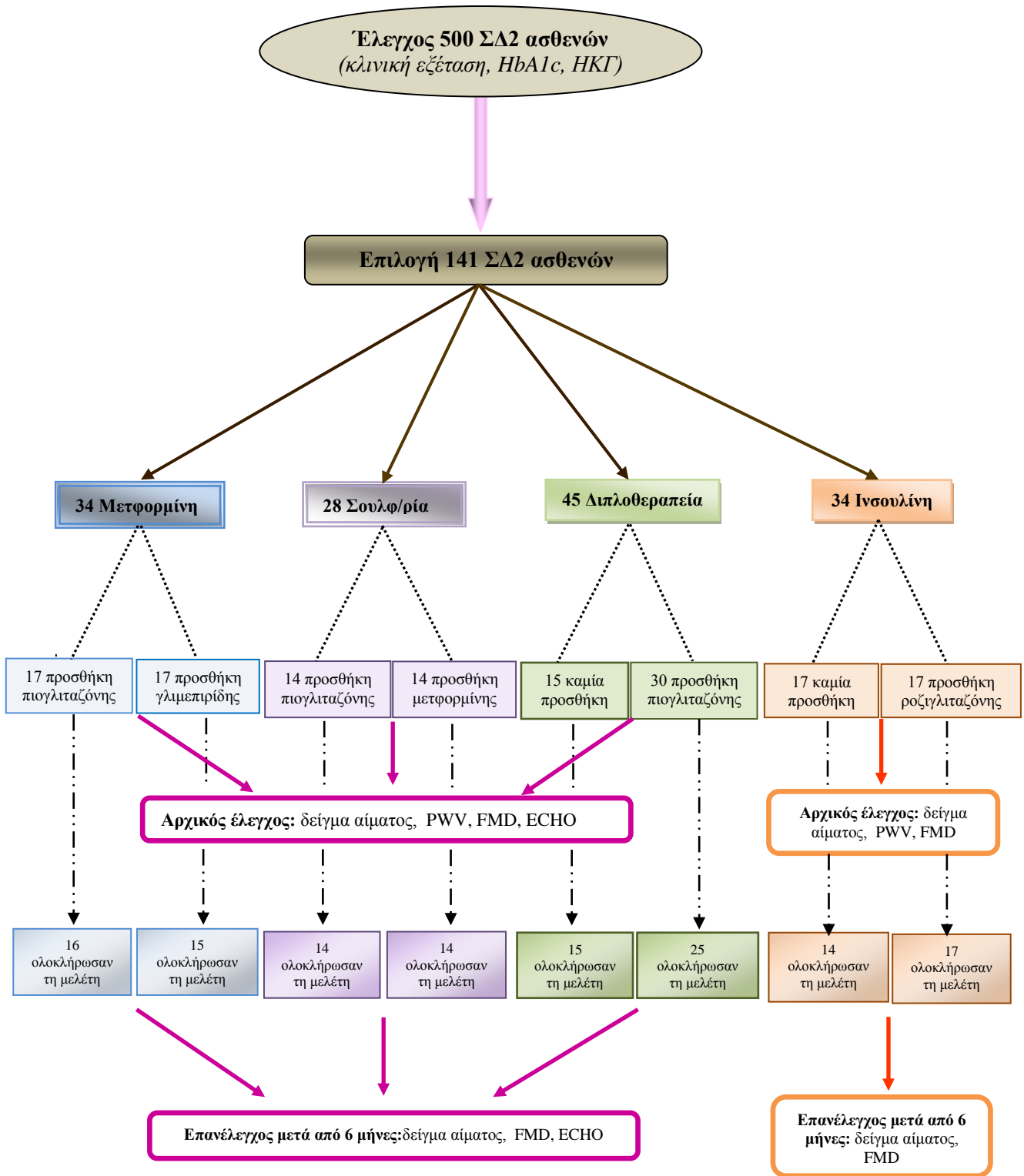
Για την εκτίμηση της δράσης των γλιταζονών σχεδιάστηκαν 4 διαφορετικές ανοικτές τυχαιοποιημένες μελέτες, κατά τις οποίες σε ασθενείς με ΣΔ2 υπό αγωγή προστέθηκαν στην ήδη χορηγούμενη αγωγή γλιταζόνες (πιογλιταζόνη ή ροζιγλιταζόνη) για 6 μήνες. Συγκεκριμένα σχεδιάστηκαν οι παρακάτω 4 ανοικτές τυχαιοποιημένες μελέτες που παρουσιάζονται στην εικόνα 6.1:

- ❖ Πρώτη μελέτη (μελέτη Α), (N=28 άτομα). Οι ασθενείς ήταν ήδη σε θεραπεία με μετφορμίνη και τυχαιοποιήθηκαν να λάβουν πιογλιταζόνη (N=14 άτομα) ή γλιμεπιρίδη (N=14 άτομα). Πρωτογενής στόχος της μελέτης ήταν η επίδραση της πιογλιταζόνης σε σύγκριση με την γλιμεπιρίδη όσον αφορά την ενδοθηλιακή λειτουργία. Στους δευτερεύοντες στόχους ανήκε η εκτίμηση της επίδρασης της

πιογλιταζόνης σε σύγκριση με την γλιμιπερίδη σε συγκεκριμένους υπερηχοκαρδιογραφικούς δείκτες και μεταβολικές παραμέτρους, ενώ αναζητήθηκαν οι προγνωστικοί παράγοντες της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και αυξημένης αρτηριακής σκληρότητας στο σύνολο των ασθενών, πριν από τις αλλαγές στη θεραπεία τους.

- ❖ Δεύτερη μελέτη (μελέτη Β), (N=34 άτομα). Οι ασθενείς ελάμβαναν ήδη σουλφονουλουρία και τυχαιοποιήθηκαν σε προσθήκη πιογλιταζόνης (N=17 άτομα) ή μετφορμίνης (N=17 άτομα). Μελετήθηκαν οι ίδιοι με παραπάνω πρωτογενείς και δευτερογενείς στόχοι καθώς επίσης και αναζητήθηκαν οι παράγοντες οι οποίοι σχετίζονται με τους δείκτες αγγειακής λειτουργίας στους ασθενείς πριν την έναρξη της θεραπευτικής παρέμβασης (όπως και παραπάνω).
- ❖ Τρίτη μελέτη (μελέτη Γ), (N=45 άτομα). Οι ασθενείς ήταν ήδη σε διπλοθεραπεία με σουλφονουλουρία και μετφορμίνη. Οι ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν να λάβουν πιογλιταζόνη (N=30 άτομα) ή τίποτε (N=15 άτομα), τυχαιοποίηση 2:1. Μελετήθηκαν οι ίδιοι με παραπάνω πρωτογενείς και δευτερογενείς στόχοι καθώς επίσης και αναζητήθηκαν οι παράγοντες οι οποίοι σχετίζονται με τους δείκτες αγγειακής λειτουργίας στους ασθενείς πριν την έναρξη της θεραπευτικής παρέμβασης (όπως και παραπάνω). Επιπλέον, στους ασθενείς της ομάδας αυτής μετρήθηκε η μικροαλβουμίνη πρωινού δείγματος ούρων πριν και μετά την αλλαγή στην αγωγή.
- ❖ Τέταρτη μελέτη (μελέτη Δ), (N=34 άτομα). Οι ασθενείς ήταν ήδη σε ινσουλινοθεραπεία. Οι ασθενείς αυτοί τυχαιοποιήθηκαν να λάβουν ροζιγλιταζόνη (N=17 άτομα) ή τίποτε (N=17 άτομα). Μελετήθηκαν οι ίδιοι με παραπάνω πρωτογενείς και δευτερογενείς στόχοι καθώς επίσης και αναζητήθηκαν οι παράγοντες οι οποίοι σχετίζονται με τους δείκτες αγγειακής λειτουργίας στους ασθενείς πριν την έναρξη της θεραπευτικής παρέμβασης (όπως και παραπάνω).

Ο σχεδιασμός της μελέτης απεικονίζεται σχηματικά στο διάγραμμα ροής που ακολουθεί (Εικόνα 6.1).



Εικόνα 6.1. Διάγραμμα ροής της μελέτης.

### 6.3 Ακριβές πρωτόκολλο μελέτης

Σε όλους τους ασθενείς της μελέτης καταγράφηκε η παρουσία παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου, δηλαδή υπέρτασης, δυσλιπιδαιμίας, το ιστορικό καπνίσματος, το οικογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου, η λήψη φαρμάκων κατά τη χρονική διάρκεια διεξαγωγής της μελέτης, το επίπεδο φυσικής δραστηριότητας και το χρονικό διάστημα από τη διάγνωση του ΣΔ2. Το θετικό οικογενειακό ιστορικό στεφανιαίας νόσου ορίστηκε ως εμφάνιση στεφανιαίας νόσου σε άντρα συγγενή πρώτου βαθμού ηλικίας <55 ετών ή σε γυναίκα συγγενή πρώτου βαθμού ηλικίας <65 ετών. Το ιστορικό καπνίσματος των συμμετεχόντων καταγραφόταν ως νυν, πρώην και ποτέ καπνιστής/καπνίστρια, χωρίς να αποτελεί κριτήριο αποκλεισμού από τη μελέτη. Τελικώς, οι ομάδες των ασθενών ήταν σταθμισμένες ως προς το ποσοστό των καπνίζόντων. Το επίπεδο φυσικής άσκησης καταγραφόταν επίσης ως εξής: 1) καθόλου άσκηση ή περιστασιακή άσκηση λιγότερο από μια φορά την εβδομάδα, 2) βάδιση με γρήγορο ρυθμό για τουλάχιστον 30 λεπτά την ημέρα και όχι πάνω από 5 ημέρες την εβδομάδα και 3) καθημερινή άσκηση, είτε ως βάδιση με γρήγορο ρυθμό ή πιο εντατική άσκηση.

Ακολουθούσε πλήρης κλινική εξέταση, λήψη δείγματος αίματος και ούρων και εκτίμηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας, κατά την αρχική εξέταση και τον επανέλεγχο μετά από 6 μήνες. Κάθε άλλη αγωγή (λήψη αντιυπερτασικών, υπολιπιδαιμικών και αντιαιμοπεταλιακών παραγόντων) παρέμεινε σταθερή κατά τη διάρκεια της μελέτης. Επιπλέον ζητήθηκε από τους ασθενείς να διατηρήσουν το ίδιο είδος διατροφής και επίπεδο φυσικής δραστηριότητας σε όλη τη διάρκεια του 6μηνιαίου επανελέγχου.

Αναλυτικά, η εκτίμηση των ασθενών περιλάμβανε (στην αρχική εκτίμηση και μετά από 6 μήνες από την παρέμβαση):

1. Σωματομετρικά (βάρος, ύψος, πίεση, ιστορικό, φάρμακα)
2. Αιμοληψία
  - Γενική αίματος
  - Ηπατική και νεφρική λειτουργία
  - Λιπίδια νήστεως
  - FPG (fasting plasma glucose), HBA<sub>1c</sub>, ινσουλίνη
  - Θυρεοειδικός έλεγχος
3. Οροί
  - Μόρια προσκόλλησης (ICAM, VCAM-1, e-σελεκτίνη)
  - Ενδοθηλίνη-1
  - Υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (High sensitivity-CRP)

- αδιπονεκτίνη
- 4. Εκτίμηση αντίστασης στην ινσουλίνη με HOMA-IR (fasting plasma insulin ( $\mu\text{U/ml}$ ) x FPG (mmol/L) /22.5]
- 5. Εκτίμηση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη με το δείκτη GIR: fasting glucose-to-insulin ratio (GIR)
- 6. Λειτουργία ενδοθηλίου και δείκτες μεγάλων αγγείων
- 7. Υπέρηχος καρδιάς (ECHO)

Η κλινική εκτίμηση και ο έλεγχος των ηπατικών ενζύμων γίνονταν σε όλους τους ασθενείς στον πρώτο, τρίτο και έκτο μήνα της μελέτης.

Η μελέτη σχεδιάστηκε σύμφωνα με τις προβλεπόμενες διατάξεις της Διακήρυξης του Ελσίνκι και εγκρίθηκε από την Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας του Μιχαηλίδειου Καρδιολογικού Κέντρου. Όλοι οι ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη παρείχαν γραπτή συναίνεση για τη συμμετοχή τους.

#### 6.4 Διαδικασίες

Αμέσως μετά την επιλογή του κάθε ασθενούς γινόταν αιμοληψία για τον καθορισμό των αιματολογικών, βιοχημικών και μεταβολικών παραμέτρων, εφόσον ο ασθενής βρισκόταν σε νηστεία από το προηγούμενο βράδυ, ενώ σε αντίθετη περίπτωση πραγματοποιούνταν την επόμενη ημέρα μετά από ολονύκτια νηστεία. Στους ασθενείς της ομάδας Γ ζητήθηκε επιπλέον πρωινό δείγμα ούρων, για τον προσδιορισμό της μικροαλβουμίνης ούρων. Ακολουθούσε φυγοκέντρηση μέρους του δείγματος αίματος και απομόνωση ορού, ο οποίος διατηρούνταν ξεχωριστά σε μικρά σωληνάκια των 0,5 ml (eppendorfs) σε καταψύκτη στους  $-80^{\circ}\text{C}$  προκειμένου να γίνει σε δεύτερο χρόνο η ανάλυση για τον καθορισμό των επιπέδων των δεικτών αγγειακής φλεγμονής (hs-CRP, ICAM, VCAM-1, e-σελεκτίνη, ενδοθηλίνη-1) και αδιπονεκτίνης. Η φυγοκέντρηση γινόταν αμέσως μετά την αιμοληψία σε φυγόκεντρο που διαθέτει η Ενδοκρινολογική κλινική του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Τα δείγματα αίματος φυγοκεντρώνταν στις 3500 στροφές/λεπτό για διάστημα περίπου 10 λεπτών της ώρας, ενώ από τη στιγμή της αιμοληψίας και μέχρι τη φυγοκέντρηση (1-4 ώρες) διατηρούνταν στους  $4^{\circ}\text{C}$ . Μετά τη φυγοκέντρηση ο ορός που απομονώνονταν διαιρούνταν σε μικρές ποσότητες των 0,5 ml (eppendorf) και διατηρούνταν στους  $-80^{\circ}\text{C}$  μέχρι να αναλυθεί. Την επόμενη ημέρα ακολουθούσε η υπερηχογραφική εκτίμηση της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης και μη ενδοθηλιο-



εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής της βραχιόνιας αρτηρίας, η μέτρηση της ταχύτητας σφυγμικού κύματος (PWV) και ο υπερηχοκαρδιογραφικός έλεγχος. Ακριβώς πριν τις εξετάσεις των υπερήχων λαμβάνονταν τιμές αρτηριακής πίεσης ηρεμίας (τρεις διαδοχικές μετρήσεις και υπολογισμός της μέσης τιμής των μετρήσεων) και μετρούνταν το ύψος και βάρος (πάντα στην ίδια ζυγαριά ακριβείας) των ασθενών για τον καθορισμό του δείκτη μάζας σώματος με βάση τον μαθηματικό τύπο: Δείκτης Μάζας Σώματος = Βάρος, kg / (Υψος, m)<sup>2</sup>. Επίσης γινόταν καταγραφή της ελάχιστης περιμέτρου μέσης μεταξύ των κατώτερων πλευρών και των ορίων της πυέλου.

## 6.5 Εργαστηριακές εξετάσεις

Οι μετρήσεις των μεταβολικών παραμέτρων έγιναν στο Βιοχημικό Εργαστήριο του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων. Τα επίπεδα της γλυκόζης ορού προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο της εξωκινάσης, ενώ της HbA1c με δοκιμασία αναστολής της συγκόλλησης με latex (Randox, UK) σε αναλυτή Olympus AU640 (Olympus Diagnostica GmbH, Hamburg, Germany). Τα επίπεδα της ινσουλίνης ορού μετρήθηκαν με ανοσολογικό προσδιορισμό μικροσωματικών ενζύμων (microparticle enzyme immunoassay) σε ανοσοαναλυτή AxSYM (AXSYM immunoanalyzer, Abbot Laboratory, Abbott Park, IL). Για τον υπολογισμό του GIR χρησιμοποιήσαμε το λόγο της γλυκόζης νηστείας ορού προς την ινσουλίνη νηστείας ορού. Ο βαθμός αντίστασης στην ινσουλίνη εκτιμήθηκε με τη βοήθεια του μοντέλου ομοιοστασίας της γλυκόζης HOMA (homeostasis model assessment), σύμφωνα με τον τύπο:  $HOMA = \text{γλυκόζη νηστείας ορού [mmol/l]} \times \text{ινσουλίνη νηστείας ορού [\mu U/ml]} / 22.5$ . Τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης, της χοληστερόλης υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών, των τριγλυκεριδίων και της γλυκόζης νηστείας καθορίστηκαν με τη μέθοδο της ενζυματικής χρωματομετρικής ανάλυσης σε αναλυτή Olympus AU640 Clinical Chemistry Analyzer (Olympus Diagnostica GmbH, Hamburg, Germany). Η χοληστερόλη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών υπολογίστηκε με τη χρήση του τύπου του Friedewald :  $LDL-c = \text{Ολική χοληστερόλη} - HDL-c - (\text{Τριγλυκερίδια} / 5)$ . Η ανάλυση των δειγμάτων ορού αίματος και ούρων για τον καθορισμό των επιπέδων της υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσας πρωτεΐνης και μικροαλβουμίνης ούρων έγινε σε συνεργασία με το Εργαστήριο Μικροβιολογίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων. Η μέτρηση των επιπέδων της υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσας πρωτεΐνης έγινε με τη χρήση νεφελομετρίας σε αναλυτή IMMAGE Immunochemistry system (Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA). Το

ελάχιστο επίπεδο ανίχνευσης στο πλάσμα ήταν 0.02 mg/L. Η νεφελομετρία χρησιμοποιήθηκε επίσης για τον προσδιορισμό της μικροαλβουμίνης τυχαίου δείγματος ούρων.

## **6.6 Αγγειακές μετρήσεις και υπερηχοκαρδιογραφικός έλεγχος**

### **6.6.1 Υπερηχογραφική μελέτη αγγείων**

Η εκτίμηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας έγινε με τη χρήση υπερήχων υψηλής ευκρίνειας, σε δύο στάδια: κατά την αρχική baseline εκτίμηση των ασθενών και στον επανέλεγχο μετά από 6 μήνες. Η υπερηχογραφική μελέτη των αγγείων διεξήχθη στο Μιχαηλίδειο Καρδιολογικό Κέντρο της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων από τον ίδιο χειριστή, ο οποίος δεν γνώριζε σε ποια ομάδα ανήκαν οι ασθενείς ούτε και το αν λάμβαναν θεραπεία ή όχι στον επανέλεγχο. Οι εξετάσεις πραγματοποιήθηκαν με ένα σύστημα υπερήχων Echo-Doppler (Ultrasound ATL, HDI 5000, Bophell, WA, USA) και τη χρήση ενός ‘μορφοτροπέα’ (transducer) ειδικού για τη μελέτη αγγείων με συχνότητες υπερήχων 5-12 MHz.

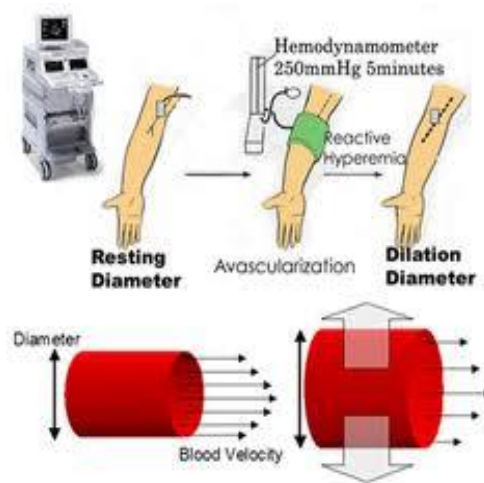
Η εξέταση γινότανε νωρίς το πρωί και αφού είχε προηγηθεί νηστεία και αποχή από το κάπνισμα τουλάχιστο 14 ώρες πριν τη μελέτη. Όλες οι μετρήσεις έγιναν με τους ασθενείς ξαπλωμένους σε ύπτια θέση σε μία ήσυχη εξεταστική αίθουσα με ελεγχόμενη θερμοκρασία (~22°C) και αφού είχε προηγηθεί διάστημα 30 λεπτών, προκειμένου οι ασθενείς να εξοικειωθούν με το χώρο και να είναι όσο το δυνατό πιο ήρεμοι. Πριν την έναρξη της εξέτασης λαμβάνονταν δύο λήψεις της αρτηριακής πίεσης και της καρδιακής συχνότητας σε ηρεμία, με τη βοήθεια αυτόματου πιεσομέτρου της βραχιόνιας αρτηρίας (Omron M7, Omron Healthcare Co., Kyoto, Japan) και αφού οι ασθενείς ήταν ήδη κατακεκλιμένοι για περίπου 10 λεπτά. Ακολουθούσε η τοποθέτηση των ηλεκτροδίων και στη συνέχεια η εκτίμηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας στη βραχιόνια αρτηρία.

Η εκτίμηση της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης και ενδοθηλιο-ανεξάρτητης αγγειοδιαστολής της βραχιόνιας αρτηρίας βασίστηκε σε μέθοδο η οποία έχει περιγραφεί σε δημοσιευμένες κατευθυντήριες οδηγίες (Corretti *et al*, 2002). Η ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή εκτιμήθηκε μέσω προσδιορισμού της ροο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής στη βραχιόνια αρτηρία ως συνέπεια της αντιδραστικής υπεραιμίας και της επακόλουθης αύξησης της διατμητικής τάσης της αιματικής ροής μετά από σύσφιξη του αντιβραχίου. Όλες οι μετρήσεις

έγιναν στη δεξιά βραχιόνια αρτηρία και αφού το δεξιό άνω άκρο του κάθε ασθενούς είχε τοποθετηθεί σε ειδική κατασκευή, προκειμένου να παραμένει ακίνητο.

Αρχικά γινόταν εκτίμηση της βασικής αρτηριακής διαμέτρου και της ταχύτητας ροής. Οι εικόνες λαμβάνονταν με συνοδό ηλεκτροκαρδιογραφική καταγραφή, με τις μετρήσεις να γίνονται στο τέλος της διαστολής, που αντιστοιχεί στην έναρξη του κύματος R. Επειδή η άριστη ποιότητα των εικόνων είναι βασική για να εκτιμηθεί το FMD, απεικονίζονταν όσο το δυνατόν πιο ευθύγραμμο τμήμα της βραχιόνιας αρτηρίας, λίγα εκατοστά πιο πάνω από την κύρτωσή της στον αγκώνα. Η απεικόνιση γινόταν αποδεκτή όταν διακρίνονταν τα όρια έσω-μέσου χιτώνα και στα δυο τοιχώματα του αγγείου ή, σε περίπτωση που αυτό δεν ήταν εφικτό, όταν λαμβανόταν μια διατομή του αγγείου με τη μέγιστη διάμετρο.

Η απεικόνιση της ροής της βραχιόνιας αρτηρίας γινόταν με χρήση Doppler, με το δείκτη Doppler να είναι τοποθετημένο στο κέντρο της απεικονιζόμενης αρτηρίας, παράλληλα με τα τοιχώματα αυτής. Οι λήψεις αποθηκεύονταν σε S-VHS βιντεοκασέτα (VCR Panasonic AG-MD 835, Osaka, Japan), για ανάλυση σε δεύτερο χρόνο. Στη συνέχεια, προκειμένου να επιτευχθεί ενεργός υπεραιμία, ακολουθούσε πρόκληση προϊσχαιμικής αγγειοδιαστολής του άνω αγγειακού δικτύου του δεξιού άνω άκρου με τη βοήθεια περιχειρίδας ενηλίκου. Αυτή τοποθετούνταν στη μεσότητα του δεξιού αντιβραχίου και συσφίγγονταν για 5 λεπτά σε σταθερή πίεση 300 mmHg, με το δεξιό άνω άκρο να παραμένει ακίνητο.



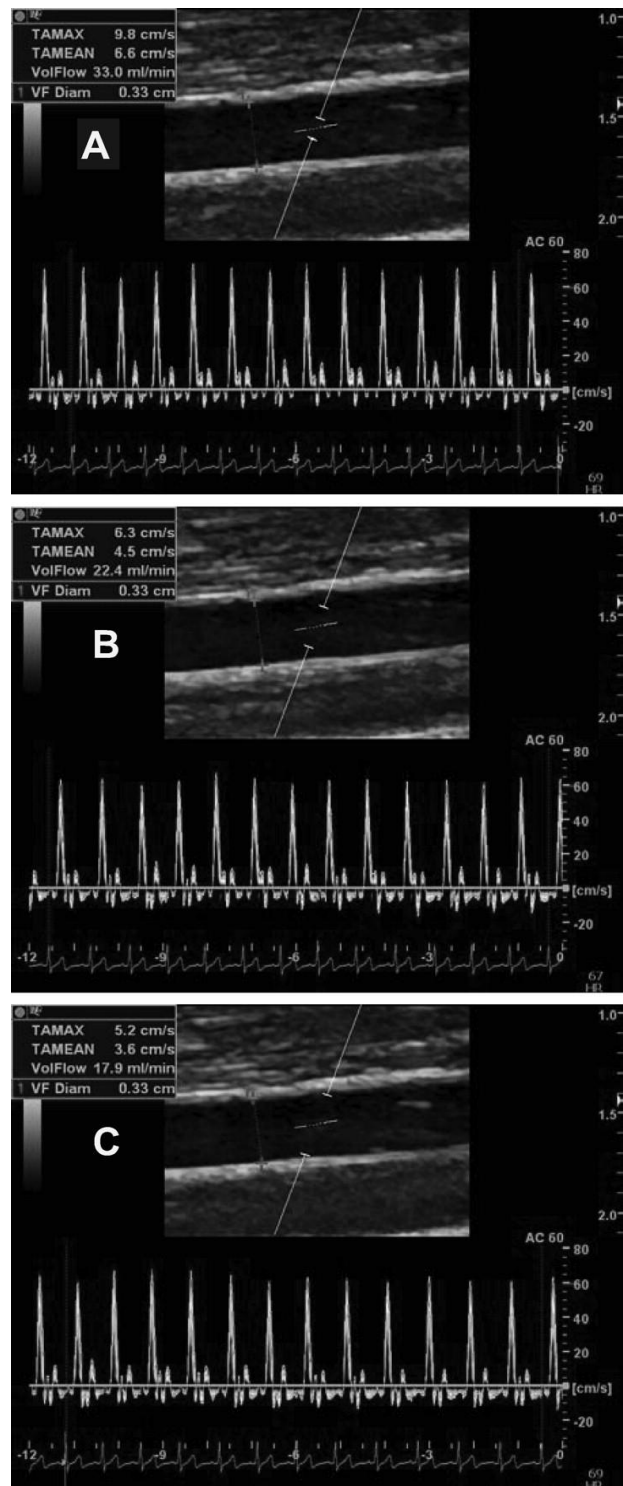
**Εικόνα 6.2** . Flow-mediated dilation, FMD.

Μόλις η περιχειρίδα ξεφούσκωνε, η ροή στη βραχιόνια αρτηρία αύξανε προκαλώντας αύξηση της διατημητικής τάσης, με αποτέλεσμα την αγγειοδιαστολή (αγγειοδιαστολή δια της ροής, flow-mediated dilation, FMD). Η καταγραφή της μέγιστης ροής της υπεραιμικής αντίδρασης γινόταν στα πρώτα 10-15 δευτερόλεπτα από την απελευθέρωση του άκρου, ενώ η λήψη νέων εικόνων της βραχιόνιας αρτηρίας, στην ίδια περιοχή με την αρχική μέτρηση, για τον καθορισμό της μέγιστης διαμέτρου γινόταν στα 90 περίπου δευτερόλεπτα από την άρση της υπεραιμίας.

Ακολουθούσε ένα διάστημα ηρεμίας διάρκειας 10-15 λεπτών, προκειμένου να ανακτήσει το αγγείο την αρχική του λειτουργικότητα. Στο τέλος αυτού του χρόνου λαμβάνονταν εκ νέου μετρήσεις διαμέτρου και ροής της βραχιόνιας αρτηρίας, προκειμένου να επιβεβαιωθεί ότι όλες οι μελετώμενες παράμετροι επέστρεψαν σε τιμές ηρεμίας (Εικόνα 6.2). Ακολούθως χορηγούνταν υπογλώσσια 400  $\mu\text{g}$  νιτρογλυκερίνης και 4 λεπτά μετά τη χορήγηση νιτροδών λαμβάνονταν νέες μετρήσεις ροής και διαμέτρου για τον καθορισμό της μη-ενδοθηλιο-εξαρτώμενης, νιτροδο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής (nitrate-mediated vasodilatation, NMD), (Εικόνες 6.2 και 6.3).

Οι μετρήσεις στη βραχιόνια αρτηρία γίνονταν σε δεύτερο χρόνο. Για κάθε στάδιο της εξέτασης υπολογιζόταν η μέση τιμή τριών με πέντε μετρήσεων. Η ανάλυση γίνονταν με τη χρήση του προγράμματος QLAB (Philips Ultrasound, Bothell, WA, USA) με χειροκίνητο καθορισμό των ορίων του άπω και εγγύς τοιχώματος της βραχιόνιας αρτηρίας για μήκος 1-2 εκατοστών (διάμετρος αγγείου) και αυτόματο καθορισμό των ορίων έσω-μέσου χιτώνα των κοινών καρωτίδων. Οι μετρήσεις γίνονταν πάντα στην τελοδιαστολή, χρονικό σημείο που συμπίπτει με την κορυφή του κύματος R του ηλεκτροκαρδιογραφήματος επιφανείας.

Η ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή εκφράζεται ως ο λόγος της μέγιστης επί τοις εκατό μεταβολής της αρτηριακής διαμέτρου μετά την ενεργό υπεραιμία, προς την αρχική διάμετρο, δηλαδή



Εικόνα 6.3. Εκτίμηση του FMD & NMD.

**FMD = (διάμετρος μετά την ενεργό υπεραιμία-βασική διάμετρος) x100 / βασική διάμετρος.**

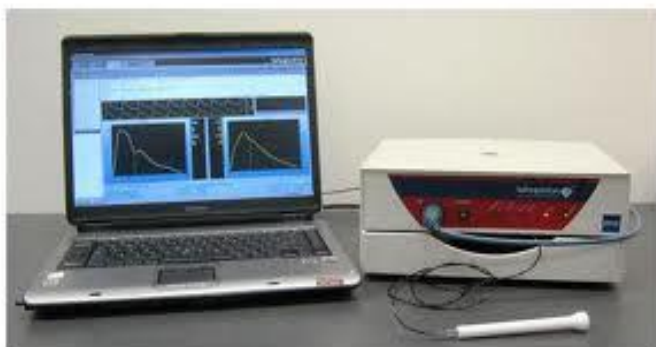
Αντίστοιχα, η νιτροωδο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή (NMD) καθορίστηκε ως η επί τοις εκατό μεταβολή της διαμέτρου της βραχιόνιας αρτηρίας μετά τη χορήγηση νιτροδών σε σχέση με τις μετρήσεις ηρεμίας, δηλαδή

**NMD = (διάμετρος μετά τη χορήγηση νιτροδών - βασική διάμετρος) x100 / βασική διάμετρος.**

Ο καθορισμός των ροών της βραχιόνιας αρτηρίας στα διάφορα στάδια της μελέτης γινόταν με τη χρήση αλγορίθμων ακριβείας, σύμφωνα με τον τύπο: Ροή (ml/min) =  $\pi \cdot (\text{Διάμετρος}/2)^2 \cdot \text{Ολοκλήρωμα ταχύτητας- χρόνου} \cdot \text{Καρδιακή συχνότητα}$ . Η αύξηση της αιματικής ροής στη φάση της υπεραιμίας θα έπρεπε να είναι ίδια στις διάφορες ομάδες της μελέτης (αγγειοδιαστολή επί ίδιου ερεθίσματος).

#### 6.6.2 Εκτίμηση της αρτηριακής σκληρότητας

Η εκτίμηση της αρτηριακής σκληρότητας γινόταν μη επεμβατικά, με τη χρήση τονομετρίας επιπέδωσης περιφερικών αρτηριών μέσω του συστήματος Sphygmocor (Version 7.01, At Cor Medical, Sydney, Australia), (Εικόνα 6.4), για τον υπολογισμό της ταχύτητας σφυγμικού κύματος (pulse wave velocity, PWV) μεταξύ της καρωτίδας και μηριαίας αρτηρίας. Η εξέταση αυτή των αγγείων διεξήχθη επίσης στο Μιχαηλίδειο Καρδιολογικό Κέντρο της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων από άλλον χειριστή, ο οποίος επίσης δεν γνώριζε την ομάδα του κάθε ασθενούς και το στάδιο της μελέτης. Οι ασθενείς υποβάλλονταν στην εξέταση αυτή μόνο μία φορά, κατά την αρχική εκτίμηση.



**Εικόνα 6.4.** Σύστημα Sphygmocor.

Η καταγραφή των κυματομορφών πίεσης γινόταν από την καρωτίδα και μηριαία αρτηρία. Η απόσταση που

διένυε το σφυγμικό κύμα μετρούνταν πάνω στην επιφάνεια του σώματος ως η απόσταση μεταξύ των δύο μετρούμενων σημείων (μεταξύ καρωτίδας και μηριαίας), αφαιρούμενης της

απόστασης μεταξύ στερνικής εντομής και καρωτίδας. Ο χρόνος διέλευσης μεταξύ των δύο προαναφερόμενων θέσεων υπολογιζόταν απευθείας από το software του συστήματος, χρησιμοποιώντας ως σημείο αναφοράς το κύμα R της ταυτόχρονης συνεχούς ηλεκτροκαρδιογραφικής καταγραφής. Η ταχύτητα σφυγμικού κύματος (PWV) υπολογιζόταν ως ο λόγος της απόστασης προς το χρόνο διέλευσης του σφυγμικού κύματος, (Εικόνα 6.5).



**Εικόνα 6.5.** Μέθοδος μέτρησης της ταχύτητας σφυγμικού κύματος, PWV.

### 6.6.3 Υπερηχοκαρδιογραφική μελέτη

Ο υπερηχοκαρδιογραφικός έλεγχος έγινε με τη χρήση μίας μονάδας υπερήχων-Doppler (Ultrasound ATL, HDI 5000, Bophell, WA, USA) και ενός αισθητήρα 2-3.5 MHz. Η συμβατική 2-διαστάσεων (2D), 2D-καθοδηγούμενη M-mode, έγχρωμη Doppler απεικόνιση της αιματικής ροής και TDI υπερηχοκαρδιογραφία διενεργήθηκαν στους ασθενείς κατά την αρχική εκτίμηση και μετά από 6 μήνες, από έναν ειδικευμένο χειριστή που δεν γνώριζε τη θεραπεία των ασθενών. Η κάθε εξέταση καταγραφόταν σε βιντεοκασέτα super-VHS (VCR Panasonic AG-MD 835, Osaka, Japan), για ανάλυση σε δεύτερο χρόνο. Οι εκτιμώμενες υπερηχοκαρδιογραφικές παράμετροι ορίζονταν ομόφωνα από δύο ειδικούς ερευνητές, χωρίς αυτοί να γνωρίζουν το στάδιο της μελέτης και τη θεραπεία του κάθε ασθενούς. Όλες οι καταγραφές και οι μετρήσεις έγιναν σύμφωνα με τις τρέχουσες οδηγίες της υπερηχοκαρδιογραφικής μελέτης (Khoury *et al.*,2004, Lang *et al.*,2005).

#### 6.6.3.1 Συμβατικές 2D, M-mode και Doppler μετρήσεις

Οι συμβατικές 2D και M-mode μετρήσεις λαμβάνονταν από τον παραστερνικό επιμήκη και βραχύ άξονα και τις προβολές 4 κοιλοτήτων και περιελάμβαναν τη διάμετρο του αριστερού κόλπου, το πάχος του μεσοκοιλιακού και μεσοκοιλιακού διαφράγματος στο τέλος της

διαστολής (IVSd και PWd αντίστοιχα), την τελοδιαστολική και τελοσυστολική διάμετρο της αριστερής κοιλίας (LVDd και LVDs), καθώς και το κλάσμα βράχυνσης. Το κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας υπολογιζόταν από την τροποποιημένη μέθοδο του Simpson και η μάζα της αριστερής κοιλίας από τον τύπο:

$$LV \text{ mass} = 0.8 * (1.04 * [(IVSd + PWd + LVDd)^3 - LVDd^3]) + 0.6$$

Ακολουθούσε αναγωγή της μάζας της αριστερής κοιλίας ως προς την επιφάνεια σώματος, οπότε προέκυπτε ο δείκτης της μάζας της αριστερής κοιλίας (LV mass index). Η υπερτροφία της αριστερής κοιλίας (LVH) οριζόταν ως δείκτης μάζας της αριστερής κοιλίας >115 και 95 g/m<sup>2</sup> για τους άνδρες και τις γυναίκες, αντίστοιχα.

Υπέρηχος Doppler εφαρμοζόταν για την καταγραφή των ταχυτήτων της αιματικής ροής στην περιοχή εισροής της μιτροειδούς. Χρησιμοποιώντας κατά μέσο όρο 5 λήψεις για την ανάλυση με ρυθμό σάρωσης 100 mm/sec, καταγράφονταν η μέγιστη πρώιμη διαστολική ταχύτητα και η ταχύτητα πλήρωσης του αριστερού κόλπου (E και A, αντίστοιχα) και υπολογιζόταν η αναλογία E προς A (E/A). Ο χρόνος επιβράδυνσης του κύματος E μετρούτανε επίσης. Η συνολική λειτουργία της αριστερής κοιλίας εκτιμούταν από τον υπολογισμό του δείκτη Tei (Tei index), σύμφωνα με δημοσιευμένες οδηγίες (Møller *et al.*, 2003).

#### **6.6.3.2 Απεικόνιση ιστικού Doppler (Tissue Doppler Imaging - TDI)**

Οι ταχύτητες ροής δια μέσου του μιτροειδικού δακτυλίου καταγράφηκαν από TDI παλμικού κύματος διαμέσου των διαφραγματικών και πλευρικών τοιχωμάτων, σε προβολή 4 κοιλοτήτων. Καταγράφονταν οι λήψεις τριών τελοεκπνευστικών κύκλων και υπολογίζονταν οι μέσες τιμές για τις συστολικές και διαστολικές ταχύτητες, με ρυθμό σάρωσης 50 mm/sec. Οι συστολικές (S') και διαστολικές (πρώιμες, E, όψιμες, A') ταχύτητες του ιστικού Doppler λαμβάνονταν στη διαφραγματική και πλευρική γωνία του μιτροειδικού δακτυλίου. Από αυτές υπολογίζονταν η μέση πρώιμη διαστολική ταχύτητα του μιτροειδικού δακτυλίου και η αναλογία E/E'. Επίσης, με τη χρήση του ιστικού Doppler καταγράφονταν και οι ταχύτητες ροής δια μέσου της τριγλώχινας βαλβίδας (τριγλωχινικά S', E' και A')

Με βάση αυτές τις απλές ηχοκαρδιογραφικές μετρήσεις ορίζεται η διαστολική δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας (left ventricular diastolic dysfunction, LVDD).

Ενδείξεις αυτής υπάρχουν, όταν ένα από τα παρακάτω κριτήρια είναι παρόντα:

- (1) E/A <0.75 ή >2,
- (2) διαφραγματικό και πλευρικό E' <8 cm/sec
- (3) διαφραγματικός ή πλευρικός λόγος E'/A' <1.

#### **6.6.4 Μελέτη επαναληψιμότητας για την υπερηχογραφική μελέτη των αγγείων και την ηχοκαρδιογραφική μελέτη.**

Προκειμένου να προσδιοριστεί η μεταβλητότητα/επαναληψιμότητα των μετρήσεων της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής της βραχιόνιας αρτηρίας μέσω υπερήχου διενεργήθηκε μελέτη επαναληψιμότητας σε δυο διαφορετικές χρονικές στιγμές από τον ίδιο χειριστή. Η μελέτη έγινε με τη συμμετοχή 8 εθελοντών, οι οποίοι υποβλήθηκαν στην παραπάνω εξέταση σε δυο διαφορετικές ημέρες, σε διάστημα 7-10 ημερών μεταξύ των μετρήσεων. Η ενδο- και μεταξύ παρατηρητών μεταβλητότητα για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις της διαμέτρου της βραχιόνιας αρτηρίας ήταν  $0.10 \pm 0.11$  και  $0.09 \pm 0.17$  mm, αντίστοιχα. Ο συντελεστής μεταβλητότητας (coefficient of variation) μεταξύ δυο διαφορετικών καταγραφών από τον ίδιο χειριστή υπολογίζονταν ως το πηλίκο της τυπικής απόκλισης προς τη μέση τιμή των μετρήσεων και ήταν για την ενδοθηλιο- εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή και τη μη ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή 4.9% and 3.2%, αντίστοιχα.

Για την ταχύτητα σφυγμικού κύματος (PWV) η μελέτη επαναληψιμότητας διενεργήθηκε από τον ίδιο χειριστή σε 12 εθελοντές και σε δύο διαφορετικές ημέρες, με χρονική απόσταση 8-12 ημερών. Ο συντελεστής μεταβλητότητας μεταξύ δυο διαφορετικών καταγραφών για το ίδιο άτομο ανήλθε στο PWV στο 5.6%.

Η μελέτη επαναληψιμότητας για τον υπερηχοκαρδιογραφικό έλεγχο περιέλαβε την εξέταση 15 ασθενών (εκ των οποίων οι 10 ήταν γυναίκες) από τον ίδιο χειριστή σε δύο διαφορετικές ημέρες, με χρονική απόσταση 7-10 ημερών. Το κύριο καταληκτικό στοιχείο της μελέτης ήταν η επενεκτίμηση του δείκτη E' και ο συντελεστής μεταβλητότητας υπολογίστηκε στο 6.1%.

### **6.7 Στατιστική ανάλυση**

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έγινε με το στατιστικό πακέτο SPSS (version 15.0 for Windows, SPSS Inc. Chicago, IL, USA). Τα δεδομένα περιγράφηκαν ως μέσες και τυπικές αποκλίσεις (standard deviations, SD) για τις συνεχείς μεταβλητές και ως συχνότητες και ποσοστά για τις κατηγορικές μεταβλητές. Όλες οι συνεχείς μεταβλητές στους διάφορους μελετώμενους πληθυσμούς ελέγχθηκαν ως προς την κανονική κατανομή με τη χρήση της στατιστικής δοκιμασίας Z Kolmogorov-Smirnov. Οι μεταβλητές με μη κανονική κατανομή υπέστησαν λογαριθμική μεταβολή και στη μελέτη συσχετίσεων και παλινδρόμησης χρησιμοποιήθηκαν οι φυσικοί τους λογάριθμοι. Για τη σύγκριση των κατηγορικών και



συνεχών μεταβλητών μεταξύ των υποομάδων κάθε μελέτης κατά την αρχική εκτίμηση χρησιμοποιήθηκαν οι στατιστικές δοκιμασίες  $\chi^2$ -test και το ασύζευκτο  $t$ -test των φοιτητών (unpaired Student  $t$ -test). Για την αξιολόγηση των αλλαγών μεταξύ συνεχών και κατηγορικών μεταβλητών εντός της ίδιας ομάδας χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία του συζευγμένου  $t$ -test των φοιτητών (paired Student  $t$ -test).

Η ανάλυση των δεδομένων βασίστηκε στην πρόθεση για θεραπεία. Για την εκτίμηση των αλλαγών (στον επανέλεγχο σε σχέση με τον αρχικό έλεγχο) στις φυσικές, εργαστηριακές, αγγειακές και υπερηχοκαρδιογραφικές παραμέτρους μεταξύ των υποομάδων κάθε μελέτης διενεργήθηκε ανάλυση μεταβλητότητας των επαναλαμβανόμενων μετρήσεων (Repeated Measures Analysis of Variance, RM ANOVA), προσαρμοζόμενη για συγχυτικούς παράγοντες (δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά αρχικής εκτίμησης με στατιστική διαφορά του  $P < 0.2$  μεταξύ των ομάδων).

Οι αναλύσεις απλής γραμμικής παλινδρόμησης και μερικής συσχέτισης χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της σχέσης μεταξύ των αλλαγών του FMD και των κλινικών χαρακτηριστικών, εργαστηριακών μετρήσεων και είδους θεραπείας. Στη συνέχεια, οι μεταβλητές των οποίων η συσχέτιση με το FMD έφτασε κοντά σε στατιστική σημαντικότητα ( $P < 0.1$ ) εισήλθαν σε ένα μοντέλο πολυμεταβλητής κλασματικής παλινδρόμησης (multivariate stepwise regression model), προκειμένου να εκτιμηθεί η βαρύτητα της επίδρασης της κάθε μίας από αυτές στις παρατηρούμενες αλλαγές στο FMD κατά τον επανέλεγχο. Η τιμή του  $P < 0.05$  θεωρήθηκε σημαντική.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7<sup>0</sup>

### ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΓΛΙΤΑΖΟΝΩΝ ΣΤΗΝ ΕΝΔΟΘΗΛΙΑΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ. ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

#### **7.1 Μελέτη Α: Πιογλιταζόνη έναντι γλιμεπιρίδης: διαφορικές επιδράσεις στην αγγειακή ενδοθηλιακή λειτουργία ασθενών με ΣΔ2.**

Ο σκοπός αυτής της μελέτης ήταν η σύγκριση της επίδρασης της πιογλιταζόνης έναντι της γλιμεπιρίδης στην ενδοθηλιακή λειτουργία ΣΔ2 ασθενών, οι οποίοι ήταν ήδη σε αγωγή με μετφορμίνη. Συγκρίναμε δηλαδή δύο παράγοντες με διαφορετικές φυσιολογικές και μεταβολικές ιδιότητες, έναν ευαισθητοποιητή της ινσουλίνης (πιογλιταζόνη), που έχει επιπλέον ευνοϊκές δράσεις στα συστατικά του μεταβολικού συνδρόμου και την καρδιαγγειακή πρόγνωση και ένα εκκριταγωγό της ινσουλίνης (γλιμεπιρίδη), που θεωρείται ότι έχει μάλλον ουδέτερη επίδραση στην καρδιαγγειακή έκβαση. Το κύριο καταληκτικό σημείο της μελέτης ήταν η βελτίωση στο FMD μετά από 6 μήνες θεραπείας με κάθε έναν από τους δύο αυτούς παράγοντες.

#### **7.1.1 Μέθοδος**

##### **7.1.1.1 Πληθυσμός μελέτης**

70 ΣΔ2 ασθενείς που ήταν σε μονοθεραπεία με μετφορμίνη για τουλάχιστο 6 μήνες και δεν επιτύγχαναν το γλυκαιμικό στόχο ελέγχθηκαν με κλινική εξέταση, ηλεκτροκαρδιογράφημα και HbA1c. Από αυτούς, οι 28 πληρούσαν τα κριτήρια εισόδου στη μελέτη.

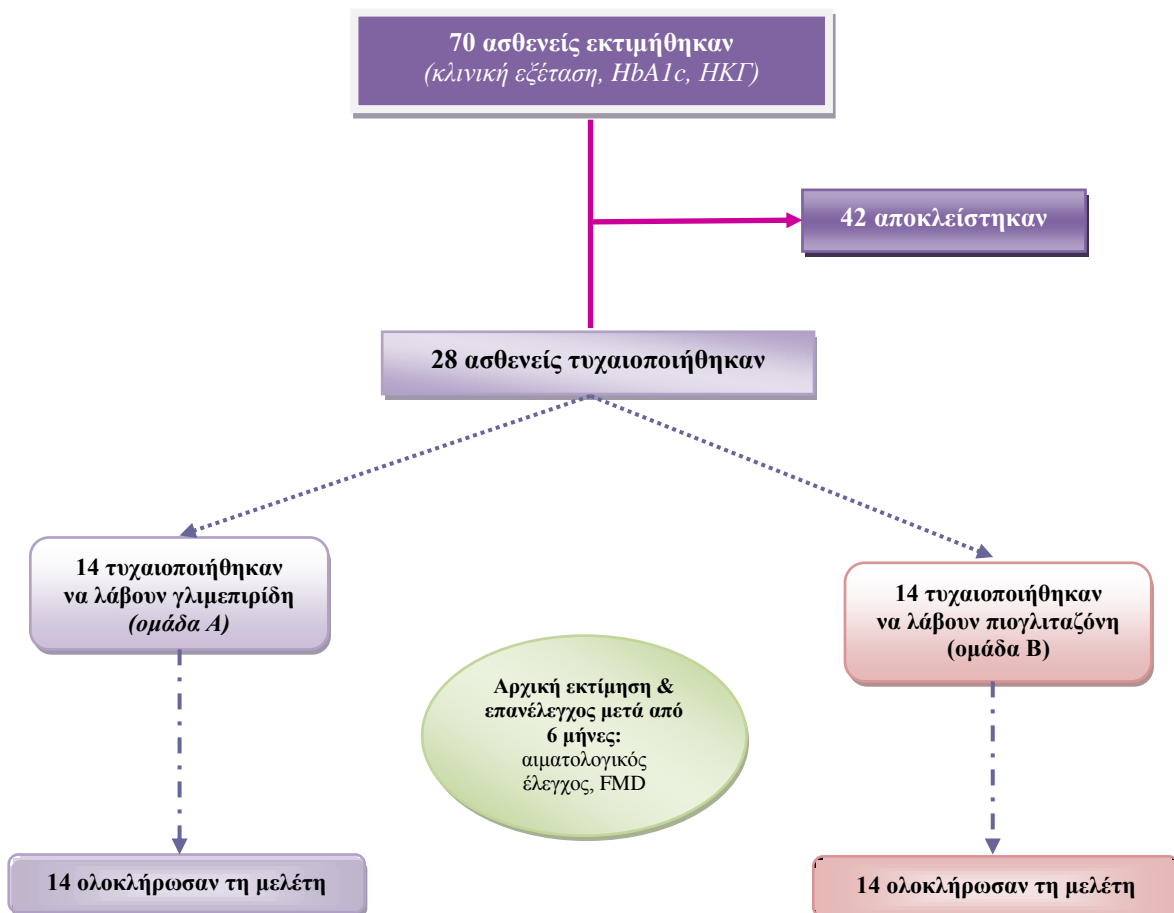
##### **7.1.1.1.2 Σχεδιασμός μελέτης**

Πρόκειται για μία ανοιχτή, τυχαιοποιημένη μελέτη εκτίμησης της ενδοθηλιακής λειτουργίας ΣΔ2 ασθενών που ελάμβαναν μετφορμίνη, όταν πιογλιταζόνη ή γλιμεπιρίδη προστέθηκε στη θεραπεία τους για 6 μήνες. Οι ασθενείς που επιλέχθηκαν για τη μελέτη και έδωσαν γραπτή συγκατάθεση τυχαιοποιήθηκαν να λάβουν επιπλέον γλιμεπιρίδη (ομάδα Α, 4 mg od), (N=14) ή πιογλιταζόνη (30 mg od), (ομάδα β, N=14). Η τυχαιοποίηση έγινε με βάση

τη σειρά προσέλευσής τους στα τακτικά εξωτερικά Ενδοκρινολογικά ιατρεία (κατανομή 1:1). Αυτό το μέγεθος δείγματος είχε ισχύ περίπου 85% για την ανίχνευση διαφορών στο FMD από την πιογλιταζόνη έναντι της γλιμεπιρίδης, της τάξης του 70%.

### 7.1.1.1.3. Μεθοδολογία

Ακολουθούσε η καταγραφή του ατομικού και οικογενειακού ιστορικού, όπως περιγράφηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο, η λήψη σωματομετρικών, η κλινική εξέταση, η λήψη δείγματος αίματος και η εκτίμηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας, διαδικασίες που επαναλαμβάνονταν και 6 μήνες μετά την προσθήκη του κάθε φαρμάκου. Η κλινική εξέταση και ο έλεγχος των ηπατικών ενζύμων επαναλαμβάνονταν επιπλέον στον πρώτο και τρίτο μήνα σε όλους τους ασθενείς. Κάθε άλλη αγωγή (αντιυπερτασική, υπολιπιδαιμική, αντιαιμοπεταλιακή) παρέμενε σταθερή στη διάρκεια του εξαμηνιαίου επανελέγχου. Επιπλέον, ζητούνταν από τους ασθενείς να διατηρήσουν το ίδιο είδος διατροφής και επίπεδο άσκησης κατά τη διάρκεια της μελέτης. Ο σχεδιασμός της μελέτης απεικονίζεται στο διάγραμμα ροής της Εικόνας 7.1.



Εικόνα 7.1. Διάγραμμα ροής της μελέτης Α.

### 7.1.1.3 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων έγινε με τις στατιστικές μεθόδους και διαδικασίες που περιγράφηκαν προηγουμένως.

### 7.1.2 Αποτελέσματα

Όλοι οι ασθενείς και των δύο ομάδων ολοκλήρωσαν τη μελέτη και έλαβαν την αντίστοιχη για κάθε ομάδα αγωγή, όπως πιστοποιήθηκε από τον έλεγχο του αριθμού των ταμπλετών που καταναλώθηκαν κατά τη διάρκεια της κλινικής επανεκτίμησης των ασθενών. Και τα δύο φάρμακα ήταν καλά ανεκτά από τους ασθενείς, χωρίς να αναφερθούν σοβαρές παρενέργειες. Ήπιο προκνημιαίο οίδημα σημειώθηκε σε ένα από τους ασθενείς που έλαβαν πιογλιταζόνη, το οποίο όμως δεν επέβαλε διακοπή της αγωγής. Επιπλέον, η χρήση της πιογλιταζόνης δεν συνοδεύτηκε από αύξηση των ηπατικών ενζύμων.

Τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των 28 ασθενών της μελέτης απεικονίζονται στον πίνακα 7.1.

Μεταβλητή	Ομάδα Α Γλιμεπιρίδη n=14	Ομάδα Β Πιογλιταζόνη n= 14	Τιμή P
Ηλικία, έτη	63.6 ± 7.3	62.8 ± 7.2	0.756
Θήλο φύλο, n (%)	11 (78.6)	11 (78.6)	1.000
Υπερτασικοί, n (%)	14 (100.0)	12 (85.7)	0.142
Δυσλιπιδαιμικοί, n (%)	11 (78.6)	10 (71.4)	0.663
Καπνιστές, n (%)	3 (21.4)	3 (21.4)	1.000
Διάρκεια διαβήτη, έτη	5.3 ± 6.5	5.3 ± 3.6	0.986
Αντιυπερτασικά, n (%)	13 (92.9)	9 (64.3)	0.065
Διουρητικά, n (%)	2 (14.3)	2(14.3)	1.000
ACE ή AT-II αναστολείς, n (%)	9 (64.3)	5 (35.7)	0.131
β- αποκλειστές, n (%)	3 (21.4)	0 (0.0)	0.067
Ανταγωνιστές ασβεστίου, n (%)	6 (42.9)	5 (35.7)	0.699
Στατίνες, n (%)	6 (42.9)	3(21.4)	0.225
Αντιαιμοπεταλιακά, n (%)	3 (21.4)	2 (14.3)	0.622

**Πίνακας 7.1.** Αρχικά δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των δύο ομάδων.

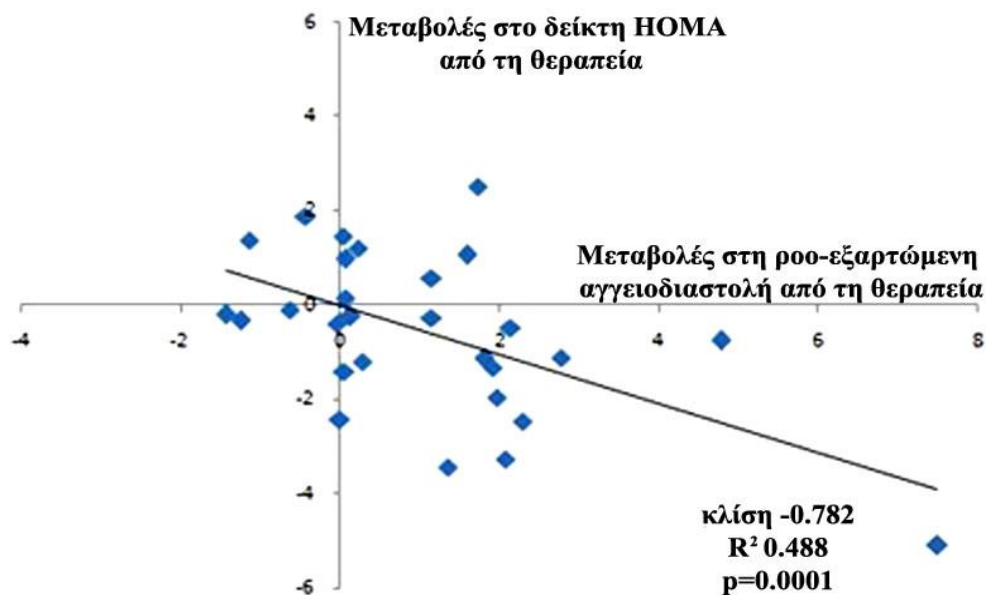
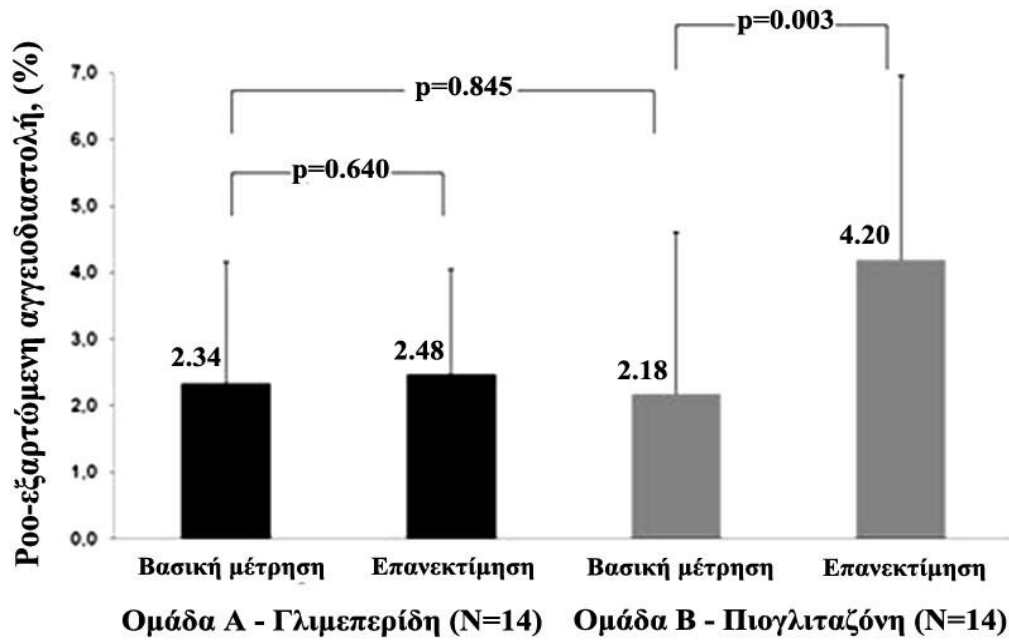
Οι δύο ομάδες αποτελούνταν κυρίως από γυναίκες (78.6%), ενώ δεν διέφεραν στην ηλικία, την επίπτωση των παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου, τη διάρκεια του ΣΔ2 και τη χρήση αντιυπερτασικής, υπολιπιδαιμικής και αντιαιμοπεταλιακής αγωγής. Όλες οι γυναίκες που συμμετείχαν στη μελέτη ήταν μετεμμηνοπαυσιακές, ενώ καμία δεν ελάμβανε θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης.

Στον πίνακα 7.2 απεικονίζονται οι φυσικές, εργαστηριακές και αγγειακές παράμετροι και των δύο ομάδων, κατά την αρχική εκτίμηση και τον επανέλεγχο. Αρχικά, οι δύο ομάδες δεν διέφεραν σε καμία από τις μετρούμενες παραμέτρους (Δ.Μ.Σ, περίμετρο μέσης, λιπίδια, αρτηριακή πίεση, σφύξεις), ενώ είχαν παρόμοιο γλυκαιμικό έλεγχο και δείκτες ευαισθησίας στην ινσουλίνη. Ωστόσο, παρά την τυχαιοποίηση, ο δείκτης αντίστασης στην ινσουλίνη HOMA και η LDL χοληστερόλη ήταν ελαφρώς αυξημένες στην ομάδα της πιογλιταζόνης κατά τον αρχικό έλεγχο, χωρίς όμως να φτάσουν σε στατιστική σημαντικότητα ( $p=0.065$  και  $0.059$ , αντίστοιχα). Το FMD επίσης δεν διέφερε αρχικά μεταξύ των δύο ομάδων:  $2.34\pm 1.83\%$  έναντι  $2.18\pm 2.43\%$  για την ομάδα της γλιμεπιρίδης και της πιογλιταζόνης, αντίστοιχα,  $p=0.845$ .

Μετά το πέρας των 6 μηνών παρατηρήθηκαν οι εξής αλλαγές: στην ομάδα A η προσθήκη γλιμεπιρίδης επέφερε αύξηση στην περίμετρο μέσης, την ινσουλίνη νηστείας και το δείκτη αντίστασης στην ινσουλίνη HOMA, ενώ μείωσε την HbA1c και το δείκτη GIR. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκαν αλλαγές στο FMD και το NMD από τη χρήση της γλιμεπιρίδης. Στην ομάδα B, η θεραπεία με πιογλιταζόνη για 6 μήνες συνοδεύτηκε από σημαντικές αλλαγές στις εξής παραμέτρους: η περίμετρος μέσης, η HbA1c, η ινσουλίνη νηστείας και ο δείκτης HOMA μειώθηκαν, ενώ η HDL χοληστερόλη αυξήθηκε. Επιπλέον, σημειώθηκε σημαντική αύξηση στο FMD (από  $2.18\pm 2.43$  σε  $4.20\pm 2.76\%$ ,  $p=0.003$ ), ενώ το NMD δεν μεταβλήθηκε (Πίνακας 7.2, εικόνα 7.2 – ανώτερη εικόνα).

Μεταβλητή	Ομάδα Α Γλιμεπιρίδη n=14			Ομάδα Β Πιογλιταζόνη n=14		
	Αρχικό σημείο μελέτης	Επανάλεγχος	Τιμή P	Αρχικό σημείο μελέτης	Επανάλεγχος	Τιμή P
Βάρος σώματος, kg	81.4±15.3	82.0±15.4	0.612	85.9±18.7	86.4±19.2	0.328
Δείκτης μάζας σώματος, kg/m <sup>2</sup>	31.9±5.5	32.0±5.1	0.711	33.9±7.0	34.1±7.3	0.308
Περίμετρος μέσης, cm	110.1±11.4	111.9±10.8	<b>0.044</b>	111.2±13.3	109.4±13.8	<b>0.003</b>
Γλυκόζη νηστείας, mmol/L	8.2±1.4	7.7±1.0	0.198	8.7±2.5	7.7±1.2	0.090
HbA1c, %	7.4±0.8	6.9±0.5	<b>0.006</b>	7.7±0.7	7.1±0.8	<b>0.028</b>
Ινσουλίνη νηστείας, pmol/L	63.1±20.0	77.9±21.0	<b>0.001</b>	80.4±33.0	54.5±20.4	<b>0.004</b>
GIR, mmol/pmol/10 <sup>-2</sup>	12.5±5.2	9.5±3.9	<b>0.001</b>	11.5±7.6	14.0±7.5	0.271
HOMA	3.8±1.4	4.5±1.4	<b>0.030</b>	4.9±1.5	3.1±1.2	<b>0.0003</b>
Ολική χοληστερόλη, mmol/L	5.4±1.0	5.6±1.2	0.246	5.8±1.0	5.9±1.0	0.805
HDL χοληστερόλη, mmol/L	1.5±0.3	1.4±0.3	0.237	1.3±0.3	1.5±0.3	<b>0.019</b>
Τριγλυκερίδια, mmol/L	2.0±1.4	2.3±1.3	0.095	1.7±0.5	1.7±0.5	0.929
LDL χοληστερόλη, mmol/L	3.0±1.0	3.2±1.2	0.258	3.7±0.9	3.6±1.0	0.683
Συστολική ΑΠ, mmHg	152.4±16.6	142.6±18.4	0.081	149.5±14.3	140.7±15.0	0.125
Διαστολική ΑΠ, mmHg	77.3±10.6	77.3±10.0	0.947	82.5±6.9	79.6±5.0	0.187
Καρδιακή συχνότητα, σφύξεις/λεπτό	73.9±16.1	74.2±13.0	0.178	73.6±8.9	77.8±10.4	0.417
Αρχικό EDD, mm	0.456±0.084	0.439±0.048	0.304	0.424±0.056	0.414±0.052	0.217
Απόλυτο Δ στο EDD κατά την υπεραιμία, mm	0.010±0.007	0.010±0.006	0.774	0.008±0.009	0.017±0.010	<b>0.003</b>
FMD (% Δ στο EDD κατά την υπεραιμία)	2.34±1.83	2.48±1.57	0.640	2.18±2.43	4.20±2.76	<b>0.003</b>
Απόλυτο Δ στο EDD με GTN, mm	0.047±0.017	0.041±0.017	0.208	0.046±0.015	0.045±0.015	0.831
NMD (% Δ στο EDD με GTN)	10.83±4.34	9.67±4.67	0.281	10.83±4.07	11.06±4.39	0.646
% Δ στη ροή με υπεραιμία	377±232	355±185	0.797	361±207	326±178	0.580

**Πίνακας 7.2.** Φυσικές, εργαστηριακές και αγγειακές μετρήσεις στις δύο ομάδες στον αρχικό έλεγχο και τον επανάλεγχο.



**Εικόνα 7.2. Άνω εικόνα:** Το FMD στο αρχικό σημείο της μελέτης και μετά από 6 μήνες θεραπεία και για τις δύο ομάδες. Για τη σύγκριση εντός της ίδιας ομάδας (αρχική μέτρηση έναντι επανελέγχου) χρησιμοποιήθηκε το συζευγμένο t-test, ενώ για τη σύγκριση των αρχικών μετρήσεων μεταξύ των δύο ομάδων χρησιμοποιήθηκε το ασύζευκτο t-test. **Κάτω εικόνα:** Παλινδρόμηση μεταξύ των επαγόμενων από τη θεραπεία αλλαγών στα FMD και HOMA στο σύνολο των 28 ασθενών.



Στον πίνακα 7.3 απεικονίζονται οι απόλυτες αλλαγές στις φυσικές, εργαστηριακές και αγγειακές μετρήσεις που παρατηρήθηκαν στο τέλος των 6 μηνών σε σύγκριση με την αρχική εκτίμηση και για τις δύο ομάδες. Με τη χρήση της στατιστικής δοκιμασίας RM ANOVA και αφού έγινε προσαρμογή για συγχυτικούς παράγοντες (χρήση β-αναστολέων και αναστολέων του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης/αναστολέων αγγειοτενσίνης II), διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων στις αλλαγές που επήλθαν στην περίμετρο μέσης, την ινσουλίνη νηστείας, το δείκτη HOMA, την HDL χοληστερόλη και το FMD. Οι αλλαγές στο Δ.Μ.Σ (BMI), τη γλυκόζη νηστείας, τη HbA1c, το δείκτη GIR, την ολική και LDL χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια, την αρτηριακή πίεση και το NMD δεν διέφεραν μεταξύ των δύο ομάδων.

**Πίνακας 7.3.** Απόλυτες αλλαγές στις φυσικές, εργαστηριακές και αγγειακές μετρήσεις που οφείλονται στη θεραπεία, για τις δύο ομάδες.

Μεταβλητή	Ομάδα Α Γλιμεπιρίδη n=14	Ομάδα Β Πιογλιταζόνη n= 14	Τιμή P (RM ANOVA)
Δείκτης μάζας σώματος, kg/m <sup>2</sup>	0.15 ± 1.50	0.23 ± 0.82	0.985
Περίμετρος μέσης, cm	1.86 ± 3.11	-1.86 ± 1.88	<b>0.002</b>
Γλυκόζη νηστείας, mmol/L	-0.42 ± 1.16	-1.07 ± 2.18	0.449
HbA1c, %	-0.56 ± 0.57	-0.60 ± 0.85	0.398
Ινσουλίνη νηστείας, pmol/L	14.79 ± 12.56	-25.84 ± 28.09	<b>0.00029</b>
GIR, mmol/pmol/10 <sup>-2</sup>	-3.54 ± 3.19	2.98 ± 9.69	0.066
HOMA	0.66 ± 1.01	-1.83 ± 1.38	<b>0.00014</b>
Ολική χοληστερόλη, mmol/L	0.24 ± 0.73	0.06 ± 0.85	0.854
HDL χοληστερόλη, mmol/L	-0.07 ± 0.22	0.14 ± 0.20	<b>0.036</b>
Τριγλυκερίδια, mmol/L	0.25 ± 0.53	0.01 ± 0.33	0.208
LDL χοληστερόλη, mmol/L	0.19 ± 0.61	-0.09 ± 0.79	0.661
Συστολική ΑΠ, mmHg	-11.08 ± 19.98	-8.67 ± 18.96	0.725
Διαστολική ΑΠ, mmHg	0.22 ± 11.31	-2.52 ± 6.48	0.197
FMD	0.14 ± 1.09	2.02 ± 2.05	<b>0.029</b>
NMD	-0.90 ± 2.87	0.59 ± 4.29	0.586

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης συσχέτισης έδειξαν ότι οι αλλαγές στο FMD που παρατηρήθηκαν στο τέλος της μελέτης (μετά από 6 μήνες) στο σύνολο του πληθυσμού (N=28) σχετίζονταν αντιστρόφως ανάλογα με την ηλικία ( $r=-0.496$ ,  $p=0.007$ ), τις

παρατηρούμενες αλλαγές στα επίπεδα της ινσουλίνης νηστείας ( $r = -0.528$ ,  $p=0.023$ ) και το δείκτη HOMA ( $r= -0.560$ ,  $p=0.0002$ ) και τη χρήση AMEA ή αναστολέων αγγειοτενσίνης II ( $r= -0.464$ ,  $p=0.013$ ). Ανάλογη ήταν η συσχέτιση με την ομάδα της θεραπείας, για παράδειγμα θεραπεία με πιογλιταζόνη έναντι γλιμεπιρίδης ( $r=0.511$ ,  $p=0.0006$ ), με το BMI ( $r=0.490$ ,  $p=0.008$ ), την περίμετρο μέσης ( $r=0.317$ ,  $p=0.1$ ), την ινσουλίνη νηστείας ( $r=0.428$ ,  $p=0.023$ ), το δείκτη HOMA ( $r=0.532$ ,  $p=0.0004$ ), καθώς και με τις αλλαγές στο NMD στον επανέλεγχο ( $r=0.439$ ,  $p=0.028$ ).

Στη συνέχεια εφαρμόστηκε η ανάλυση πολυμεταβλητής κλασματικής παλινδρόμησης (multivariate stepwise regression model), προκειμένου να εκτιμηθεί η ανεξάρτητη επίδραση καθενός από τους προαναφερθέντες παράγοντες στις προκαλούμενες από τη θεραπεία αλλαγές στο FMD. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτής της μεθόδου, ο μόνος ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας της βελτίωσης του FMD ήταν οι προκαλούμενες από τη θεραπεία αλλαγές στο δείκτη αντίστασης στην ινσουλίνη HOMA ( $R^2$  0.488, slope:  $-0.782$  [95% CI:  $-1.128$ ,  $-0.436$ ],  $p=0.00010$ ), (Figure 7.2 - Κάτω εικόνα).

### 7.1.3 Συζήτηση

Η παρούσα μελέτη έδειξε ότι δύο διαφορετικές κατηγορίες αντιδιαβητικών παραγόντων έχουν διαφορετική επίδραση στην ενδοθηλιακή λειτουργία ασθενών με ΣΔ2. Η προσθήκη πιογλιταζόνης, ενός ευαισθητοποιητή της ινσουλίνης, για 6 μήνες βελτιώνει σημαντικά την ενδοθηλιακή λειτουργία σε σύγκριση με τη γλιμεπιρίδη (ινσουλινοεκκριταγωγό), παρά την ίδια βελτίωση που επιφέρουν οι δύο παράγοντες στο γλυκαιμικό έλεγχο. Επιπλέον, η βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας από την πιογλιταζόνη φαίνεται ότι εξαρτάται κυρίως από τη μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη.

Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, που εκφράζεται ως μειωμένο FMD, έχει συσχετιστεί με την παρουσία παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου και φαίνεται ότι αποτελεί αναστρέψιμη διαδικασία (Henderson 1997, Corretti *et al.*, 2002). Επιπλέον, το FMD αποτελεί προγνωστικό παράγοντα μελλοντικών καρδιαγγειακών συμβάντων τόσο σε ασθενείς υψηλού κινδύνου όσο και σε υγιή άτομα (Gokce *et al.*, 2003, Shimbo *et al.*, 2007). Η επαναφορά του FMD κοντά σε φυσιολογικά επίπεδα με διάφορες θεραπευτικές παρεμβάσεις μπορεί να βελτιώσει παράλληλα και την καρδιαγγειακή πρόγνωση, σύμφωνα με τα αποτελέσματα ορισμένων μελετών (Modena *et al.*, 2002).

Στην παρούσα μελέτη, η προσθήκη πιογλιταζόνης για 6 μήνες σε ΣΔ2 ασθενείς που ελάμβαναν ήδη μετφορμίνη σχεδόν διπλασίασε το FMD σε σχέση με την αρχική μέτρηση, ενώ η προσθήκη γλιμεπιρίδης δεν επέφερε σημαντικές αλλαγές στην ενδοθηλιακή λειτουργία. Ο γλυκαιμικός έλεγχος βελτιώθηκε όμοια και στις δύο ομάδες, όπως φάνηκε από τη μείωση της HbA1c. Ωστόσο, τα επίπεδα ινσουλίνης νηστείας και η αντίσταση στην ινσουλίνη, εκτιμώμενη με βάση το δείκτη HOMA, μειώθηκαν σημαντικά από την πιογλιταζόνη, ενώ αντίθετα η γλιμεπιρίδη οδήγησε σε αύξηση αυτών. Οι παρατηρήσεις αυτές υποδηλώνουν τον εντελώς διαφορετικό μηχανισμό δράσης των δύο φαρμακευτικών παραγόντων. Επιπλέον, σημειώθηκε σημαντική διαφορά και στην περίμετρο μέσης, η οποία αποτελεί δείκτη κεντρικής παχυσαρκίας και αντίστασης στην ινσουλίνη. Έτσι, η πιογλιταζόνη οδήγησε σε μείωση ενώ η γλιμεπιρίδη σε αύξηση αυτής. Τέλος, η πιογλιταζόνη προκάλεσε σημαντική αύξηση και στα επίπεδα της HDL χοληστερόλης, εύρημα που είναι σύμφωνο με άλλες δημοσιευμένες πληροφορίες (Fonseca 2007, Nissen *et al.*, 2008). Ο μόνος ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας της βελτίωσης του FMD στην παρούσα μελέτη ήταν η μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη. Πιο ειδικά, περίπου το 50% της διακύμανσης της αύξησης του FMD από τη θεραπεία με πιογλιταζόνη αποδόθηκε στη μείωση του δείκτη HOMA.

Η βελτίωση στην ενδοθηλιακή λειτουργία από την πιογλιταζόνη έχει προηγουμένως αναφερθεί σε διάφορες κατηγορίες ασθενών: σε ασθενείς με ΣΔ2, με νεοδιαγνωσθέντα ΣΔ2 και στεφανιαία νόσο, καθώς και σε μη διαβητικούς ασθενείς με παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου. Όμοια με τα ευρήματα της παρούσας έρευνας, οι προαναφερθείσες μελέτες έδειξαν ότι η βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας είναι ανεξάρτητη από την παράλληλη βελτίωση του γλυκαιμικού ελέγχου. Η ευνοϊκή αυτή επίδραση της πιογλιταζόνης στην ενδοθηλιακή λειτουργία θεωρήθηκε πολυπαραγοντική και αποδόθηκε στη συμβολή διαφόρων μηχανισμών. Πράγματι, η μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη έχει συσχετιστεί με ευνοϊκές επιδράσεις στο μεταβολισμό του λιπώδους ιστού και μείωση του οξειδωτικού στρες και της υποκλινικής φλεγμονής, που θα μπορούσαν επίσης να οδηγήσουν σε βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας από την πιογλιταζόνη (Fonseca 2007).

Η παρούσα μελέτη έδειξε ότι ο μόνος ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας της βελτίωσης του FMD είναι η μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη. Αν και ο κύριος μηχανισμός δράσης της πιογλιταζόνης γίνεται μέσω της μείωσης της αντίστασης στην ινσουλίνη, η επίπτωση αυτής της βελτίωσης στην ενδοθηλιακή λειτουργία δεν είναι σαφής, με τα αποτελέσματα των διαφόρων μελετών να είναι αντικρουόμενα. Σε συμφωνία με τα δικά μας ευρήματα, η βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας έχει συσχετιστεί με μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη σε μη διαβητικούς ασθενείς με υπέρταση και σε ΣΔ2 ασθενείς

(Suzuki *et al.*,2007) μετά τη χορήγηση πιογλιταζόνης για 6 μήνες (Horio *et al.*,2005), καθώς και σε ασθενείς με ΣΔ2 μετά από χορήγηση ροζιγλιταζόνης για 3-4 μήνες (Natali *et al.*,2004, Pistrosch *et al.*,2004).

Ανεξάρτητη από τη μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη ήταν η βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας ασθενών με νεοδιαγνωσθέντα ΣΔ2 και στεφανιαία νόσο που έλαβαν πιογλιταζόνη για 3 μήνες (Sourij *et al.*,2006), καθώς και ασθενών με ΣΔ2 που έλαβαν πιογλιταζόνη για 4 εβδομάδες (Martens *et al.*, 2005). Στις μελέτες αυτές, η βελτίωση της λειτουργικότητας του ενδοθηλίου αποδόθηκε σε πιθανή άμεση επίδραση της πιογλιταζόνης σε αυτό. Άλλοι ερευνητές έδειξαν συσχέτιση της βελτίωσης της ενδοθηλιακής λειτουργίας με τις παρατηρούμενες αλλαγές στο μεταβολισμό του λιπώδους ιστού (Wajsborg *et al.*, 2007), τη μείωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων και την αύξηση της αδιπνεκτίνης (Fernandez *et al.*,2008) από την πιογλιταζόνη και της hs-CRP ή της MMP-9 από τη πιογλιταζόνη (Pfützner *et al.*, 2005) και τη ροζιγλιταζόνη (Kelly *et al.*, 2007). Επιπλέον, η βραχύχρονη χορήγηση ροζιγλιταζόνης σε υγιή άτομα μείωσε την προκαλούμενη από ελεύθερα λιπαρά οξέα ενδοθηλιακή δυσλειτουργία πριν συμβεί οποιαδήποτε αλλαγή στην ευαισθησία στην ινσουλίνη (Mittermayer *et al.*, 2007).

Οι διαφορές στα αποτελέσματα μεταξύ των προαναφερθέντων μελετών πιθανώς να οφείλονται στους μελετώμενους πληθυσμούς, τη διάρκεια και την ένταση της θεραπείας καθώς και τις μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας και της αντίστασης στην ινσουλίνη.

Οι δύο παράγοντες που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη έχουν σημαντικές διαφορές στο μηχανισμό δράσης και τις μεταβολικές τους επιδράσεις (Charbonnel *et al.*, 2005). Η γλιμεπιρίδη είναι μία σουλφονουλουρία δεύτερης γενιάς που βελτιώνει το γλυκαιμικό έλεγχο μέσω της διέγερσης της έκκρισης ινσουλίνης. Οι αγγειακές δράσεις των σουλφονουλουριών δεν έχουν μελετηθεί εκτενώς, όμως οι λίγες μελέτες που υπάρχουν δείχνουν μάλλον ουδέτερη επίδραση των παραγόντων αυτών τόσο στην αγγειακή λειτουργία όσο και την καρδιαγγειακή έκβαση (Mazzone *et al.*, 2006, Pfützner *et al.*,2005). Τα αποτελέσματα μελετών που συνέκριναν την επίδραση της πιογλιταζόνης και γλιμεπιρίδης σε δείκτες αγγειακής λειτουργίας εκτός της ενδοθηλιακής λειτουργίας έδειξαν ότι η πιογλιταζόνη καθυστερεί την εξέλιξη του CIMT σε σχέση με τη γλιμεπιρίδη (Mazzone *et al.*,2006, Pfützner *et al.*,2005). Επιπλέον, σε μία πρόσφατη τυχαιοποιημένη μελέτη ασθενών με ΣΔ2 και στεφανιαία νόσο (Nissen *et al.*,2008) η προσθήκη πιογλιταζόνης για 18 μήνες είχε σαν συνέπεια σημαντική μείωση της εξέλιξης της αθηροσκλήρωσης (εκτιμώμενης με ενδαγγειακό υπέρηχο, IVUS) σε σχέση με τη γλιμεπιρίδη. Η ευνοϊκή αυτή δράση της

πιογλιταζόνης στο CIMT αποδόθηκε στην ελαφρώς καλύτερη, αν και όχι στατιστικά σημαντική γλυκαιμική ρύθμιση, τη βελτίωση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη, την αύξηση της HDL και τη μείωση των τριγλυκεριδίων, της αρτηριακής πίεσης και της CRP.

Η μόνη έως τώρα ολοκληρωμένη προοπτική μελέτη επίδρασης της πιογλιταζόνης στην καρδιαγγειακή έκβαση ασθενών με ΣΔ2 και γνωστή μακροαγγειοπάθεια, η μελέτη PROactive (Dormandy *et al.*, 2005), έδειξε κάποια βελτίωση στην καρδιαγγειακή πρόγνωση των ασθενών αυτών. Τα διαφορετικά ευρήματα αυτής της μελέτης σε σχέση με τα αποτελέσματα της μετα-ανάλυσης των Singh *et al.* (2007), που αφορούσαν τον αυξημένο καρδιαγγειακό κίνδυνο από τη χρήση της ροζιγλιταζόνης, έδειξαν ότι όλες οι γλιταζόνες δεν έχουν το ίδιο αποτέλεσμα στην καρδιαγγειακή έκβαση. Ωστόσο, όμοια με την πιογλιταζόνη και η ροζιγλιταζόνη φαίνεται ότι βελτιώνει την ενδοθηλιακή λειτουργία σε ασθενείς με ΣΔ2 (Natali *et al.*, 2004, Pistrosch *et al.*, 2004). Επομένως, απαιτείται περαιτέρω έρευνα προκειμένου να διερευνηθεί γιατί αυτή η εμφανής ευνοϊκή επίδραση των γλιταζονών στην πρόωμη αθηροσκλήρωση δεν μεταφράζεται σε όμοια βελτίωση στην καρδιαγγειακή πρόγνωση.

### **Περιορισμοί**

Ένας σημαντικός περιορισμός αυτής της μελέτης είναι ότι πρόκειται για μία ανοιχτή μελέτη. Ωστόσο, η μελέτη του FMD έγινε από έναν χειριστή που δεν γνώριζε το είδος της αγωγής, ενώ οι μετρήσεις της διαμέτρου της βραχιόνιας αρτηρίας και ο υπολογισμός του FMD έγιναν από έναν άλλο χειριστή, ο οποίος δεν γνώριζε ούτε τη θεραπεία του κάθε ασθενή αλλά ούτε και το στάδιο της μελέτης.

Ο πληθυσμός της μελέτης αποτελούνταν κυρίως από μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (περίπου 80% σε κάθε ομάδα) και ήταν σχετικά μικρός. Επιπλέον, η λοιπή αγωγή που ελάμβαναν τα μελετώμενα άτομα (όπως στατίνες, AMEA) θα μπορούσε να επηρεάσει το FMD. Ωστόσο, η χρήση τέτοιων παραγόντων ήταν όμοια μεταξύ των ομάδων στον αρχικό έλεγχο, ενώ εδόθησαν οδηγίες στους ασθενείς για διατήρηση της ίδιας αγωγής κατά τη διάρκεια της μελέτης. Το κάπνισμα δεν αποτελούσε κριτήριο αποκλεισμού από τη μελέτη, ωστόσο οι συνήθειες μεταξύ των καπνιστών των δύο ομάδων ήταν καλά σταθμισμένες, ενώ ζητούνταν από τους ασθενείς να απέχουν από το κάπνισμα πολλές ώρες πριν τη μελέτη του FMD.

Τέλος, παρά την τυχαιοποίηση, ο δείκτης HOMA και η LDL χοληστερόλη ήταν ελαφρώς αυξημένα στην ομάδα της πιογλιταζόνης κατά τον αρχικό έλεγχο, χωρίς όμως να φτάσουν στατιστική σημαντικότητα. Όμως, η τυχαιοποίηση δεν βασίστηκε ούτε στο δείκτη HOMA

αλλά ούτε και στην LDL χοληστερόλη, τα οποία υπολογίστηκαν στη συνέχεια, παρά μόνο στην τιμή της HbA1c, που μετρούνταν τη στιγμή της τυχαιοποίησης. Επίσης, το FMD χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας ως δείκτης πρώιμου καρδιαγγειακού κινδύνου. Ωστόσο, δεν είναι σαφές αν η βελτίωση του FMD μεταφράζεται σε βελτίωση της καρδιαγγειακής πρόγνωσης και μείωση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων.

Συμπερασματικά, η παρούσα μελέτη έδειξε ότι σε ασθενείς με ΣΔ2 που λαμβάνουν ήδη μετφορμίνη, η προσθήκη πιογλιταζόνης σε σύγκριση με γλιμεπιρίδη για 6 μήνες βελτίωσε την ενδοθηλιακή λειτουργία και την αντίσταση στην ινσουλίνη παρά τον όμοιο γλυκαιμικό έλεγχο. Η ευνοϊκή αυτή επίδραση της πιογλιταζόνης στην ενδοθηλιακή λειτουργία φαίνεται ότι οφείλεται κυρίως στην παράλληλη μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη. Περαιτέρω έρευνα απαιτείται προκειμένου να εκτιμηθεί εάν οι διαφορετικές αυτές αγγειακές δράσεις των δύο ευρέως χρησιμοποιούμενων υπογλυκαιμικών παραγόντων θα μπορούσαν να επηρεάσουν την επιλογή της αντιδιαβητικής αγωγής ασθενών με ΣΔ2.

## **7.2 Μελέτη B: Επίδραση της πιογλιταζόνης και της μετφορμίνης στην αγγειακή ενδοθηλιακή λειτουργία ασθενών με ΣΔ2 που λαμβάνουν σουλφονουλουρία.**

Η πιογλιταζόνη και η μετφορμίνη είναι δύο ευρέως χρησιμοποιούμενοι ευαισθητοποιητές της ινσουλίνης με τεκμηριωμένη αξία στη γλυκαιμική ρύθμιση και τη μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη σε ασθενείς με ΣΔ2. Η πιογλιταζόνη, σύμφωνα με τα αποτελέσματα σειρών μελετών, βελτιώνει επιπλέον την ενδοθηλιακή λειτουργία και καθυστερεί την εξέλιξη της υποκλινικής αθηροσκλήρωσης, ενώ έχει συσχετιστεί με χαμηλότερο καρδιαγγειακό κίνδυνο σε ασθενείς με ΣΔ2. Αντίθετα, η έρευνα σχετικά με την επίδραση της μετφορμίνης στην πρόιμη αθηροσκλήρωση είναι πολύ περιορισμένη (Mather *et al.*,2001, Matsumoto *et al.*,2004), με τις λίγες μελέτες που υπάρχουν να δείχνουν ουδέτερο ή ευνοϊκό αποτέλεσμα στην καρδιαγγειακή πρόγνωση των ασθενών αυτών (Selvin *et al.*,2008, Lamanna *et al.*,2011). Δεν υπάρχουν ωστόσο αρκετές ενδείξεις σχετικά με το ποιος παράγοντας θα πρέπει να προτιμηθεί για να βελτιωθεί η καρδιαγγειακή πρόγνωση των ασθενών με ΣΔ2, καθώς η σύγκριση της αποτελεσματικότητας της πιογλιταζόνης έναντι της μετφορμίνης δεν έχει μελετηθεί ποτέ σε αυτό τον πληθυσμό. Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να εκτιμηθεί και να συγκριθεί η επίδραση της πιογλιταζόνης και της μετφορμίνης στην αγγειακή ενδοθηλιακή λειτουργία ασθενών με αρρυθμιστο ΣΔ2 που ελάμβαναν μόνο σουλφονουλουρία.

### **7.2.1 Υλικό και μέθοδος**

#### **7.2.1.1 Πληθυσμός μελέτης**

Το δείγμα της μελέτης αποτελέστηκε από ΣΔ2 ασθενείς που ελάμβαναν μόνο σουλφονουλουρία, χωρίς να επιτυγχάνουν το γλυκαιμικό στόχο. Τα κριτήρια εισόδου περιλάμβαναν ηλικία μεταξύ 40-80 ετών, μονοθεραπεία με σουλφονουλουρία για διάστημα μεγαλύτερο των 6 μηνών πριν από την έναρξη της μελέτης και τιμή HbA<sub>1c</sub> >7.0%. Στα κριτήρια αποκλεισμού περιλαμβάνονταν επιπλέον ιστορικό οξείας ή χρόνιας μεταβολικής οξείδωσης, αλκοολισμού, καθώς και γνωστή δυσανεξία στη μετφορμίνη ή την πιογλιταζόνη. 90 ΣΔ2 ασθενείς σε μονοθεραπεία με σουλφονουλουρία για τουλάχιστο 6 μήνες και χωρίς

επίτευξη του γλυκαιμικού στόχου ελέγχθηκαν με κλινική εξέταση, ηλεκτροκαρδιογράφημα και HbA1c. Από αυτούς οι 34, 10 άντρες και 24 γυναίκες, πληρούσαν τα κριτήρια εισόδου στη μελέτη. Όλες οι γυναίκες της μελέτης ήταν εμμηνοπαυσιακές, χωρίς να λαμβάνουν ή να είχαν λάβει θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης. Όλοι οι ασθενείς είχαν LDL-c > 100 mg/dl ή ελάμβαναν στατίνη.

### **7.2.1.2 Σχεδιασμός μελέτης**

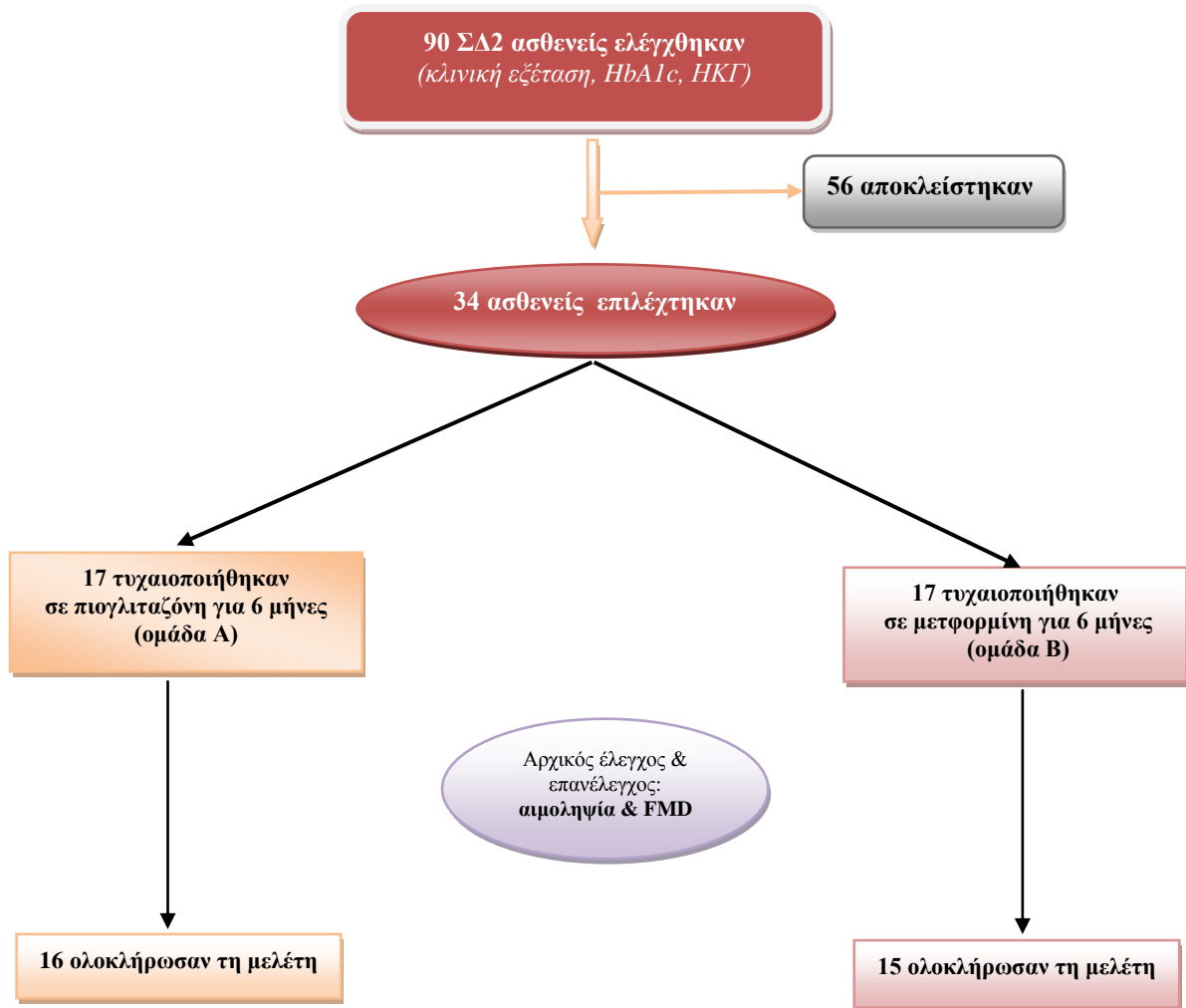
Πρόκειται για μια ανοιχτή, τυχαιοποιημένη μελέτη εκτίμησης της ενδοθηλιακής λειτουργίας ασθενών με ΣΔ2 που ήταν σε μονοθεραπεία με γλιμεπιρίδη, όταν μετορμίνη ή πιογλιταζόνη προστέθηκε στην αγωγή τους για 6 μήνες. Αρχικά ελήφθη πλήρες ιατρικό ιστορικό και στη συνέχεια ακολούθησε κλινική εξέταση και διενέργεια ηλεκτροκαρδιογραφήματος. Οι ασθενείς που επιλέχθηκαν για τη μελέτη και έδωσαν γραπτή συγκατάθεση τυχαιοποιήθηκαν σε δύο ομάδες, με βάση τη σειρά προσέλευσής τους στα τακτικά εξωτερικά Ενδοκρινολογικά ιατρεία (κατανομή 1:1): μετορμίνη (850 mg bid) προστέθηκε στην ομάδα A (N=17), ενώ πιογλιταζόνη (30 mg od) προστέθηκε στην ομάδα B (N=17).

### **Μεθοδολογία**

Ακολουθήθηκαν οι διαδικασίες που περιγράφηκαν προηγουμένως και οι ασθενείς επανελέγχθηκαν 6 μήνες μετά.

Στην **εικόνα 7.3** απεικονίζεται το διάγραμμα ροής της μελέτης.





**Εικόνα 7.3.** Διάγραμμα ροής της μελέτης Β.

### 7.2.1.3. Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων έγινε σύμφωνα με τις ήδη περιγραφείσες δοκιμασίες και μεθόδους. Με βάση τα αποτελέσματα της προηγούμενης μελέτης, περιμέναμε μία απόλυτη βελτίωση στο  $FMD \geq 1.5\%$  (περίπου SD 70-75% σε σύγκριση με την αρχική εκτίμηση) από τη θεραπεία. Υπολογίσαμε ότι ένα μέγεθος δείγματος αποτελούμενο από 17 ασθενείς ανά ομάδα θα παρείχε στατιστική ισχύ περίπου 80% στην ανίχνευση μίας αύξησης του  $FMD > 1.5\%$  από τη θεραπεία εντός της κάθε ομάδας, καθώς και μία διαφορά  $> 1.5\%$  στις αλλαγές του FMD από τη θεραπεία μεταξύ των δύο ομάδων ( $\alpha = 0.05$ ).

Η σχέση μεταξύ των οφειλόμενων στη θεραπεία απόλυτων αλλαγών του FMD και των μελετώμενων κλινικών χαρακτηριστικών και εργαστηριακών μετρήσεων εκτιμήθηκε με τη χρήση των συντελεστών συσχέτισης Spearman and Pearson. Τιμή  $p < 0.05$  θεωρήθηκε σημαντική.

### **7.2.2 Αποτελέσματα**

Ένας ασθενής από την ομάδα A και 2 ασθενείς από την ομάδα B αποκλείστηκαν από τη μελέτη εξαιτίας της προσθήκης στατίνης από εξωτερικό ιατρό κατά τη διάρκεια της μελέτης. Οι εναπομείναντες 31 ασθενείς ολοκλήρωσαν τη μελέτη. Η συνέπεια στη λήψη της αγωγής ελέγχθηκε στο τέλος της μελέτης από τον αριθμό των δισκίων που καταναλώθηκαν.

Δεν σημειώθηκαν σοβαρές παρενέργειες από την αγωγή. Ήπια γαστρεντερικά συμπτώματα αναφέρθηκαν από 4 ασθενείς που έλαβαν μετορμίνη, ενώ 2 ασθενείς που έλαβαν πιογλιταζόνη εμφάνισαν ήπιο προκνημιαίο οίδημα, που όμως δεν οδήγησε σε διακοπή της πιογλιταζόνης. Επίσης, στην ομάδα της πιογλιταζόνης δεν αναφέρθηκαν σοβαρές υπογλυκαιμίες.

Τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά καθώς και οι μεταβολικές και αγγειακές παράμετροι των 31 ασθενών που ολοκλήρωσαν τη μελέτη απεικονίζονται στους πίνακες 7.4 και 7.5.

Πίνακας 7.4. Αρχικά δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των 2 ομάδων.			
	Ομάδα Α Μετφορμίνη n= 16	Ομάδα Β Πιογλιταζόνη n= 15	Τιμή p
Ηλικία, έτη	63±8	63±10	0.9
Άρρεν φύλο, n (%)	4 (25)	5 (33)	0.7
Οικογενειακό ιστορικό ΣΝ, n (%)	10 (63)	8 (53)	0.6
Υπέρταση, n (%)	10 (63)	9 (60)	0.9
Δυσλιπιδαιμία, n (%)	16 (100)	15 (100)	1.0
Κάπνισμα, n (%)	2 (13)	2 (13)	1.0
Διάρκεια ΣΔ2, έτη	8.0±5.9	7.5±6.3	0.8
<u>Φάρμακα, n (%)</u>			
Διουρητικά	3 (19)	1 (7)	0.6
ACE/ATR1 αναστολείς	6 (38)	7 (47)	0.6
Ανταγωνιστές ασβεστίου	3 (19)	2 (13)	1.0
Στατίνες	5 (31)	3 (20)	0.7
Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέση τιμή± τυπική απόκλιση, αλλιώς αναφέρονται διαφορετικά.			

Οι δύο ομάδες δεν διέφεραν σε καμία από τις μελετούμενες παραμέτρους στον αρχικό έλεγχο και αποτελούνταν κυρίως από γυναίκες (75% και 67% στις ομάδες Α και Β αντίστοιχα, p=ns) και υπέρβαρους ή παχύσαρκους ασθενείς (BMI 30.4±5.5 και 31.9±4.2 kg/m<sup>2</sup> στις ομάδες Α και Β αντίστοιχα, p=ns).

Στην ομάδα Α, η θεραπεία με μετφορμίνη συντέλεσε σε σημαντική μείωση της HbA<sub>1c</sub> (p=0.016) και σε μη σημαντική τάση για μείωση της διαστολικής αρτηριακής πίεσης και αύξηση του FMD (p=0.077 και για τα δύο), (Πίνακας 7.5). Στην ομάδα Β, η προσθήκη πιογλιταζόνης προκάλεσε σημαντική μείωση στην ινσουλίνη νηστείας (p=0.01), τη HbA<sub>1c</sub> (p=0.01), το δείκτη αντίστασης στην ινσουλίνη HOMA-IR (p=0.003) και το FMD (p=0.002) και μία μη σημαντική τάση για αύξηση της HDL-c (p=0.054), (Πίνακας 7.5).

Πίνακας 7.5. Κλινικές, εργαστηριακές και αγγειακές μετρήσεις μεταξύ των δύο ομάδων κατά την αρχική εκτίμηση και τον επανέλεγχο.						
	Ομάδα Α - Μετοφορμίνη (n=16)			Ομάδα Β - Πιογλιταζόνη (n=15)		
	Αρχικό σημείο μελέτης	Επανέλεγχος	Τιμή P	Αρχικό σημείο μελέτης	Επανέλεγχος	Τιμή P
ΔΜΣ, kg/m <sup>2</sup>	30.4±5.5	30.0±5.2	0.11	31.9±4.2	32.2±4.9	0.4
Περίμετρος μέσης, cm	106±13	105±11	0.4	109±11	108±12	0.3
Γλυκόζη νηστείας, mg/dl	149±34	143±33	0.11	152±28	148±33	0.6
Ινσουλίνη νηστείας, pmol/L	10.1±6.4	9.3±5.1	0.5	10.5±4.1	8.1±2.7	<b>0.01</b>
HbA <sub>1c</sub>	8.1±1.3	7.4±1.5	<b>0.016</b>	7.8±0.9	7.2±1.0	<b>0.01</b>
GIR	19.2±10.2	20.1±14.2	0.8	16.9±7.9	20.2±7.4	0.14
HOMA	3.6±2.1	3.2±1.6	0.3	3.8±1.2	3.0±1.3	<b>0.003</b>
Ολική χοληστερόλη, mg/dl	219±30	230±42	0.2	218±36	220±35	0.8
HDL-c, mg/dl	53±12	54±12	0.4	50±10	54±11	0.054
Τριγλυκερίδια, mg/dl	146±69	151±60	0.7	151±52	138±50	0.3
LDL-c, mg/dl	137±29	146±37	0.2	138±32	138±33	0.9
hs-CRP	3.34±3.90	2.47±2.05	0.4	1.95±2.17	1.56±1.28	0.3
Συστολική ΑΠ, mmHg	146±16	144±14	0.4	139±12	140±13	0.9
Διαστολική ΑΠ, mmHg	80±6	76±7	0.077	76±6	73±7	0.15
Αρχικό EDD, mm	0.42±0.04	0.43±0.05	0.4	0.43±0.04	0.44±0.06	0.7
FMD, %	2.15±1.06	2.87±1.46	0.077	2.18±1.30	3.85±1.59	<b>0.002</b>
NMD, %	10.16±2.51	10.71±5.87	0.7	11.19±4.06	9.94±2.76	0.3

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέση τιμή±τυπική απόκλιση, αλλιώς αναφέρονται διαφορετικά.  
p=NS για τη σύγκριση μεταξύ των δύο ομάδων στο αρχικό σημείο της μελέτης.

Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στις προκαλούμενες από τη μετοφορμίνη και την πιογλιταζόνη αλλαγές στην ενδοθηλιακή λειτουργία και τις άλλες μεταβολικές παραμέτρους στο τέλος των 6 μηνών (p>0.1 για όλα), (Table 7.6).

**Πίνακας 7.6. Αλλαγές επαγόμενες από τη θεραπεία στις κλινικές, εργαστηριακές και αγγειακές παραμέτρους στις 2 ομάδες, κατά τον επανέλεγχο.**

	<b>Ομάδα Α Μετοφορμίνη (n=16)</b>	<b>Ομάδα Β Πιογλιταζόνη (n=15)</b>	<b>Τιμή P</b>
$\Delta$ ΔΜΣ, kg/m <sup>2</sup>	-0.38±0.90	0.26±1.29	0.116
$\Delta$ περιμέτρου μέσης, cm	-0.9±4.0	-1.3±4.3	0.795
$\Delta$ γλυκόζης νηστείας, mg/dl	-6±13	-5±34	0.916
$\Delta$ ινσουλίνης νηστείας, pmol/L	-0.7±4.3	-2.4±3.2	0.226
$\Delta$ HbA <sub>1c</sub> , %	-0.7±1.0	-0.5±0.7	0.652
$\Delta$ GIR	0.9±14.7	3.3±8.1	0.586
$\Delta$ HOMA	-0.4±1.6	-0.8±0.9	0.355
$\Delta$ ολικής χοληστερόλης, mg/dl	12±33	2±24	0.344
$\Delta$ HDL-c, mg/dl	2±7	3±6	0.465
$\Delta$ τριγλυκεριδίων, mg/dl	6±55	-13±45	0.324
$\Delta$ LDL-c, mg/dl	9±26	1±21	0.352
$\Delta$ hs-CRP	-0.87±3.57	-0.40±1.40	0.637
$\Delta$ συστολικής ΑΠ, mmHg	-2±12	1±11	0.488
$\Delta$ διαστολικής ΑΠ, mmHg	-4±9	-3±9	0.794
$\Delta$ αρχικού EDD, mm	0.01±0.03	0.00±0.03	0.702
$\Delta$ FMD, %	0.72±1.52	1.68±1.70	0.110
$\Delta$ NMD, %	0.55±5.38	-1.25±4.18	0.313

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέση τιμή± τυπική απόκλιση, αλλιώς αναφέρονται διαφορετικά.  
 $\Delta$ , απόλυτες αλλαγές στους 6 μήνες κατά τον επανέλεγχο.

Η απόλυτη αλλαγή στο FMD στο τέλος της μελέτης και στο σύνολο των ασθενών, δηλαδή και στους 31 ασθενείς, σχετίστηκε με την απόλυτη αλλαγή στην ολική χοληστερόλη ( $r = 0.424$ ,  $p=0.018$ ) και την LDL-c στον επανέλεγχο ( $r = -0.386$ ,  $p=0.032$ ), (Πίνακας 7.7).

**Πίνακας 7.7. Συσχετίσεις μεταξύ των επαγόμενων από τη θεραπεία απόλυτων αλλαγών στο FMD και τις άλλες μελετώμενες παραμέτρους.**

	r	p
Δ ΔΜΣ, kg/m <sup>2</sup>	0.193	0.298
Δ περιμέτρου μέσης, cm	0.132	0.479
Δ γλυκόζης νηστείας, mmol/L	0.211	0.255
Δ ινσουλίνης νηστείας, pmol/L	-0.233	0.207
ΔHbA1C, %	0.160	0.390
ΔGIR	0.053	0.779
ΔHOMA	-0.101	0.587
Δ ολικής-χ, mmol/L	-0.424	<b>0.018</b>
Δ HDL-χ, mmol/L	-0.192	0.300
Δτριγλυκεριδίων, mmol/L	-0.161	0.388
ΔLDL-χ, mmol/L	-0.386	<b>0.032</b>
Δhs-CRP, nmol/L	-0.062	0.745
Δ συστολικής ΑΠ, mmHg	0.214	0.249
Δ διαστολικής ΑΠ, mmHg	0.027	0.884

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέση τιμή±τυπική απόκλιση, αλλιώς αναφέρονται διαφορετικά. Δ: απόλυτες αλλαγές στον επανέλεγχο. GIR: glucose to insulin ratio.

### 7.2.3 Συζήτηση

Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης έδειξαν ότι η προσθήκη πιογλιταζόνης σε ΣΔ2 ασθενείς που ελάμβαναν γλιμεπιρίδη βελτίωσε σημαντικά την ενδοθηλιακή λειτουργία, τον γλυκαιμικό έλεγχο και την ευαισθησία στην ινσουλίνη, ενώ οδήγησε και σε μία σχεδόν σημαντική αύξηση της HDL-c. Η προσθήκη της μετφορμίνης σε ασθενείς που ελάμβαναν γλιμεπιρίδη προκάλεσε σημαντική βελτίωση μόνο στη HbA<sub>1c</sub> και μη στατιστικά σημαντική βελτίωση στην ευαισθησία στην ινσουλίνη και την ενδοθηλιακή λειτουργία. Ωστόσο, η διαφορά στα αποτελέσματα της πιογλιταζόνης έναντι της μετφορμίνης δεν έφτασε στατιστική σημαντικότητα. Επιπλέον, η βελτίωση του FMD από τη χρήση των δύο αυτών παραγόντων δεν σχετίστηκε με τον καλύτερο γλυκαιμικό έλεγχο ή την αύξηση της ευαισθησίας στην ινσουλίνη.

Οι μεταβολικές επιδράσεις της πιογλιταζόνης στη βελτίωση του γλυκαιμικού ελέγχου, της ευαισθησίας στην ινσουλίνη, του λιπιδαιμικού προφίλ, της ενδοθηλιακής λειτουργίας και της καρδιαγγειακής πρόγνωσης ασθενών με ΣΔ2 είναι καλά τεκνηριωμένες και έχουν περιγραφεί σε προηγούμενα κεφάλαια. Αναφορικά με τη μετφορμίνη, έχει προηγουμένως αναφερθεί η ευνοϊκή της επίδραση στον γλυκαιμικό έλεγχο (Scarpello, Howlett 2008) και την ενδοθηλιακή λειτουργία διαφόρων μη διαβητικών πληθυσμών με αντίσταση στην ινσουλίνη, όπως σε νέες γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών (Orio *et al.*, 2005, Naka *et al.*, 2011) και σε ασθενείς με μεταβολικό σύνδρομο (Vitale *et al.*, 2005). Αντίθετα, το αποτέλεσμα της μετφορμίνης στην ενδοθηλιακή λειτουργία και την εξέλιξη της υποκλινικής αθηροσκλήρωσης σε ασθενείς με ΣΔ2 δεν έχει μελετηθεί εκτενώς (Mather *et al.*, 2001, Matsumoto *et al.*, 2004).

Στην παρούσα μελέτη, η προσθήκη της μετφορμίνης προκάλεσε μία μη σημαντική αύξηση στο FMD (απόλυτη αλλαγή 0.7%), αποτέλεσμα που ήταν κάτω από την εκ των προτέρων αναμενόμενη βελτίωση (1.5%). Ωστόσο, η μελέτη αυτή δεν είχε τη στατιστική ισχύ για ανίχνευση τόσο μικρών βελτιώσεων του FMD, που θα μπορούσαν να αναδειχτούν με μεγαλύτερες μελέτες. Επιπλέον, η προσθήκη μετφορμίνης σε σουλφονουρία έχει περιορισμένη επίδραση στη λειτουργικότητα του ενδοθηλίου και είναι πιθανό να σχετίζεται με τη δυσμενή καρδιαγγειακή πρόγνωση που έχει αναφερθεί παλαιότερα με αυτό το συνδυασμό αντιδιαβητικής αγωγής (Lamanna *et al.*, 2011).

Η διαφορά της επίδρασης της πιογλιταζόνης έναντι της μετφορμίνης σε ασθενείς που ελάμβαναν γλιμεπιρίδη δεν έφτασε σε στατιστική σημαντικότητα για καμία από τις μελετώμενες παραμέτρους. Δεν υπάρχει μέχρι στιγμής άλλη μελέτη που να συγκρίνει τη δράση των δύο αυτών ευαισθητοποιητών της ινσουλίνης στις μεταβολικές παραμέτρους ή την ενδοθηλιακή λειτουργία ασθενών με ΣΔ2. Αν και η βελτίωση στο FMD (1.7% vs 0.7%) και την αντίσταση στην ινσουλίνη φαίνεται ότι είναι μεγαλύτερη από την πιογλιταζόνη σε σχέση με τη μετφορμίνη, αυτή η διαφορά δεν βρέθηκε σημαντική στην παρούσα μελέτη, ίσως λόγω του μικρού αριθμού των ασθενών. Επομένως, απαιτούνται μεγαλύτερες μελέτες για να πιστοποιήσουν αν η πιογλιταζόνη έχει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα στη βελτίωση της αντίστασης στην ινσουλίνη και την ενδοθηλιακή λειτουργία σε σχέση με τη μετφορμίνη. Επιπλέον, δεν είναι γνωστό αν αυτή η μικρή διαφορά ( $\approx 1.0\%$ ) στη βελτίωση του FMD που έδειξε η μελέτη μας θα μπορούσε να μεταφραστεί σε σημαντική διαφορά στην καρδιαγγειακή πρόγνωση από τους δύο αντιδιαβητικούς παράγοντες.

Η ερευνητική μας ομάδα σε προηγούμενη δημοσίευσή της (Naka *et al.*,2011) έδειξε ότι σε υπέρβαρες και παχύσαρκες νέες γυναίκες με σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών η πιογλιταζόνη και η μετφορμίνη συντέλεσαν σε ίση βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας, παρά το γεγονός ότι η πιογλιταζόνη ήταν ανώτερη στη μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη. Οι υπόλοιπες μεταβολικές δράσεις των δύο παραγόντων επίσης συγκρίθηκαν. Η διαφορετική δράση των δύο ευαισθητοποιητών της ινσουλίνης στη βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας και τις λοιπές μεταβολικές παραμέτρους των δικών μας ασθενών θα μπορούσε να αποδοθεί στη διαφορετική ηλικιακή ομάδα των δύο πληθυσμών, την ύπαρξη του ΣΔ2 και τη συγχορήγηση της πιογλιταζόνης και μετφορμίνης με γλιμεπιρίδη. Αν και η γλιμεπιρίδη έχει ουδέτερη δράση στη λειτουργία του ενδοθηλίου, ο συνδυασμός της με μετφορμίνη ή πιογλιταζόνη μπορεί να έχει διαφορετικές αγγειακές δράσεις, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της προηγούμενης μελέτης μας. Επιπλέον, έχει παλαιότερα αναφερθεί ότι ο συνδυασμός της μετφορμίνης με σουλφονουλουρία πιθανά να σχετίζεται με δυσμενή καρδιαγγειακή πρόγνωση, ενώ οι καρδιαγγειακές δράσεις του συνδυασμού της πιογλιταζόνης με σουλφονουλουρία δεν είχαν προηγουμένως μελετηθεί.

Σε συμφωνία με τα ευρήματα άλλων μελετών (Bagg *et al.* & Mather *et al.*, 2001) αλλά και της προηγούμενης μελέτης μας, η βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας δεν σχετίστηκε με την παράλληλη βελτίωση του γλυκαιμικού ελέγχου. Επίσης, πολλές μελέτες έχουν δείξει σημαντική συσχέτιση μεταξύ της μείωσης της αντίστασης στην ινσουλίνη και της ευνοϊκής δράσης της μετφορμίνης (Mather *et al.*, 2001, Naka *et al.*,2011) ή της πιογλιταζόνης (αναφορά σε προηγούμενα κεφάλαια) στην αγγειακή λειτουργία. Ωστόσο, η σχέση αυτή δεν αναδείχτηκε στην παρούσα μελέτη. Πρέπει όμως να σημειωθεί ότι η μείωση των δεικτών αντίστασης στην ινσουλίνη στην παρούσα μελέτη ήταν μικρή σε σύγκριση με προηγούμενες μελέτες, δείχνοντας ότι το ποσοστό αυτό της μείωσης ίσως να μην ήταν αρκετό να οδηγήσει σε βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας. Ένα ακόμη εύρημα της μελέτης αυτής ήταν ότι η βελτίωση του FMD είτε από την πιογλιταζόνη ή τη μετφορμίνη σχετίστηκε με τη μείωση της ολικής και της LDL χοληστερόλης, παρά το γεγονός ότι κανένας από τους δύο παράγοντες δεν είχε σημαντική επίδραση στη χοληστερόλη. Το εύρημα αυτό είχε αναφερθεί παλαιότερα σε μη διαβητικούς ασθενείς που έλαβαν πιογλιταζόνη (Campria *et al.*,2006), όμως ο ακριβής μηχανισμός δεν εξακριβώθηκε και είναι πέρα από το σκοπό της παρούσας μελέτης.



## Περιορισμοί

Και για την παρούσα μελέτη ισχύουν οι περιορισμοί που αναφέρθηκαν προηγουμένως. Ένας επιπλέον περιορισμός αυτής της μελέτης είναι η έλλειψη στατιστικής ισχύος ανίχνευσης μικρών διαφορών στις αγγειακές ή μεταβολικές επιδράσεις των δύο παραγόντων, που οφείλεται πιθανώς στο σχετικά μικρό αριθμό των ασθενών της μελέτης.

Συμπερασματικά, η προσθήκη πιογλιταζόνης σε ασθενείς με ΣΔ2 που ελάμβαναν σουλφονυλουρία βελτίωσε σημαντικά το FMD, δράση που όμως δεν φάνηκε να διαφέρει σημαντικά από αυτή της μετφορμίνης. Η βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας από τους δύο αυτούς παράγοντες δεν βρέθηκε να σχετίζεται με τη βελτίωση του γλυκαιμικού ελέγχου ή τη μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη σε αυτή την ομάδα ασθενών με ΣΔ2. Μεγαλύτερες μελέτες απαιτούνται προκειμένου να διερευνηθεί κατά πόσο η δυνητικά μεγαλύτερη ευνοϊκή δράση της πιογλιταζόνης έναντι της μετφορμίνης ισχύει και αν θα μπορούσε να μεταφραστεί σε βελτίωση της καρδιαγγειακής πρόγνωσης.

### **7.3 Μελέτη Γ: Η πιογλιταζόνη βελτιώνει την ενδοθηλιακή λειτουργία ασθενών με ΣΔ2 που είναι σε διπλοθεραπεία με σουλφονυλουρία και μετφορμίνη.**

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η εκτίμηση της επίδρασης της πιογλιταζόνης στην ενδοθηλιακή λειτουργία ασθενών με ΣΔ2 που ήταν ήδη σε διπλοθεραπεία με σουλφονυλουρία και μετφορμίνη, συνδυασμός που έχει συνδεθεί με δυσμενή καρδιαγγειακή πρόγνωση (Evans *et al.*, 2006, Fisman *et al.*, 1999 & 2001, Olsson *et al.*, 2006, UKPDS 34, 1998).

#### **7.3.1 Υλικό και μέθοδος**

##### **7.3.1.1 Πληθυσμός μελέτης**

Το δείγμα της μελέτης αποτελέστηκε από ΣΔ2 ασθενείς που ελάμβαναν διπλή αγωγή με σουλφονυλουρία και μετφορμίνη για χρονικό διάστημα μεγαλύτερο του ενός έτους πριν την έναρξη της μελέτης, χωρίς να επιτυγχάνουν το γλυκαιμικό στόχο ( $HbA_{1c} >7.0\%$ ). Για την εισαγωγή στη μελέτη οι ασθενείς έπρεπε να πληρούν τα κριτήρια εισόδου που προαναφέρθηκαν. 120 ΣΔ2 ασθενείς σε διπλοθεραπεία με σουλφονυλουρία (γλιμεπιρίδη ή γλιπιζίδη) και μετφορμίνη για τουλάχιστο 1 χρόνο και χωρίς επίτευξη του γλυκαιμικού στόχου ελέγχθηκαν με κλινική εξέταση, ηλεκτροκαρδιογράφημα και  $HbA_{1c}$ . Από αυτούς οι 45 πληρούσαν τα κριτήρια εισόδου στη μελέτη. Όλες οι γυναίκες της μελέτης ήταν εμμηνοπαυσιακές, χωρίς να λαμβάνουν ή να είχαν λάβει θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης. Όλοι οι ασθενείς είχαν  $LDL-c >100$  mg/dl ή ελάμβαναν στατίνη.

##### **7.3.1.2 Σχεδιασμός μελέτης**

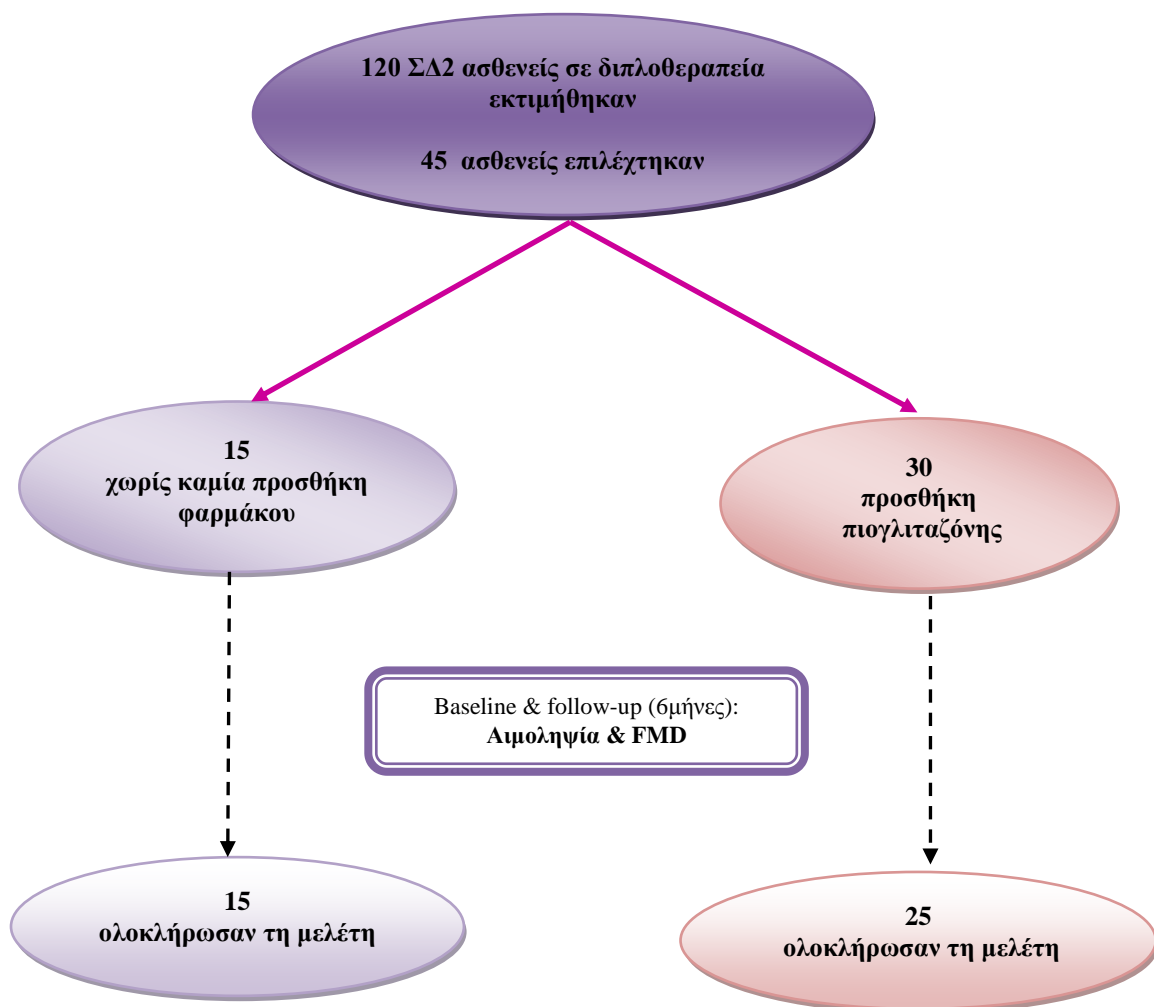
Πρόκειται για μια ανοιχτή, τυχαιοποιημένη μελέτη εκτίμησης της ενδοθηλιακής λειτουργίας ασθενών με ΣΔ2 που ήταν σε διπλοθεραπεία με γλιμεπιρίδη ή γλιπιζίδη και μετφορμίνη, όταν προστέθηκε στην αγωγή τους πιογλιταζόνη για 6 μήνες. Τα άτομα τυχαιοποιήθηκαν σε δύο ομάδες, με βάση τη σειρά προσέλευσής τους στα τακτικά εξωτερικά Ενδοκρινολογικά ιατρεία (κατανομή 1:2): στην πρώτη ομάδα (ομάδα Α) δεν έγινε καμία προσθήκη (N=15), ενώ στην δεύτερη ομάδα (ομάδα Β) προστέθηκε πιογλιταζόνη (30 mg od),

(N=30) για 6 μήνες. Προκειμένου να επιτευχθεί όμοιος γλυκαιμικός έλεγχος στην ομάδα A, έγινε μία μικρή αύξηση μόνο στη δόση της σουλφονουρίας.

### Μεθοδολογία

Ακολουθήθηκαν οι προαναφερθείσες διαδικασίες και οι ασθενείς επανεκτιμήθηκαν 6 μήνες μετά. Κατά τη διάρκεια των 6 μηνών ζητήθηκε από τους ασθενείς να διατηρήσουν το ίδιο είδος διαίτας και επίπεδο φυσικής δραστηριότητας.

Το διάγραμμα ροής των ασθενών της μελέτης Γ απεικονίζεται στο σχήμα



**Εικόνα 4.** Διάγραμμα ροής της μελέτης Γ.

### 7.3.1.3 Στατιστική ανάλυση

Η ανάλυση των δεδομένων έγινε σύμφωνα με τις ήδη περιγραφείσες μεθόδους και διαδικασίες.

### 7.3.2 Αποτελέσματα

5 ασθενείς από την ομάδα Β αποσύρθηκαν από τη μελέτη λόγω αύξησης βάρους (3 ασθενείς διέκοψαν μόνοι τους την αγωγή) και περιφερικού οιδήματος. Το περιφερικό οίδημα ήταν ήπιο και παρουσιάστηκε σε 4 ασθενείς, από τους οποίους οι δύο δεν επιθυμούσαν τη συνέχιση της πιογλιταζόνης. Κανένας από τους ασθενείς της μελέτης δεν ανέφερε σοβαρή υπογλυκαιμία. Οι εναπομείναντες 45 ασθενείς ολοκλήρωσαν τη μελέτη. Τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά καθώς και οι μεταβολικές και αγγειακές παράμετροι των 45 ασθενών που ολοκλήρωσαν τη μελέτη απεικονίζονται στους πίνακες 7.6 και 7.7.

**Πίνακας 7.6.** Αρχικά δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των δύο ομάδων.

Μεταβλητή	Ομάδα Α Χωρίς προσθήκη άλλης αγωγής n= 15	Ομάδα Β Πιογλιταζόνη n= 25	Τιμή P
Ηλικία, έτη (εύρος)	66.2 ± 8.2 (55 – 81)	66.9 ± 6.7 (54 - 78)	NS
Άρρεν φύλο, n (%)	4 (26.7)	8 (32.0)	NS
Υπερασικοί, n (%)	13 (86.7)	21 (84.0)	NS
Δυσλιπιδαιμικοί, n (%)	8 (53.3)	10 (40)	NS
Καπνιστές, n (%)	3 (20)	7 (28)	NS
Διάρκεια ΣΔ2, έτη (εύρος)	10 ± 5.7 (2-20)	14.3 ± 5.8 (3-24)	NS
Αντιυπερτασικά, n (%)	11 (73.3)	18 (72.0)	NS
Διουρητικά, n (%)	3 (20)	4 (16)	NS
ACE ή AT-II αναστολείς, n (%)	8 (53.3)	16 (64)	NS
β- αποκλειστές, n (%)	2 (13.3)	1 (4)	NS
Ανταγωνιστές ασβεστίου, n (%)	6 (40)	11 (44)	NS
Στατίνες n(%)	5 (33.3)	6 (24)	NS
Ασπιρίνη, n (%)	2 (13.3)	2 (8)	NS

**Πίνακας 7.7.** Κλινικές, εργαστηριακές και αγγειακές μετρήσεις των δύο ομάδων, αρχικά και στον επανέλεγχο.

Μεταβλητή	Ομάδα 1 Χωρίς προσθήκη άλλης αγωγής (n=15)		Ομάδα 2 Πιογλιταζόνη (n=25)	
	Αρχικό σημείο μελέτης	Επανέλεγχος	Αρχικό σημείο μελέτης	Επανέλεγχος
Βάρος, kg	69.4±11.3	69.0±12.0	72.6±10.0	75.6±9.9
ΔΜΣ, kg/m <sup>2</sup>	27.7±4.5	27.4±4.7	27.9±4.8	29.0±4.9
Περίμετρος μέσης, cm	100.5±10.2	100.7±10.9	101.8±10.6	101.8±11.7
Γλυκόζη νηστείας, mg/dl	173.6±34.7	171.3±25	159.3±34.9	148.1±38.9 *
Ινσουλίνη νηστείας, pmol/L pmol/L	9.0±4.3	8.3±5.0	8.7±5.3	6.6±3.1 *
HbA1c, %	7.9±0.8	7.8±0.8	8.6±1.1	7.7±1.0 **
GIR	26.3±20.3	32±26.6	23.1±11.4	27.2±14.9
HOMA	3.7±1.9	3.5±2.0	3.5±3.1	2.4±1.0 *
Ολική χοληστερόλη, mg/dl	211.9±37.8	225.4±37.1	207.0±43.2	216.7±51.6 *
HDL χοληστερόλη, mg/dl	50.4±12.8	48.8±9.6	53.8±10.7	57.3±11.8
Τριγλυκερίδια, mg/dl	143.9±62.5	149.5±56.2	132.2±68.9	117.3±49.5
LDL χοληστερόλη, mg/dl	133.8±32.9	145.1±31.2	126.8±34.6	136.0±42.7 *
Ουρία, mg/dl	36.6±4.1	39.4±13.6	38.4±12.3	35.5±9.6
Κρεατινίνη, mg/dl	0.8±0.1	0.8±0.1	0.8±0.1	0.8±0.1
Μικροαλβουμίνη ούρων, mg/dL	1.9±2.0	2.4±2.5	5.7±17.1	3.3±9.5
hs-CRP, nmol/L	2.509±3.076	1.885±1.463	3.135±3.371	2.905±2.983
Συστολική ΑΠ, mmHg	150.1±22.1	158.5±22.5	143.2±14.6	146.6±15.2
Διαστολική ΑΠ, mmHg	77.5±9.7	83.6±9.3	76.9±5.5	74.1±6.2
Καρδιακός ρυθμός, σφύξεις/λεπτό	75.3±8.3	72.3±8.7	71.5±8.0	71.9±12.3
Αρχικό EDD, mm	0.439±0.060	0.445±0.066	0.428±0.068	0.419±0.059
Απόλυτο Δ στο EDD με την υπεραμία, mm	0.007±0.006	0.007±0.006	0.007±0.006	0.014±0.005 **
% Δ στο EDD με την υπεραιμία- FMD	1.733±1.436	1.669±1.453	1.558±1.233	3.352±1.212 **
Απόλυτο Δ στο EDD με GTN, mm	0.043±0.014	0.044±0.019	0.038±0.015	0.038±0.017
% Δ in EDD with GTN-NMD	9.966±3.593	10.284±4.172	8.948±3.534	9.233±3.805
Μέγιστη υπεραιμική ροή, ml/min	183.685±62.760	199.478±52.312	172.756±82.945	198.135±65.865
% Δ στη ροή με την υπεραιμία	173.195±97.122	294.536±281.58	282.908±224.761	381.255±211.926

†  $P < 0.05$  σε σύγκριση με την ομάδα Α στο αρχικό σημείο της μελέτης (ασύζευκτο t-test), \*  $P < 0.05$  και \*\*  $P < 0.005$  στο αρχικό σημείο της μελέτης εντός κάθε ομάδας (συζευγμένο t-test).

Στον αρχικό έλεγχο οι δύο ομάδες δεν διέφεραν σε καμία από τις μελετώμενες παραμέτρους. Η ενδοθηλιακή λειτουργία επίσης ήταν παρόμοια μεταξύ των δύο ομάδων (FMD:  $1.733 \pm 1.436$  % και  $1.558 \pm 233$  % για τις ομάδες A και B αντίστοιχα,  $p=ns$ ). Στον επανέλεγχο μετά από 6 μήνες, στην ομάδα A δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές αλλαγές σε καμία από τις μεταβλητές της μελέτης (πίνακας 7.7). Στην ομάδα B ωστόσο, η προσθήκη πιογλιταζόνης για 6 μήνες προκάλεσε σημαντική μείωση στη HbA1c, τη γλυκόζη και την ινσουλίνη νηστείας και το δείκτη HOMA. Η LDL και η ολική χοληστερόλη αυξήθηκαν επίσης σημαντικά από την πιογλιταζόνη ενώ μία μικρή, αλλά μη σημαντική βελτίωση φάνηκε για την HDL και τα τριγλυκερίδια. Επιπλέον, το FMD βελτιώθηκε σημαντικά από την πιογλιταζόνη, ενώ το NMD δεν μεταβλήθηκε. Η προσθήκη πιογλιταζόνης προκάλεσε επίσης μικρή, αλλά μη στατιστικά σημαντική αύξηση στο BMI και μη σημαντική μείωση στη διαστολική αρτηριακή πίεση και τη μικροαλβουμίνη ούρων.

Υπήρχαν σημαντικές διαφορές στις απόλυτες αλλαγές στον επανέλεγχο σε σύγκριση με τον αρχικό έλεγχο μεταξύ των δύο ομάδων (πίνακας 7.8): στη HbA1c, τη διαστολική αρτηριακή πίεση, τη μικροαλβουμίνη ούρων και το FMD. Μικρή, αλλά μη σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε επίσης στο BMI ( $p=0.077$ ). Ως ανεξάρτητοι παράγοντες της βελτίωσης του FMD αναδείχτηκαν η θεραπεία με πιογλιταζόνη (slope:  $1.63$  [95%CI:  $0.97, 2.30$ ],  $p<0.0001$ ) και το αρχικό FMD (slope:  $-0.44$  [95%CI:  $-0.69, -0.20$ ],  $p<0.005$ )

**Πίνακας 7.8.** Απόλυτες αλλαγές στους 6 μήνες στις κλινικές, εργαστηριακές και αγγειακές παραμέτρους και στις δύο ομάδες.

Μεταβλητή	Ομάδα Α Χωρίς προσθήκη άλλης αγωγής n=15	Ομάδα Β Πιογλιταζόνη n=25	Ασύζευκτο t-test
ΔΜΣ, kg/m <sup>2</sup>	-0.3 ± 1.7	1.2 ± 2.9	<b>0.077</b>
Περίμετρος μέσης, cm	0.3 ± 5.2	-0.1 ± 2.9	NS
Γλυκόζη νηστείας, mg/dl	-2 ± 31	-11 ± 25	NS
Ινσουλίνη νηστείας, pmol/L	-0.66 ± 2.49	-2.08 ± 3.93	NS
HbA1c, %	-0.04 ± 0.70	-0.65 ± 0.72	<b>0.013</b>
GIR	5.65 ± 11.95	4.17 ± 12.45	NS
HOMA	-0.19 ± 1.10	-1.13 ± 2.45	NS
Ολική χοληστερόλη, mg/dl	14 ± 30	10 ± 22	NS
HDL χοληστερόλη, mg/dl	-2 ± 10	4 ± 12	NS
Τριγλυκερίδια, mg/dl	6 ± 39	15 ± 53	NS
LDL χοληστερόλη, mg/dl	11 ± 26	9 ± 18	NS
Μικροαλβουμίνη ούρων, mg/dL	0.88 ± 1.38	-0.75 ± 1.64	<b>0.015</b>
hs-CRP, nmol/L	0.13 ± 1.25	0.02 ± 3.17	NS
Συστολική ΑΠ, mmHg	-1 ± 20	3 ± 15	NS
Διαστολική ΑΠ, mmHg	4 ± 8	-3 ± 8	<b>0.012</b>
Αρχικό EDD, mm	0.007 ± 0.018	-0.009 ± 0.031	<b>0.08</b>
Απόλυτο Δ στο EDD με την υπεραιμία, mm	-0.004 ± 0.003	0.007 ± 0.006	<b>0.0001</b>
% Δ στο EDD με την υπεραιμία -FMD	-0.065 ± 0.790	1.794 ± 1.371	<b>0.00003</b>
Απόλυτο Δ στο EDD με GTN, mm	0.001 ± 0.020	0.001 ± 0.013	NS
% Δ στο EDD με GTN-NMD	0.243 ± 4.164	0.285 ± 3.043	NS
% Δ στη ροή με την υπεραιμία	121 ± 325	98 ± 270	NS

### 7.3.3 Συζήτηση

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν ότι η προσθήκη πιογλιταζόνης σε ασθενείς με μακροχρόνιο ΣΔ2 που ελάμβαναν διπλή θεραπεία με σουλφονυλουρία και μετφορμίνη βελτίωσε σημαντικά την ενδοθηλιακή λειτουργία των ασθενών αυτών. Η βελτίωση του FMD σχετίστηκε με τη θεραπεία με πιογλιταζόνη και με το ύψος του FMD κατά την αρχική εξέταση.

Οι καρδιαγγειακές δράσεις της πιογλιταζόνης έχουν αναφερθεί εκτενώς σε προηγούμενες ενότητες. Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η δράση της πιογλιταζόνης στην ενδοθηλιακή λειτουργία ΣΔ2 ασθενών με μεγαλύτερη διάρκεια διαβήτη σε σχέση με τις προηγούμενες

μελέτες της ομάδας μας, οι οποίοι επιπλέον ελάμβαναν τον αμφιλεγόμενης καρδιαγγειακής ασφάλειας συνδυασμό με σουλφονουλουρία και μετφορμίνη. Πράγματι, τα προηγούμενα χρόνια υπήρξε μεγάλη αντιλογία σχετικά με τις καρδιαγγειακές επιδράσεις του συνδυασμού αυτού (Nathan 1998), που αποτελεί την πλέον συνήθη υπογλυκαιμική πολιτική σε ασθενείς που δεν ρυθμίζονται καλά με μονοθεραπεία. Νεότερες μελέτες παρατήρησης έδειξαν υψηλότερη καρδιαγγειακή θνησιμότητα σε ΣΔ2 ασθενείς που ελάμβαναν συνδυασμό σουλφονουλουρίας με μετφορμίνη, από αυτούς που έπαιρναν μόνο σουλφονουλουρία (Evans *et al.*, 2006, Fisman *et al.*, 1999 & 2001, Olsson *et al.*, 2000, UKPDS 34, 1998). Αντίθετα, άλλοι ερευνητές ανέφεραν μειωμένη καρδιαγγειακή θνησιμότητα από τον παραπάνω συνδυασμό (Johnson *et al.*, 2002 & 2005). Η επίδραση της πιογλιταζόνης στην ενδοθηλιακή λειτουργία και ίσως και την καρδιαγγειακή πρόγνωση των ασθενών αυτών δεν έχει έως τώρα ερευνηθεί. Αξίζει στο σημείο αυτό να αναφερθεί ότι οι ασθενείς αυτής της μελέτης είχαν αρκετά χαμηλότερο FMD σε σχέση με τους ασθενείς της μονοθεραπείας.

Στην παρούσα μελέτη η προσθήκη πιογλιταζίνης βελτίωσε το γλυκαιμικό έλεγχο και μείωσε την αντίσταση στην ινσουλίνη (μείωση επιπέδων ινσουλίνης νηστείας και δείκτη HOMA). Αύξησε ωστόσο σημαντικά την LDL και μη σημαντικά την HDL χοληστερόλη, ενώ παρουσίασε και μία τάση μείωσης των τριγλυκεριδίων. Η μη σημαντική βελτίωση της HDL χοληστερόλης θα μπορούσε να οφείλεται στο γεγονός ότι ο πληθυσμός της μελέτης είχε αυξημένες τιμές HDL ήδη από τον αρχικό έλεγχο. Οι ασθενείς μας αποτελούνταν κυρίως από γυναίκες, που φαίνεται ότι έχουν υψηλότερες τιμές HDL χοληστερόλης από τους άντρες (NCEP 2001), κυρίως μη καπνίστριες, οι οποίες ελάμβαναν επιπλέον στατίνη. Ακόμη, η διάρκεια της μελέτης ίσως να μην ήταν αρκετή για την ανίχνευση της επίδρασης της πιογλιταζόνης στις λιπιδαιμικές παραμέτρους. Η διαστολική αρτηριακή πίεση παρουσίασε ήπια μείωση από την πιογλιταζόνη ( $p=0.081$ ), όπως και η μικροαλβουμινουρία εύρημα που είναι σύμφωνο και με άλλες μελέτες (Golberg 2007). Η μικροαλβουμινουρία αποτελεί πρώιμο δείκτη νεφροπάθειας (Molitch *et al.*, 2001) και έχει συσχετιστεί με ευρεία ενδοθηλιακή βλάβη, καρδιαγγειακή επιβάρυνση και αυξημένη θνησιμότητα σε ΣΔ2 ασθενείς (Golberg 2007, Gosling 1998). Τέλος, η παρούσα μελέτη δεν έδειξε σημαντική μείωση της υπερευαίσθητης CRP από την πιογλιταζόνη.

Στην ομάδα A, παρά τη μικρή αύξηση της δόσης της σουλφονουλουρίας δεν παρατηρήθηκε σημαντική αλλαγή στη HbA1c, ούτε σε καμία από υπόλοιπες μεταβλητές της μελέτης. Σημειώθηκε ωστόσο μία μη σημαντική αύξηση στη διαστολική αρτηριακή πίεση και τη μικροαλβουμινουρία.



Η σύγκριση των απόλυτων αλλαγών στον επανέλεγχο μεταξύ των δύο ομάδων ανέδειξε σημαντικές διαφορές στη HbA1c, τη διαστολική αρτηριακή πίεση, τη μικροαλβουμινουρία και το FMD. Ωστόσο, ως ισχυρές συσχετίσεις της βελτίωσης του FMD βρέθηκαν να είναι μόνο η θεραπεία με πιογλιταζόνη και το αρχικό FMD. Τα ευρήματα αυτά είναι σε συμφωνία και με άλλους ερευνητές, οι οποίοι έδειξαν ότι η πιογλιταζόνη πιθανώς έχει άμεση ευνοϊκή δράση στην ενδοθηλιακή λειτουργία (Calnek *et al.*,2003, Martens *et al.*,2005, Sourij *et al.*,2006). Επιπλέον, έχει επίσης αναφερθεί ότι το FMD καθορίζεται εν μέρει από τη βαρύτητα της προισχαιμικής αγγειοδιαστολής και την αγγειακή διάμετρο (Deanfield *et al.*,2007, Mitchell *et al.*, 2005).

### **Περιορισμοί**

Για την παρούσα μελέτη ισχύουν οι περιορισμοί που προαναφέρθηκαν.

Συμπερασματικά, η προσθήκη πιογλιταζόνης για 6 μήνες σε ασθενείς με ΣΔ2 που ήταν σε διπλή αγωγή με σουλφονουλουρία και μετφορμίνη, η οποία έχει αμφίβολη καρδιαγγειακή ασφάλεια, βελτίωσε την ενδοθηλιακή λειτουργία των ασθενών αυτών ανεξάρτητα από την βελτίωση του γλυκαιμικού ελέγχου ή τη μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη. Η ευνοϊκή αυτή επίδραση στην ενδοθηλιακή λειτουργία των παραπάνω ασθενών φάνηκε να είναι ανεξάρτητο αποτέλεσμα της πιογλιταζόνης.

Περαιτέρω έρευνα απαιτείται προκειμένου να διαπιστωθεί αν η βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας σε αυτή την κατηγορία των ασθενών με ΣΔ2 μεταφράζεται σε βελτίωση και της καρδιαγγειακής πρόγνωσης.

## **7.4 Μελέτη Δ: Η ροζιγλιταζόνη βελτιώνει την ενδοθηλιακή λειτουργία ασθενών με ΣΔ2 που είναι σε ινσουλινοθεραπεία.**

Η ροζιγλιταζόνη ανήκει στην ομάδα των γλιταζονών ή TZDs και βελτιώνει το γλυκαιμικό έλεγχο μέσω της μείωσης της αντίστασης στην ινσουλίνη. Μελέτες έχουν δείξει ότι η ροζιγλιταζόνη βελτιώνει επίσης την ενδοθηλιακή λειτουργία ασθενών με ΣΔ2 (Natali *et al.*,2004, Pistrosch *et al.*,2004, Kelly *et al.*,2010) και μη διαβητικών πληθυσμών με αντίσταση στην ινσουλίνη (μεταβολικό σύνδρομο και σύνδρομο πολυκυστικών ωοθηκών), (Bahia *et al.*,2007, Tarkun *et al.*,2005, Wang *et al.*,2006), δείχνοντας πιθανό όφελος στην καρδιαγγειακή πρόγνωση (Dandona *et al.*,2008). Ωστόσο, πρόσφατες μετα-αναλύσεις έδειξαν αυξημένη επίπτωση εμφράγματος του μυοκαρδίου από τη θεραπεία με ροζιγλιταζόνη, ιδιαίτερα σε ασθενείς με ΣΔ2 υπό ινσουλινοθεραπεία (Nissen *et al.*,2010, Singh *et al.*,2009). Η δράση της ροζιγλιταζόνης στην αγγειακή λειτουργία αυτής της ομάδας ασθενών με ΣΔ2 δεν έχει έως τώρα μελετηθεί.

Ο κύριος στόχος της παρούσας μελέτης ήταν η εκτίμηση της δράσης της ροζιγλιταζόνης στην ενδοθηλιακή λειτουργία ασθενών με προχωρημένο ΣΔ2, που ήταν σε θεραπεία με ινσουλίνη. Οι αλλαγές σε διάφορες μεταβολικές παραμέτρους καθώς και στην υπερευαίσθητη CRP (hs-CRP) επίσης ελέγχθηκαν.

### **7.4.1 Υλικό και μέθοδοι**

#### **7.4.1.1 Πληθυσμός μελέτης**

34 ασθενείς με ΣΔ2 που ελάμβαναν χρονίως ινσουλίνη συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη. Στα κριτήρια εισόδου ανήκαν:

1. ΣΔ2 ασθενείς που ελάμβαναν μόνο ινσουλίνη για τουλάχιστο ένα έτος πριν από τη μελέτη.
2. HbA<sub>1C</sub> >7.0%
3. Μέση ημερήσια δόση ινσουλίνης  $\geq 30$  αλλά <100 IU.
4. Φυσιολογική ηπατική και νεφρική λειτουργία.

Τα κριτήρια αποκλεισμού περιλάμβαναν τις προϋποθέσεις που εφαρμόστηκαν και στις προηγούμενες μελέτες.

#### 7.4.1.2 Σχεδιασμός μελέτης

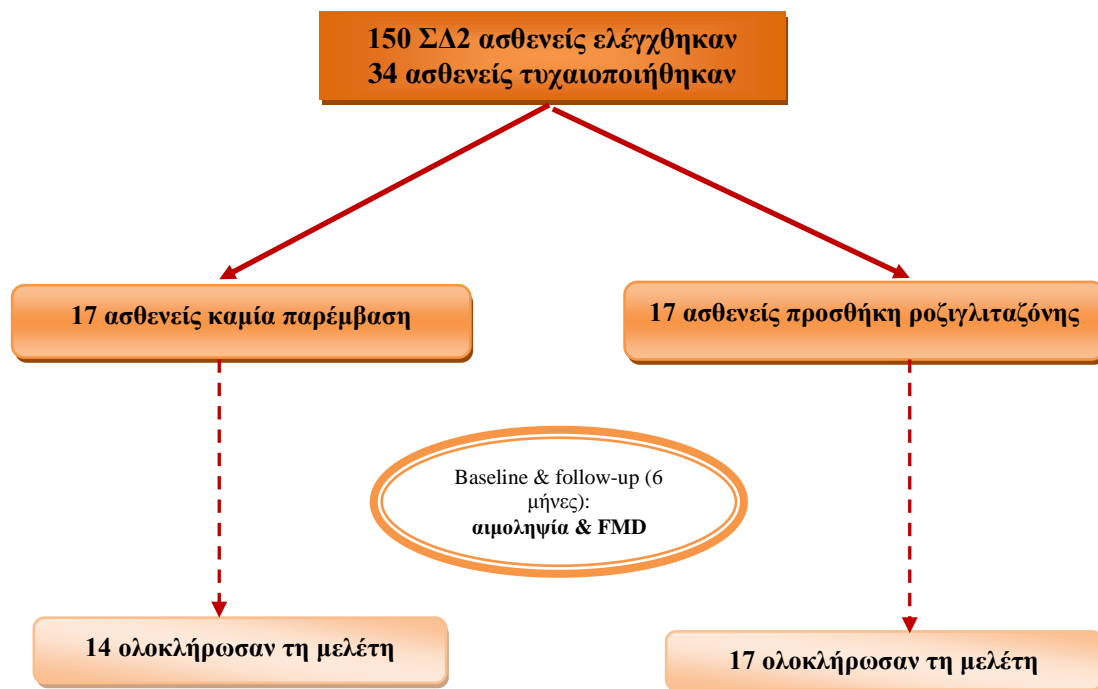
Πρόκειται για μία ανοιχτή, τυχαιοποιημένη μελέτη εκτίμησης της ενδοθηλιακής λειτουργίας ασθενών με ΣΔ2 που ήταν ήδη σε θεραπεία με ινσουλίνη (ισοφανική ή προγεμισμένη σύριγγα με μείγμα ινσουλινών), όταν ροζιγλιταζίνη προστέθηκε στη θεραπεία τους για 6 μήνες σε σύγκριση με ασθενείς που δεν έλαβαν ροζιγλιταζίνη.

Η επιλογή των ασθενών έγινε σύμφωνα με τις ήδη περιγραφείσες διαδικασίες. 150 ασθενείς υπό ινσουλινοθεραπεία ελέγχθηκαν, ενώ μόνο οι 34 πληρούσαν τα κριτήρια εισόδου στη μελέτη και έδωσαν γραπτή συγκατάθεση. Αυτοί τυχαιοποιήθηκαν σε δύο ομάδες, με βάση τη σειρά προσέλευσής τους στα τακτικά εξωτερικά Ενδοκρινολογικά ιατρεία (κατανομή 1:1), ως εξής: καμία αγωγή δεν προστέθηκε στην ομάδα Α (N=17), ενώ ροζιγλιταζίνη (4 mg od) προστέθηκε στην ομάδα Β (N=17). Αν και η συνήθης δόση της ροζιγλιταζίνης στους ασθενείς με ΣΔ2 είναι 8 mg/ημέρα, στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε μικρότερη δόση, προκειμένου να αποφευχθεί κατακράτηση υγρών.

#### Μεθοδολογία

Στη συνέχεια ακολουθήθηκαν οι προαναφερθείσες διαδικασίες λήψης ιστορικού, δημογραφικών και σωματομετρικών στοιχείων, πλήρους κλινικής εξέτασης, αιμοληψίας και διενέργειας FMD, που επαναλήφθηκαν και στο τέλος των 6 μηνών.

Στην εικόνα 7.5 απεικονίζεται το διάγραμμα ροής της μελέτης Δ.



Εικόνα 7.5. Διάγραμμα ροής της μελέτης Δ.

### 7.4.2 Αποτελέσματα

3 ασθενείς από την ομάδα A αποσύρθηκαν από τη μελέτη λόγω προσθήκης στατίνης στην αγωγή τους από εξωτερικό ιατρό κατά τη διάρκεια της μελέτης. Οι υπόλοιποι 31 ασθενείς ολοκλήρωσαν τη μελέτη.

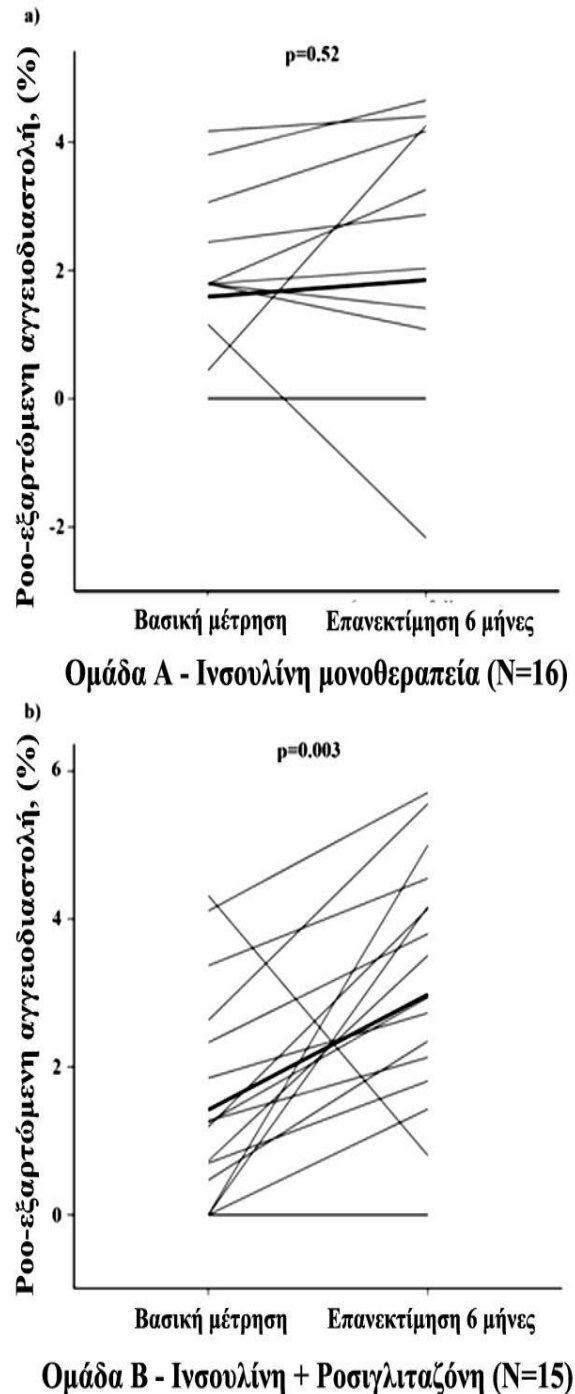
Δεν σημειώθηκαν σοβαρές παρενέργειες από τις αγωγές. Ήπιο οίδημα σφυρών παρατηρήθηκε σε 3 ασθενείς της ομάδας B, που όμως δεν οδήγησε σε διακοπή της ροζιγλιταζόνης. Επίσης, κανένας από τους ασθενείς της ομάδας B δεν παρουσίασε σημαντική υπογλυκαιμία. Ωστόσο, σε δύο από τους ασθενείς της ομάδας B χρειάστηκε να γίνει μικρή μείωση στη δόση της ινσουλίνης, λόγω οριακά χαμηλών τιμών γλυκόζης. Η δόση της ινσουλίνης έμεινε σταθερή στους ασθενείς της ομάδας A. Η προσθήκη ροζιγλιταζόνης δεν συνοδεύτηκε από αύξηση των ηπατικών ενζύμων.

Τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των 31 ασθενών που ολοκλήρωσαν τη μελέτη φαίνονται στον πίνακα 7.9. Οι δύο ομάδες αποτελούνταν κυρίως από γυναίκες (71.4% και 82.4% στις ομάδες A και B αντίστοιχα,  $p=ns$ ) και δεν διέφεραν σε καμία μελετώμενη παράμετρο, συμπεριλαμβανομένου του FMD ( $1.59 \pm 1.42\%$  έναντι  $1.42 \pm 1.46\%$  στις ομάδες A και B αντίστοιχα,  $p=ns$ ) κατά την αρχική εκτίμηση (Πίνακες 7.9 και 7.10). Όλες οι γυναίκες που συμμετείχαν στη μελέτη ήταν εμμηνοπαυσιακές, ενώ δεν ελάμβαναν θεραπεία υποκατάστασης.

Πίνακας 7.9. Αρχικά δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των 2 ομάδων.			
	Ομάδα A N=14 Χωρίς προσθήκη άλλης αγωγής	Ομάδα B n= 17	Τιμή P
Ηλικία, έτη	67.3 ± 6.4	64.7 ± 7.6	0.32
Θήλυ φύλο, n (%)	10 (71.4)	14 (82.4)	0.67
Υπερτασικοί, n (%)	13 (92.9)	16 (94.1)	1.00
Δυσλιπιδαιμικοί, n (%)	11 (78.6)	11 (64.7)	0.46
Καπνιστές, n (%)	5 (35.7)	4 (23.5)	0.69
Διάρκεια ΣΔ2, έτη	17.1 ± 6.2	20.1 ± 8.3	0.29
Μέση δόση ινσουλίνης, μονάδες	47.1 ± 17.0 (46)	48.4 ± 18.3 (42)	0.84
Αντιυπερτασική αγωγή, n (%)	11 (78.6)	15 (88.2)	0.64
Στατίνες, n (%)	7 (50.0)	7 (41.2)	0.73
Αντιαιμοπεταλιακά, n (%)	7 (50.0)	8 (47.1)	1.00
Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέση τιμή±τυπική απόκλιση, αλλιώς αναφέρονται			

Οι φυσικές, εργαστηριακές και αγγειακές παράμετροι των δύο ομάδων στον αρχικό έλεγχο και τον επανέλεγχο στους 6 μήνες φαίνονται στον πίνακα 7.10. Στους 6 μήνες, δεν σημειώθηκε καμία σημαντική αλλαγή σε οποιαδήποτε από τις μετρούμενες παραμέτρους της ομάδας A, συμπεριλαμβανομένου και του FMD (εικόνα 7.6 α). Μία μη σημαντική τάση προς μείωση της διαστολικής αρτηριακής πίεσης σημειώθηκε σε αυτή την ομάδα. Στην ομάδα B, η θεραπεία με ροζιγλιταζόνη προκάλεσε σημαντική βελτίωση στον γλυκαιμικό έλεγχο [μείωσε τη HbA<sub>1c</sub> (p=0.0004) και τη γλυκόζη νηστείας (p=0.029)] και μία σημαντική βελτίωση στο FMD (p=0.003), (εικόνα 7.6b). Μία μη σημαντική τάση προς μείωση της hs-CRP και της διαστολικής αρτηριακής πίεσης παρατηρήθηκε επίσης από τη θεραπεία με ροζιγλιταζόνη (p=0.07 και για τα δύο). Επιπλέον, η στατιστική ανάλυση με RM ANOVA έδειξε ότι σε σύγκριση με τους ασθενείς της ομάδας A, η προσθήκη της ροζιγλιταζόνης στην ομάδα B μείωσε σημαντικά τη HbA<sub>1c</sub> (p=0.001) και τη γλυκόζη νηστείας (p=0.024) και αύξησε το FMD (p=0.047).

Οι απόλυτες αλλαγές του FMD στο τέλος της 6μηνιαίας μελέτης και για το σύνολο των 31 ασθενών συσχετίστηκε με τις εξής παραμέτρους για επίπεδο p<0.1: τη θεραπεία με ροζιγλιταζόνη έναντι της μη παρέμβασης στη θεραπεία (r=0.487, p=0.005), τη χρήση οποιασδήποτε αντιυπερτασικής αγωγής (r=0.305, p=0.095) και τις αλλαγές στην ολική χοληστερόλη κατά τον επανέλεγχο (r=0.318, p=0.081). Η ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης έδειξε ότι ο



**Εικόνα 7.6.** Αλλαγές στο FMD ΣΔ2 ασθενών υπό ινσουλινοθεραπεία μόνο (a) και ινσουλίνη με ροζιγλιταζόνη (b), για 6 μήνες. Οι πλάγιες γραμμές παριστούν τις αλλαγές στις μέσες τιμές του FMD εντός κάθε ομάδας στον επανέλεγχο μετά από 6 μήνες.

μόνος ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας της βελτίωσης του FMD ήταν η θεραπεία με ροζιλιταζόνη [ $R^2$  0.129, slope: 1.285 (95% CI: 0.014, 2.556),  $p=0.048$ ].

Πίνακας 7.10. Φυσικές, εργαστηριακές και αγγειακές μετρήσεις των 2 ομάδων στο αρχικό σημείο της μελέτης και τον επανέλεγχο μετά από 6 μήνες.							
	Ομάδα Α n=14			Ομάδα Β n=17			RM ANOVA
	Αρχικό σημείο μελέτης	Επανέλεγχος	P	Αρχικό σημείο μελέτης	Επανέλεγχος	P	P
ΔΜΣ, kg/m <sup>2</sup>	29.0±4.0	28.8±4.6	0.28	28.8±3.9	29.6±4.5	0.20	0.15
Περίμετρος μέσης, cm	104.8±6.7	104.4±8.7	0.62	104.9±9.9	103.9±10.8	0.38	0.64
Γλυκόζη νηστείας, mmol/L	10.8±4.0	11.8±4.5	0.33	10.3±3.5	8.0±3.4	<b>0.029</b>	<b>0.024</b>
HbA <sub>1c</sub> , %	8.8±1.0	9.1±1.4	0.32	8.8±1.1	7.8±1.0	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.001</b>
Ολική χοληστερόλη, mmol/L	5.6±1.1	5.6±1.4	0.94	5.6±1.1	5.7±1.2	0.71	0.76
HDL-c, mmol/L	1.3±0.4	1.3±0.4	0.75	1.5±0.5	1.5±0.4	0.91	0.97
Τριγλυκερίδια, mmol/L	1.7±0.7	1.8±0.5	0.43	1.6±1.0	1.8±1.0	0.15	0.45
LDL-c, mmol/L	3.5±0.9	3.5±1.2	0.79	3.4±0.9	3.3±1.0	0.84	0.93
hs-CRP, nmol/L	232±133	225±119	0.74	210±175	159±124	0.07	0.15
Συστολική ΑΠ, mmHg	150±14	148±14	0.55	149±13	148±13	0.87	0.78
Διαστολική ΑΠ, mmHg	78±7	73±13	0.07	78±8	73±7	0.07	0.95
Αρχικό EDD, mm	4.14±0.72	4.14±0.52	0.99	4.16±0.53	4.06±0.06	0.19	0.31
FMD (%)	1.59±1.42	1.85±2.13	0.52	1.42±1.46	2.98±1.80	<b>0.003</b>	<b>0.047</b>
NMD (%)	8.57±1.13	8.25±2.34	0.62	8.37±3.08	8.53±4.03	0.99	0.74
% Δ στη ροή με υπεραιμία	247±144	306±177	0.16	270±130	356±241	0.18	0.91

Τα δεδομένα εκφράζονται ως μέση τιμή±τυπική απόκλιση. P=NS για τη σύγκριση μεταξύ των δύο ομάδων στο αρχικό σημείο της μελέτης.

### 7.4.3 Συζήτηση

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν ότι η χορήγηση μικρής δόσης ροζιγλιταζόνης για 6 μήνες σε ασθενείς με προχωρημένο ΣΔ2 που ελάμβαναν ινσουλίνη βελτίωσε σημαντικά την ενδοθηλιακή λειτουργία και τον γλυκαιμικό έλεγχο. Η θεραπεία με τη ροζιγλιταζόνη αναδείχτηκε ως ο μόνος ανεξάρτητος παράγοντας της βελτίωσης της ενδοθηλιακής λειτουργίας του πληθυσμού της μελέτης.

Η προσθήκη της ροζιγλιταζόνης στη θεραπεία των ΣΔ2 ασθενών που ήταν ήδη σε ινσουλίνη προκάλεσε σημαντική αύξηση στο FMD, σχεδόν στο διπλάσιο σε σχέση με την αρχική μέτρηση. Σε συμφωνία με τα δικά μας ευρήματα, προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι η ροζιγλιταζόνη βελτίωσε την ενδοθηλιακή λειτουργία ασθενών με ΣΔ2 πρόσφατης έναρξης που ελάμβαναν αντιδιαβητικά δισκία (Natali *et al.*,2004, Pistrosch *et al.*,2004, Kelly *et al.*,2010), καθώς και σε άλλες ομάδες ασθενών με αντίσταση στην ινσουλίνη (Bahia *et al.*,2007, Tarkun *et al.*,2005, Wang *et al.*,2006). Η παρούσα μελέτη ήταν η πρώτη που εκτίμησε την επίδραση της ροζιγλιταζόνης στην ενδοθηλιακή λειτουργία ασθενών με προχωρημένο ΣΔ2 που ελάμβαναν ινσουλίνη, αν και παλαιότερες μελέτες με προσθήκη ροζιγλιταζόνης σε ινσουλινοθεραπευόμενους ΣΔ2 ασθενείς έδειξαν επίσης βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας (Asnani *et al.*,2006, Fernandez, *et al.*,2008). Η χαμηλή δόση ροζιγλιταζόνης που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη (4 mg/ημέρα) είχε βελτιώσει παλαιότερα την ενδοθηλιακή λειτουργία μόνο μη διαβητικών πληθυσμών (Tarkun *et al.*,2005, Wang *et al.*,2006). Σε ασθενείς με ΣΔ2, βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας έχει δείξει με τη συνήθη δόση των 8 mg/ημέρα ροζιγλιταζόνης (Bahia *et al.*,2007, Natali *et al.*,2004, Pistrosch *et al.*,2004, Kelly *et al.*,2010), ενώ μελέτες με τη χαμηλή δόση δεν έχουν έως τώρα διεξαχθεί στους ασθενείς αυτούς.

Παρά τις ευνοϊκές ενδοθηλιακές δράσεις της ροζιγλιταζόνης που αναδείχτηκαν στην παρούσα μελέτη, πρόσφατες μετα-αναλύσεις ανέφεραν σημαντική αύξηση του κινδύνου εμφράγματος του μυοκαρδίου και μία οριακά σημαντική αύξηση καρδιαγγειακού θανάτου ΣΔ2 ασθενών που ελάμβαναν ροζιγλιταζόνη και ιδιαίτερα αυτών υπό ταυτόχρονη ινσουλινοθεραπεία (Nissen *et al.*,2010, Singh *et al.*,2009). Πρέπει ωστόσο να σημειωθεί ότι οι περισσότερες από τις μελέτες που συμπεριλήφθηκαν στις μετα-αναλύσεις χρησιμοποίησαν 8 mg/ημέρα ροζιγλιταζόνης, σε αντίθεση με τη μικρή δόση ροζιγλιταζόνης που χρησιμοποιήθηκε στη μελέτη μας. Επιπλέον, αν και η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, εκφραζόμενη ως μειωμένο FMD, έχει συσχετιστεί με την ύπαρξη παραγόντων

καρδιαγγειακού κινδύνου (Corretti *et al.*,2002, Davignon & Ganz,2004) και δυσμενή καρδιαγγειακή πρόγνωση (Shimbo *et al.*,2007), περιορισμένος αριθμός μελετών έως τώρα έχει δείξει ότι η βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας με διάφορες θεραπευτικές παρεμβάσεις θα μπορούσε να μεταφραστεί σε παράλληλη βελτίωση της καρδιαγγειακής πρόγνωσης (Bechlioulis *et al.*,2009, Modena *et al.*, 2002).

Στην παρούσα μελέτη το FMD των ασθενών και των δύο ομάδων ήταν από την αρχή πολύ χαμηλό (1.59 και 1.43% για τις ομάδες A και B, αντίστοιχα), ενώ παρέμεινε σε χαμηλά επίπεδα ακόμη και μετά τη θεραπεία με τη ροζιγλιταζόνη (2.98%), εύρημα που υποδηλώνει βαριά ενδοθηλιακή δυσλειτουργία σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες (Shimbo *et al.*,2007). Η σοβαρή ενδοθηλιακή δυσλειτουργία των ασθενών αυτών πιθανώς να οφείλεται σε συνδυασμό παραγόντων, όπως τη μεγάλη διάρκεια του ΣΔ2, τον κακό γλυκαιμικό έλεγχο, τη μη ρυθμιζόμενη δυσλιπιδαιμία και υπέρταση αλλά και την ίδια τη χορήγηση εξωγενούς ινσουλίνης, οι αγγειακές δράσεις της οποίας είναι επίσης αμφιλεγόμενες (Gaenze *et al*, 2002, Muis *et al.*, 2005, Vehkavaara & Yki-Jarvinen, 2004). Επιπλέον, οι περισσότερες μελέτες επίδρασης της ροζιγλιταζόνης στο CIMT (Hedblad *et al*,2007, Stocker *et al*,2007, Varghese *et al*,2009), που αποτελεί δείκτη υποκλινικής δομικής αθηροσκλήρωσης, καθώς και τη στεφανιαία αθηροσκλήρωση (εκτιμώμενη με IVUS) ασθενών με ΣΔ2 (Gerstein *et al*, 2010), δεν έδειξαν ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Επομένως, μία μικρή σχετικά βελτίωση ενός βαριά επηρεασμένου FMD, που επιτυγχάνεται με μικρή δόση ροζιγλιταζόνης χωρίς παράλληλο έλεγχο των υπόλοιπων παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου ίσως να μην είναι αρκετή για βελτίωση της καρδιαγγειακής πρόγνωσης σε ασθενείς με προχωρημένο ΣΔ2.

Αναφορικά με τη δράση της ροζιγλιταζόνης στις μελετώμενες μεταβολικές παραμέτρους, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση στη γλυκόζη νηστείας και τη HbA<sub>1c</sub>, όπως ήταν αναμενόμενο (Buch *et al.*, 2002). Δεν σημειώθηκαν ωστόσο σημαντικές διαφορές στα λιπίδια, αν και έχει αναφερθεί αύξηση της HDL-C, LDL-C και τριγλυκεριδίων από τη ροζιγλιταζόνη (Mukhtar & Reckless, 2005), που θεωρήθηκε εν μέρει υπεύθυνη για τη δυσμενή επίδραση του παράγοντα αυτού στην καρδιαγγειακή πρόγνωση (Doggrell 2008, Mukhtar & Reckless, 2005). Η διαστολική αρτηριακή πίεση έδειξε μία μη σημαντική τάση για μείωση και στις δύο ομάδες (p=0.07). Προηγούμενες μελέτες είχαν επίσης δείξει ήπια μείωση στην αρτηριακή πίεση, ειδικά τη συστολική από τη ροζιγλιταζόνη (Doggrell 2008, Natali *et al.*, 2004). Μη σημαντική τάση για μείωση φάνηκε επίσης για τη hs-CRP από τη ροζιγλιταζόνη, χωρίς όμως να φτάσει στατιστική σημαντικότητα (p=0.07). Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι η ροζιγλιταζόνη μείωσε δείκτες φλεγμονής και αθηροσκλήρωσης, όπως η CRP, η E-selectin, το ινωδογόνο και το μόριο sCD40L (Kelly *et al.*,2007, Marx *et al.*, 2003,



Sidhu *et al.*, 2003, Wang *et al.*, 2010), πιθανώς ανεξάρτητα από τις μεταβολικές της δράσεις (Marx *et al.*, 2003), υποδεικνύοντας άμεση αντιφλεγμονώδη και ίσως αντιαθηρωγόνο δράση.

Η παρούσα μελέτη έδειξε ότι ο μόνος ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας της βελτίωσης του FMD ήταν η θεραπεία με ροζιγλιταζόνη. Ωστόσο, το μοντέλο μας μπορούσε να εξηγήσει μόνο το 13% της παρατηρούμενης διακύμανσης της αλλαγής του FMD. Σε συμφωνία με τα δικά μας ευρήματα, έχει προηγουμένως περιγραφεί ότι η βελτίωση του FMD είναι ανεξάρτητη από τη βελτίωση του γλυκαιμικού ελέγχου (Natali *et al.*, 2004, Pistrosch, *et al.*, 2004) και της μείωσης της hs-CRP σε ΣΔ2 ασθενείς (Kelly *et al.*, 2007). Η ροζιγλιταζόνη μπορεί να έχει επίσης προστατευτική δράση στην ενδοθηλιακή λειτουργία τόσο απευθείας, όσο και μέσω της μείωσης της αντίστασης στην ινσουλίνη. Ωστόσο, η παράμετρος αυτή δεν εκτιμήθηκε στην παρούσα μελέτη.

### **Περιορισμοί**

Ισχύουν αυτοί που αναφέρθηκαν στις προηγούμενες μελέτες. Επιπλέον, η παρούσα μελέτη δεν είχε την απαιτούμενη στατιστική ισχύ ανίχνευσης μικρών αλλαγών στις μεταβολικές παραμέτρους και τη hs-CRP εξαιτίας του σχετικά μικρού αριθμού των ασθενών. Ωστόσο, οι παράμετροι αυτές δεν συμπεριλαμβάνονταν στα κύρια καταληκτικά σημεία της μελέτης. Ακόμη, οι κοινοί δείκτες αντίστασης στην ινσουλίνη δεν εκτιμήθηκαν, διότι οι ασθενείς ελάμβαναν εξωγενή ινσουλίνη.

Συμπερασματικά, η προσθήκη μικρής δόσης ροζιγλιταζόνης για 6 μήνες σε ασθενείς με προχωρημένο ΣΔ2 που ελάμβαναν ινσουλίνη είχε ευνοϊκή επίδραση στην ενδοθηλιακή λειτουργία. Η προγνωστική αξία της βελτίωσης του FMD από τη ροζιγλιταζόνη σε αυτούς τους ασθενείς είναι άγνωστη, εξαιτίας της πρόσφατα αναδειχθείσας αύξησης του καρδιαγγειακού κινδύνου από τη ροζιγλιταζόνη ειδικά σε αυτή την κατηγορία ΣΔ2 ασθενών.

Περαιτέρω έρευνα απαιτείται προκειμένου να εξακριβωθούν οι μηχανισμοί βελτίωσης της ενδοθηλιακής λειτουργίας και για ποιους λόγους αυτή δεν μεταφράζεται σε βελτίωση της καρδιαγγειακής πρόγνωσης στη συγκεκριμένη ομάδα ΣΔ2 ασθενών.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8<sup>ο</sup>

### ΜΕΛΕΤΗ ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΤΗΣ ΑΓΓΕΙΑΚΗΣ

### ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΣΔ2. ΑΝΑΛΥΣΗ

### ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ.

Ο ΣΔ2 αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα καρδιαγγειακού κινδύνου (Engelgau *et al.*, 2004), που οφείλεται κυρίως στην πρόιμη εγκατάσταση εκτεταμένων αθηροσκληρωτικών βλαβών (Scholte *et al.*, 2008). Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, η δυσλειτουργία των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων (ΑΛΜΚ) και η σκληρότητα των μεγάλων αρτηριών θεωρούνται δείκτες υποκλινικής αθηροσκλήρωσης με σημαντική προγνωστική αξία σε ασθενείς υψηλού κινδύνου (Neunteufl *et al.*,2000, Gokce *et al.*,2003, Chan *et al.*,2003, Schachinger *et al.*,2000, Kullo *et al.*,2007, Nurnberger *et al.*,2002, Weber *et al.*,2004, Blacher *et al.*,1999, Boutouyrie *et al.*, 2002, Hatsuda *et al.*,2006, Cruickshank *et al.*,2002, Laurent *et al.*,2001). Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, που εκτιμάται ως μειωμένο FMD της βραχιόνιας αρτηρίας και η αυξημένη αρτηριακή σκληρότητα, που υπολογίζεται από την ταχύτητα μετάδοσης του αορτικού σφυγμικού κύματος (pulse wave velocity, PWV), (Lukich *et al.*,2010, Vyssoulis *et al.*,2011, Cruickshank *et al.*,2002, Zhang *et al.*, 2011), εμφανίζονται νωρίς στους ασθενείς με ΣΔ2. Αν και κατά πόσο η λειτουργία των ΑΛΜΚ, που εκτιμάται από την μη ενδοθηλιο-εξαρτώμενη, νιτρωδο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή της βραχιόνιας αρτηρίας (nitrate mediated dilation - NMD) είναι επίσης επηρεασμένη στους ασθενείς με ΣΔ2 έχει επίσης ερωτηθεί σε προηγούμενες μελέτες (Goodfellow *et al.*,1996, Tan *et al.* 2002, Watts *et al.*,1996, Mc Veigh *et al.*,1992, Tsuchiya *et al.*,2007, Su *et al.*,2008, Henry *et al.*,2005).

Οι αιτιοπαθογενετικοί μηχανισμοί της αγγειακής δυσλειτουργίας στους ΣΔ2 ασθενείς φαίνεται ότι είναι σύνθετοι. Οι κλασικοί παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου (υπέρταση, δυσλιπιδαιμία, κάπνισμα) παίζουν πιθανώς κάποιο ρόλο, ενώ οι σχετιζόμενες με το διαβήτη παράμετροι, όπως η υπεργλυκαιμία, η αντίσταση στην ινσουλίνη, η παχυσαρκία και η φλεγμονή μπορεί επίσης να συντελούν στη διαταραχή των δεικτών αγγειακής λειτουργίας

στους ΣΔ2 ασθενείς. Η σχετική σημασία αυτών των παραγόντων κινδύνου στην επαγωγή της αγγειακής δυσλειτουργίας στους ασθενείς με ΣΔ2 δεν έχει έως τώρα μελετηθεί.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η ανίχνευση των προγνωστικών παραγόντων αγγειακής δυσλειτουργίας, όπως εκτιμήθηκε με FMD, NMD και PWV σε ασθενείς με ΣΔ2 χωρίς γνωστή μακροαγγειακή ή μικροαγγειακή νόσο.

## **8.1 Υλικό και μέθοδοι**

### **8.1.1 Πληθυσμός μελέτης**

Το δείγμα της παρούσας μελέτης αποτελέστηκε από 165 ασθενείς με ΣΔ2, οι οποίοι παρακολουθούνται στα εξωτερικά Ενδοκρινολογικά ιατρεία του Πανεπιστημιακού και Γενικού Νοσοκομείου Χατζηκόστα Ιωαννίνων. Το μεγαλύτερο ποσοστό του δείγματος περιέλαβε ασθενείς των προηγούμενων μελετών, στους οποίους διενεργήθηκε κατά την αρχική εκτίμηση, εκτός του FMD και μέτρηση του PWV, πριν από οποιαδήποτε θεραπευτική παρέμβαση. Ωστόσο, η συλλογή των ασθενών συνεχίστηκε περαιτέρω, προκειμένου να επιτευχθεί ο επιθυμητός αριθμός.

Τα άτομα που επιλέχθηκαν ήταν ασθενείς με ΣΔ2 ηλικίας μεταξύ 40 και 80 ετών, υπό αγωγή με αντιδιαβητικά δισκία (μετφορμίνη, σουλφονουρία) ή/και ινσουλίνη για τουλάχιστο 6 μήνες πριν την έναρξη της μελέτης. Κανένας από τους ασθενείς δεν ελάμβανε θιαζολιδινεδιόνη. Η διάρκεια του ΣΔ2 ορίστηκε ως ο χρόνος από τη διάγνωση του διαβήτη και επιβεβαιώθηκε από τα κλινικά αρχεία των ασθενών. Οι ασθενείς που ανέφεραν ιστορικό μακροαγγειοπάθειας (στεφανιαίας νόσου, αγγειακής εγκεφαλικής ή περιφερικής αγγειακής νόσου), μικροαγγειοπάθειας (διαβητικής αμφιβληστροειδοπάθειας, συμπτωματικής νεφροπάθειας, πρωτεинуρίας), χρόνιας καρδιακής ανεπάρκειας, ηπατικής νόσου (αύξηση τρανσαμινασών στον αρχικό έλεγχο), αναιμίας, θυρεοειδοπάθειας ή άλλης ενδοκρινικής διαταραχής αποκλείστηκαν από τη μελέτη.

Η μελέτη σχεδιάστηκε σύμφωνα με τις προβλεπόμενες διατάξεις της Διακήρυξης του Ελσίνκι και εγκρίθηκε από την Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας του Μιχαηλίδειου Καρδιολογικού Κέντρου. Όλοι οι ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη παρείχαν γραπτή συναίνεση για τη συμμετοχή τους.

### **8.1.2 Εκτίμηση των παραγόντων κινδύνου**

Σε όλους τους ασθενείς της μελέτης ελήφθη πλήρες ιατρικό ιστορικό, που περιλάμβανε επιπλέον την εκτίμηση παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου. Οι ασθενείς που κάπνιζαν κατά τη χρονική περίοδο διεξαγωγής της μελέτης ή είχαν σταματήσει το κάπνισμα τους τελευταίους 12 μήνες πριν την έναρξη της μελέτης ορίστηκαν ως καπνιστές. Ακολουθούσε διενέργεια κλινικής εξέτασης, λήψη δείγματος αίματος για τη μέτρηση των βιοχημικών και μεταβολικών παραμέτρων και στη συνέχεια εκτίμηση του FMD και του PWV, σύμφωνα με τις ήδη περιγραφείσες διαδικασίες.

### **8.1.3 Εργαστηριακές εξετάσεις**

Η μέτρηση των επιπέδων της γλυκόζης και ινσουλίνης νηστείας, της HbA<sub>1c</sub>, των λιπιδίων και της hs-CRP έγινε όπως έχει ήδη περιγραφεί. Η κρεατινίνη μετρήθηκε με ενζυμική μέθοδο. Ο ρυθμός σπειραματικής διήθησης (glomerular filtration rate, GFR) υπολογίστηκε μέσω του τύπου της Επιδημιολογικής Συνεργασίας της Χρόνιας Νεφρικής Νόσου (CKD-EPI), (ml/min/1.73m<sup>2</sup>).

### **8.1.4 Στατιστική ανάλυση**

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έγινε με το στατιστικό πακέτο SPSS (version 15.0 for Windows, SPSS Inc. Chicago, IL, USA). Τα δεδομένα περιγράφηκαν ως μέσες και τυπικές αποκλίσεις (standard deviations, SD) για τις συνεχείς μεταβλητές και ως συχνότητες και ποσοστά για τις κατηγορικές μεταβλητές. Όλες οι συνεχείς μεταβλητές στους διάφορους μελετώμενους πληθυσμούς ελέγχθηκαν ως προς την κανονική κατανομή με τη χρήση της στατιστικής δοκιμασίας Z Kolmogorov-Smirnov. Η ηλικία, η διάρκεια του ΣΔ2 και η hs-CRP δεν είχαν κανονική κατανομή. Οι μεταβλητές με μη κανονική κατανομή υπέστησαν λογαριθμική μεταβολή και στη μελέτη συσχετίσεων και παλινδρόμησης χρησιμοποιήθηκαν οι φυσικοί τους λογάριθμοι. Οι συσχετίσεις μονής μεταβλητότητας μεταξύ των FMD, NMD, PWV και των λοιπών μελετώμενων μεταβλητών εκτιμήθηκαν με τη χρήση των συντελεστών συσχέτισης Pearson's και Spearman's. Στη συνέχεια, οι μεταβλητές των οποίων η συσχέτιση με τις αγγειακές παραμέτρους έφτασε σε στατιστική σημαντικότητα ( $P < 0.05$ ) εισήλθαν σε ένα μοντέλο πολυμεταβλητής κλασματικής παλινδρόμησης (multivariate stepwise regression

model), προκειμένου να καθοριστούν οι ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες των αγγειακών παραμέτρων. Η τιμή του  $P < 0.05$  θεωρήθηκε σημαντική.

## 8.2 Αποτελέσματα

Τα χαρακτηριστικά του δείγματος της μελέτης απεικονίζονται στον πίνακα 8.1. Η μέση ηλικία των ασθενών ήταν 66 έτη και η μέση διάρκεια από τη διάγνωση του διαβήτη 10 χρόνια. Οι περισσότεροι από τους ασθενείς ήταν γυναίκες (70%), υπέρτασικοί (79%) και δυσλιπιδαιμικοί (91%) με μη ιδανική ρύθμιση της συστολικής αρτηριακής πίεσης ( $146 \pm 15$  mmHg) και της LDL-c ( $133 \pm 35$  mg/dl), ενώ το 46% ήταν παχύσαρκοι ( $BMI > 30$  kg/m<sup>2</sup>). Καλός γλυκαιμικός έλεγχος ( $HbA1c < 7\%$ ) παρατηρήθηκε μόνο στο 10% των ασθενών.

Στον πληθυσμό μας, το FMD παρουσίασε θετική συσχέτιση με το NMD ( $r 0.391$ ,  $p < 0.001$ ) (Εικόνα 8.1a), ενώ το PWV σχετίστηκε αντιστρόφως ανάλογα με το FMD ( $r -0.218$ ,  $p = 0.014$ ) (Εικόνα 8.1b) και το NMD ( $r -0.309$ ,  $p < 0.001$ ), (Εικόνα 8.1c).

**Πίνακας 8.1. Χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης  
(n=165)**

<i>Δημογραφικά</i>	
Ηλικία, έτη	66 (40, 80)
Θήλυ φύλο, n (%)	116 (70)
Χρόνος από τη διάγνωση του ΣΔ2, έτη	10 (1, 33)
Κάπνισμα, n (%)	28 (17)
Υπέρταση, n (%)	131 (79)
Αντιυπερτασική αγωγή, n (%)	109 (66)
ACE-I/ARBs	84 (51)
Ανταγωνιστές ασβεστίου	58 (35)
Διουρητικά	24 (15)
β-αναστολείς	13 (8)
Δυσλιπιδαιμία, n (%)	150 (91)
Στατίνες, n (%)	48 (29)
Αντιδιαβητική αγωγή p.os, n (%)	129 (78)
Σουλφονουλουρίες	98 (59)
Μετφορμίνη	89 (54)
Ινσουλινοθεραπεία, n (%)	36 (22)
ΔΜΣ, kg/m <sup>2</sup>	30.1±5.5

**Εργαστηριακές εξετάσεις**

Γλυκόζη νηστείας, mmol/L	9.4±2.7
HbA1c, %	8.3±1.2
Ολική χοληστερόλη, mmol/L	5.6±1.0
HDL-c, mmol/L	1.3±0.3
Τριγλυκερίδια, mmol/L	1.7±0.8
LDL-c, mmol/L	3.4±0.9
Κρεατινίνη, μmol/L	78.7±17.7
GFR, ml/min/1.73 m <sup>2</sup>	78.1±16.3
Υπερευαίσθητη-CRP, mg/l	1.84 (0.31, 9.71)
Αλβουμίνη/κρεατινίνη, mg/mmol	1.20 (0.18, 34.50)
Μικροαλβουμινουρία, n (%)	31 (19)

**Αγγειακές μετρήσεις**

Καρδιακός ρυθμός, σφύξεις/λεπτό	72±11
Συστολική ΑΠ, mmHg	146±15
Διαστολική ΑΠ, mmHg	78±7
FMD, %	1.98±1.66
NMD, %	10.09±3.84
PWV, m/sec	10.2±2.2

Οι συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέσες ± τυπικές αποκλίσεις. Για μη φυσιολογικά κατανομημένες μεταβλητές (ηλικία, χρόνος από τη διάγνωση του ΣΔ2, υπερευαίσθητη-CRP και αναλογία αλβουμίνης/κρεατινίνη), τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέσες τιμές (εύρος).

Οι σημαντικές συσχετίσεις μονής μεταβλητότητας μεταξύ των αγγειακών παραμέτρων και των άλλων μελετώμενων μεταβλητών φαίνονται στους πίνακες 8.2 (συνεχείς μεταβλητές) και 8.3 (κατηγορικές μεταβλητές). Στην ανάλυση πολλαπλής μεταβλητότητας (πίνακας 8.4), η μεγαλύτερη διάρκεια του διαβήτη βρέθηκε ως ο μόνος ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας της μείωσης του FMD ( $R^2$  0.05,  $p=0.003$ ), ενώ η αυξημένη ηλικία και η γλυκόζη νηστείας καθώς και η ύπαρξη υπέρτασης προσδιορίστηκαν ως ανεξάρτητοι προγνωστικοί παράγοντες της μείωσης του NMD ( $R^2$  0.16,  $p<0.001$ ). Η μεγαλύτερη ηλικία και η συστολική αρτηριακή πίεση σχετίστηκαν ανεξάρτητα με την αύξηση του PWV ( $R^2$  0.25,  $p<0.001$ ) (πίνακας 8.4).

Πίνακας 8.2 Συσχετίσεις μεταξύ των αγγειακών παραμέτρων (FMD, NMD και PWV) και άλλων συνεχών μεταβλητών στη μονοπαραγοντική ανάλυση.						
	FMD, %		NMD, %		PWV, m/sec	
	R	P	R	P	R	P
*Ηλικία, έτη	-0.155	<b>0.047</b>	-0.319	<b>&lt;0.001</b>	0.465	<b>&lt;0.001</b>
*Χρόνος από τη διάγνωση του ΣΔ2, έτη	-0.254	<b>0.001</b>	-0.272	<b>&lt;0.001</b>	0.254	<b>0.004</b>
ΔΜΣ, kg/m <sup>2</sup>	0.102	0.194	0.027	0.732	-0.217	<b>0.015</b>
Γλυκόζη νηστείας, mmol/L	-0.124	0.113	-0.196	<b>0.011</b>	0.024	0.793
HbA1c, %	-0.117	0.135	-0.140	0.072	0.150	0.094
Ολική χοληστερόλη, mmol/L	-0.058	0.459	0.082	0.297	-0.131	0.142
HDL-c, mmol/L	-0.101	0.197	-0.005	0.952	-0.053	0.555
Τριγλυκερίδια, mmol/L	0.028	0.724	0.066	0.397	0.034	0.702
LDL-c, mmol/L	-0.041	0.597	0.068	0.386	-0.143	0.110
GFR, ml/min/1.73 m <sup>2</sup>	0.073	0.351	0.209	<b>0.007</b>	-0.274	<b>0.002</b>
*Αλβουμίνη/κρεατινίνη, mg/mmol	-0.052	0.607	0.025	0.808	-0.013	0.907
*Υπερευαίσθητη CRP, mg/l	0.021	0.807	-0.121	0.161	0.057	0.556
Καρδιακή συχνότητα, σφύξεις/λεπτό	-0.014	0.856	-0.067	0.393	0.089	0.323
Συστολική ΑΠ, mmHg	-0.121	0.122	-0.231	<b>0.003</b>	0.305	<b>0.001</b>
Διαστολική ΑΠ, mmHg	0.022	0.777	-0.011	0.889	0.014	0.879

\* Μεταβλητές που μετατράπηκαν με φυσικό λογάριθμο.

Πίνακας 8.3 Συσχετίσεις των αγγειακών παραμέτρων (FMD, NMD και PWV) με κατηγορικές παραμέτρους.						
	FMD, %	P	NMD, %	P	PWV, m/sec	P
Φύλο						
Άρρεν, n=49	1.92±1.56		10.32±4.52		10.62±2.54	
Θήλυ, n=116	2.00±1.71	0.772	9.99±3.51	0.648	10.02±2.09	0.181
Κάπνισμα						
Yes, n=28	2.01±1.47		10.33±4.07		10.31±2.58	
No, n=137	1.97±1.70	0.900	10.04±3.80	0.720	10.16±2.18	0.793
Υπέρταση						
Yes, n=131	1.93±1.65		9.58±3.58		10.47±2.24	
No, n=34	2.14±1.73	0.528	12.05±4.19	<b>0.001</b>	9.25±1.98	<b>0.009</b>
Αντιυπερτασική αγωγή						
Yes, n=109	1.84±1.64		9.09±3.33		10.54±2.12	
No, n=56	2.24±1.68	0.143	12.03±4.05	<b>&lt;0.001</b>	9.57±2.31	<b>0.019</b>
Υπερχοληστερηναιμία						
Yes, n=150	1.94±1.65		10.03±3.86		10.19±2.24	
No, n=15	2.29±1.77	0.441	10.63±3.66	0.565	10.11±2.23	0.911



Στατίνες						
Yes, n=48	1.99±1.65		9.88±3.91		10.57±2.45	
No, n=117	1.97±1.67	0.951	10.17±3.82	0.656	10.01±2.12	0.199
Ινσουλινοθεραπεία						
Yes, n=36	1.53±1.66		8.65±3.01		11.12±2.72	
No, n=129	2.10±1.65	0.066	10.49±3.95	<b>0.004</b>	9.97±2.06	0.059

FMD: flow-mediated dilation of the brachial artery; NMD: nitrate-mediated dilation of the brachial artery; PWV: carotid-femoral pulse wave velocity.

Πίνακας 8.4 Προγνωστικοί παράγοντες των αγγειακών μετρήσεων (FMD, NMD και PWV) στην πολυπαραγοντική ανάλυση.			
		Πολυπαραγοντική ανάλυση	
		B (95% CI)	P
FMD, %	Χρόνος από τη διάγνωση του ΣΔ2, έτη*	-0.40 (-0.66, -0.14)	0.003
NMD, %	Ηλικία, έτη*	-5.66 (-9.49, -1.82)	0.004
	Υπέρταση	-1.80 (-3.25, -0.35)	0.015
	Γλυκόζη νηστείας, μmol/L	-0.36 (-0.54, -0.18)	0.005
PWV, m/sec	Ηλικία, έτη*	6.22 (3.81, 8.63)	<0.001
	Συστολική αρτηριακή πίεση, mmHg	0.03 (0.00, 0.05)	0.032

\*Μεταβλητές που μετατράπηκαν με φυσικό αλγόριθμο. Οι ανεξάρτητες μεταβλητές που συμπεριλήφθηκαν στο κλιμακωτό μοντέλο ήταν παράμετροι των οποίων οι συσχετίσεις με τις αγγειακές παραμέτρους έφτασαν στατιστική σημαντικότητα ( $P < 0.05$ ), καθώς και άλλοι παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν την ενδοθηλιακή λειτουργία και την αρτηριακή σκληρότητα (ηλικία, φύλο, καρδιακή συχνότητα, συστολική αρτηριακή πίεση και λήψη αντιυπερτασικής αγωγής).

### 8.3 Συζήτηση

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, οι δείκτες αγγειακής λειτουργίας βρέθηκαν να αλληλοσχετίζονται στους ΣΔ2 ασθενείς, γεγονός που πιθανώς να αντανακλά αλληλοεπικάλυψη των παθοφυσιολογικών μηχανισμών της αθηροσκλήρωσης σε αυτούς τους ασθενείς. Επιπρόσθετα, οι δείκτες αγγειακής λειτουργίας (FMD), λειτουργίας των ΑΛΜΚ (NMD) και σκληρότητας των μεγάλων αρτηριών (PWV) φάνηκε να μοιράζονται κοινές συσχετίσεις. Η μεγαλύτερη ηλικία, η μεγαλύτερη διάρκεια του ΣΔ2 και η θεραπεία με

ινσουλίνη συσχετίστηκαν με όλους τους δείκτες αγγειακής δυσλειτουργίας, αν και ο καθένας από τους δείκτες αυτούς φάνηκε να σχετίζεται ανεξάρτητα με ειδικές ξεχωριστές παραμέτρους.

Προηγούμενες μελέτες που συνέκριναν ΣΔ2 ασθενείς με υγιή άτομα έδειξαν ότι ο ΣΔ2 αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας (Van der Ree *et al.*,2001, De Jager *et al.*,2006, Henry *et al.*,2005). Επιπλέον, ο μεγαλύτερος κίνδυνος καρδιαγγειακής θνησιμότητας που παρατηρήθηκε στους ΣΔ2 ασθενείς αποδόθηκε κυρίως στην ενδοθηλιακή δυσλειτουργία (De Jager *et al.*,2006). Στην παρούσα μελέτη δείξαμε ότι σε ΣΔ2 ασθενείς χωρίς μικροαγγειακή ή μακροαγγειακή νόσο η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, που εκτιμήθηκε ως μειωμένο FMD, σχετίζεται ανεξάρτητα μόνο με τη διάρκεια του ΣΔ2: για κάθε 10 χρόνια διαβήτη το FMD μειώνεται περίπου κατά 1.0% (σε απόλυτες τιμές FMD). Προηγούμενες μελέτες επίσης έδειξαν σημαντικές συσχετίσεις του FMD με τη διάρκεια του ΣΔ2 (Yokoyama *et al.*,2011, Beishuizen *et al.*,2005), αν και όχι ομόφωνα (Tan 1999 *JCEM*). Επιπλέον, η μεγαλύτερη διάρκεια του διαβήτη έχει φανεί ότι αυξάνει σημαντικά τον καρδιαγγειακό κίνδυνο και την ολική θνησιμότητα, ακόμη και μετά από προσαρμογή για κλασικούς και νεότερους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου (Wannamethee *et al.*, 2011), γεγονός που υποδηλώνει ότι ίσως υπάρχει κάποια σχέση μεταξύ της διάρκειας του ΣΔ2, της επιδείνωσης της ενδοθηλιακής λειτουργίας και της καρδιαγγειακής πρόγνωσης των ασθενών αυτών. Ένα ακόμη εύρημα της παρούσας μελέτης ήταν ότι η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία στους ΣΔ2 ασθενείς δεν σχετίστηκε με την παρουσία ή τη βαρύτητα των κλασικών παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου, του γλυκαιμικού ελέγχου ή της αγγειακής φλεγμονής. Σε συμφωνία με τα ευρήματά μας και άλλες μελέτες δεν έδειξαν συσχέτιση του γλυκαιμικού ελέγχου με την αγγειακή δυσλειτουργία (Bagg *et al* 2001 *Intern Med J*, Tan *et al.*,1999). Ωστόσο, η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία έχει προηγουμένως συσχετιστεί με την παρουσία και τη βαρύτητα των καρδιαγγειακών παραγόντων κινδύνου στους ΣΔ2 ασθενείς (Yokoyama *et al.*,2011, Beishuizen *et al.*,2005, Tsuchiya *et al.*,2007), ενώ η αγγειακή φλεγμονή φαίνεται ότι επίσης παίζει κεντρικό ρόλο στην ανάπτυξη ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας (Schalkwijk, Stehouwer 2005). Πρέπει ωστόσο να σημειωθεί ότι σε σύγκριση με τις άλλες μελέτες (Yokoyama *et al.*,2011, Beishuizen *et al.*,2005, Tsuchiya *et al.*,2007), η παρούσα μελέτη συμπεριέλαβε ασθενείς με σοβαρή ενδοθηλιακή δυσλειτουργία (μέση τιμή FMD 1.98 %) και υψηλή επίπτωση συνυπαρχόντων παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου. Παρόλα αυτά, στους συγκεκριμένους ασθενείς η μεγαλύτερη διάρκεια του διαβήτη ήταν ο μόνος σημαντικός προσδιοριστής της ενδοθηλιακής λειτουργίας και όχι οι άλλοι παράγοντες

καρδιαγγειακού κινδύνου. Η διάρκεια του διαβήτη, σε σχέση με τους παράγοντες κινδύνου μεμονωμένα, φαίνεται ότι αντανακλά τη συνολική έκθεση του ενδοθηλίου στο διαβήτη και τους παράγοντες αυτούς.

Η δυσλειτουργία των ΑΛΜΚ έχει αναδειχτεί και παλαιότερα στους ΣΔ2 ασθενείς σε σύγκριση με υγιή πληθυσμό, παράλληλα με την ενδοθηλιακή δυσλειτουργία (Williams *et al.*,1996, Tan *et al.*,2002, Watts *et al.*,1996, Mc Veigh *et al.*,1992), δείχνοντας ότι ο ΣΔ2 μπορεί να μειώσει τόσο τη βιοδιαθεσιμότητα του NO όσο και την ευαισθησία των ΑΛΜΚ σε αυτό. Ωστόσο, το εύρημα αυτό δεν έχει αναπαραχθεί σε όλες τις μελέτες (Tsuchiya *et al.*,2007, Goodfellow *et al.*,1996, Su *et al.*,2008, Henry *et al.*,2005). Η δυσλειτουργία των ΑΛΜΚ έχει προηγουμένως δειχτεί σε πληθυσμούς υψηλού καρδιαγγειακού κινδύνου (Adams *et al.*,1998, Zhang *et al.*,2000) και θεωρείται ότι έχει προγνωστικό ρόλο σε αυτά τα άτομα (Schachinger, Zeiher,2000, Kullo *et al.*,2007). Στην παρούσα μελέτη, το μειωμένο NMD σχετίστηκε ανεξάρτητα με την μεγαλύτερη ηλικία, την παρουσία υπέρτασης και τις υψηλότερες τιμές γλυκόζης νηστείας. Ωστόσο, διάφορες προηγούμενες μελέτες δεν έδειξαν σημαντικές συσχετίσεις του NMD με τους παράγοντες κινδύνου, το γλυκαιμικό έλεγχο, τη φλεγμονή ή άλλους συσχετιζόμενους με το ΣΔ2 παράγοντες (Tan *et al.*,1999, Watts *et al.*,1996). Σε συμφωνία με τα δικά μας ευρήματα, ωστόσο, η υπεργλυκαιμία αναφέρθηκε πρόσφατα ως ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας της μείωσης του NMD σε ΣΔ1 ασθενείς (Bjarnegard *et al.*,2009). Είναι γνωστό ότι η υπεργλυκαιμία αυξάνει την παραγωγή προϊόντων τελικής γλυκοζιλίωσης (AGEs) και το οξειδωτικό στρες, που μπορεί να ευθύνονται για τη μειωμένη ανταπόκριση των ΑΛΜΚ (Schalkwijk, Stehouwer 2005, Tan *et al.*,2002).

Η αρτηριακή σκληρότητα, εκτιμώμενη με το PWV, έχει βρεθεί αυξημένη σε ασθενείς με ΣΔ2 σε σχέση με υγιή άτομα (Lukich *et al.*,2010, Vyssoulis *et al.*,2011, Cruickshank *et al.*,2002, Zhang *et al.*,2011) και έχει συσχετιστεί με δυσμενή καρδιαγγειακή πρόγνωση σε ασθενείς υψηλού κινδύνου (Blacher *et al.*,1999, Laurent *et al.*,2001), συμπεριλαμβανομένων και των ΣΔ2 ασθενών (Hatsuda *et al.*,2006, Cruickshank *et al.*,2002). Στην παρούσα μελέτη, το αυξημένο PWV συσχετίστηκε ανεξάρτητα με την μεγαλύτερη ηλικία και την υψηλότερη συστολική αρτηριακή πίεση, επιβεβαιώνοντας ήδη καλά τεκμηριωμένη γνώση. Τόσο η ηλικία όσο και η αρτηριακή πίεση θεωρούνται ως οι δύο πιο βασικοί καθοριστές του PWV στο γενικό πληθυσμό, καθώς και στους ΣΔ2 ασθενείς. Σε αντίθεση με άλλες μελέτες, δεν βρήκαμε συσχέτιση του PWV με το γλυκαιμικό έλεγχο (Vyssoulis *et al.*,2011, Hatsuda *et al.*, 2006, Chen *et al.*,2009). Επιπλέον, αν και η φλεγμονή, εκτιμώμενη με τη CRP, έχει

συσχετιστεί με αυξημένο PWV τόσο σε υγιείς πληθυσμούς (Yasmin *et al.*,2006), όσο και σε άτομα με υπέρταση (Gómez-Marcos *et al.*,2013) και ΣΔ2 (Chen Marcos *et al.*,2013), αυτό δεν παρατηρήθηκε στη δική μας μελέτη.

Ο πληθυσμός της παρούσας μελέτης αποτελέστηκε από ΣΔ2 ασθενείς με μέτριο γλυκαιμικό έλεγχο και μη ιδανική ρύθμιση των υπολοίπων παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου (υπέρταση, δυσλιπιδαιμία, παχυσαρκία). Επομένως, τα συμπεράσματα της μελέτης μας δεν μπορούν να γενικευτούν στο σύνολο των ΣΔ2 ασθενών. Ίσως η συμμετοχή ΣΔ2 ασθενών με καλό έλεγχο των παραγόντων κινδύνου να αποκάλυπτε σημαντικές συσχετίσεις των παραγόντων αυτών με τους μελετώμενους αγγειακούς δείκτες.

## Περιορισμοί

Πρόκειται για μία μελέτη παρατήρησης, που δεν μπορούσε να αποκαλύψει αιτιολογικές συσχετίσεις. Επιπλέον, τα μοντέλα παλινδρόμησης της παρούσας μελέτης μπορούσαν να ανιχνεύσουν ένα μικρό μόνο ποσοστό της διακύμανσης των αγγειακών δεικτών (5-25%) του πληθυσμού, δείχνοντας ότι και άλλοι παράγοντες, οι οποίοι δεν συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη (όπως για παράδειγμα η αντίσταση στην ινσουλίνη, τα AGEs, η μικροαλβουμινουρία, γενετικοί παράγοντες) πιθανώς να παίζουν σημαντικότερο ρόλο στην αγγειακή δυσλειτουργία των ΣΔ2 ασθενών. Οι κοινοί δείκτες αντίστασης στην ινσουλίνη δεν εκτιμήθηκαν, επειδή ένα σημαντικό ποσοστό των ασθενών ελάμβανε εξωγενή ινσουλίνη.

Συμπερασματικά, σε ασθενείς με ΣΔ2 χωρίς γνωστή μακροαγγειοπάθεια ή μικροαγγειοπάθεια, η διαταραχή στην ενδοθηλιο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή συσχετίστηκε ανεξάρτητα μόνο με τη μεγαλύτερη διάρκεια του ΣΔ2, ενώ δεν παρατηρήθηκαν συσχετίσεις με τους υπόλοιπους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου που είναι γνωστό ότι επηρεάζουν την ενδοθηλιακή λειτουργία. Επιπλέον, η δυσλειτουργία των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων και η αυξημένη αρτηριακή σκληρότητα ήταν περισσότερο έκδηλες στους πιο ηλικιωμένους ασθενείς με υπέρταση. Ο χειρότερος γλυκαιμικός έλεγχος συσχετίστηκε μόνο με τη διαταραχή της λειτουργίας των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων. Περαιτέρω μελέτες απαιτούνται προκειμένου να διερευνηθεί η κλινική και προγνωστική αξία των ευρημάτων της παρούσας έρευνας.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9<sup>ο</sup>

### ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΙΟΓΛΙΤΑΖΟΝΗΣ ΣΤΗΝ ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΣΔ2.

Οι καρδιαγγειακές δράσεις της πιογλιταζόνης στους ΣΔ2 ασθενείς είναι καλά τεκμηριωμένες. Η πιογλιταζόνη έχει βρεθεί ότι βελτιώνει το λιπιδαιμικό προφίλ, τη αρτηριακή πίεση, τους δείκτες φλεγμονής και την ενδοθηλιακή λειτουργία, ενώ φαίνεται ότι μειώνει και τα καρδιαγγειακά συμβάματα στους ασθενείς αυτούς. Ωστόσο, η χορήγηση πιογλιταζόνης έχει συσχετιστεί επίσης με αύξηση της επίπτωσης σοβαρής, μη θανατηφόρου καρδιακής ανεπάρκειας (Lincoff *et al.*,2007, Nesto *et al.*,2003), κυρίως λόγω της αύξησης του σωματικού βάρους και του περιφερικού οιδήματος (Nesto *et al.*,2003).

Περιορισμένος αριθμός μελετών δείχνει μία ευνοϊκή επίδραση της πιογλιταζόνης στη διαστολική λειτουργία της αριστερής κοιλίας υπερτασικών ή ΣΔ2 ασθενών με φυσιολογική καρδιακή λειτουργία, με τη χρήση της καθιερωμένης ηχοκαρδιογραφίας ή της MRI (Horio *et al.*,2005, van der Meer *et al.*,2009). Επιπλέον, η πιογλιταζόνη έχει φανεί ότι προλαμβάνει ή βελτιώνει τη ΔΔΑΚ σε μελέτες σε ζώα (Kim *et al.*,2003, Tsuji *et al.*,2001). Αντίθετα, μελέτες με τη χρήση του καθιερωμένου υπερήχου στη συστολική λειτουργία και την καρδιακή δομή ΣΔ2 ασθενών με φυσιολογική (Sambanis *et al.*,2008) ή διαταραγμένη συστολική λειτουργία (Giles *et al.*,2008) έδειξαν ουδέτερο αποτέλεσμα από τη χρήση της πιογλιταζόνης.

Η επίδραση της πιογλιταζόνης στους υπερηχοκαρδιογραφικούς δείκτες ασθενών με ΣΔ2 δεν έχουν μελετηθεί εκτενώς, ενώ η υπερηχοκαρδιογραφική μελέτη με απεικόνιση ιστικού Doppler (Tissue Doppler Imaging, TDI), που επιτρέπει πιο άμεσους προσδιορισμούς της διαστολικής λειτουργίας της αριστερής κοιλίας (Khoury *et al.*,2004), έχει χρησιμοποιηθεί πολύ λίγο (Terui *et al.*,2009). Στην παρούσα μελέτη ερευνήσαμε την επίδραση της χορήγησης πιογλιταζόνης στους συμβατικούς και TDI υπερηχοκαρδιογραφικούς δείκτες της λειτουργίας της αριστερής κοιλίας σε ασυμπτωματικούς ΣΔ2 ασθενείς με ενδείξεις ΔΔΑΚ.

## 9.1 Υλικό και μέθοδος

### 9.1.1 Πληθυσμός μελέτης

Το δείγμα της παρούσας μελέτης αποτελέστηκε κυρίως από τους ασθενείς των προηγούμενων μελετών, στους οποίους διενεργήθηκε επιπλέον υπερηχοκαρδιογραφικός έλεγχος, προκειμένου να εκτιμηθεί η καρδιαγγειακή ασφάλεια της χορήγησης πιογλιταζόνης. Ωστόσο, η συλλογή των ασθενών συνεχίστηκε περαιτέρω, με σκοπό να επιτευχθεί ένας σχετικά μεγάλος αριθμός ΣΔ2 ασθενών.

250 ΣΔ2 ασθενείς υπό αγωγή με μετφορμίνη ή/και σουλφονουρία ελέγχθηκαν συνολικά, ενώ μόνο οι 88 πληρούσαν τα κριτήρια εισαγωγής στη μελέτη. Αυτά περιελάμβαναν:

1. ΣΔ2 ασθενείς που ελάμβαναν μόνο μετφορμίνη ή/και σουλφονουρία τη στιγμή της διαλογής.
2. HbA<sub>1C</sub> >6.5%
3. Ενδείξεις ΔΔΑΚ στον υπερηχοκαρδιογραφικό έλεγχο με διατηρημένο κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας (LVEF>50%) και απουσία οποιασδήποτε τοιχωματικής υποκινησίας.
4. Φυσιολογικά ηπατικά ένζυμα και νεφρική λειτουργία.

Στα κριτήρια αποκλεισμού ανήκαν:

1. Θεραπεία με πιογλιταζόνη, ροζιγλιταζόνη ή ινσουλίνη κατά τη διάρκεια των τελευταίων 6 μηνών.
2. Έναρξη οποιασδήποτε άλλης αγωγής τους τελευταίους 3 μήνες.
3. Κάθε ιστορικό, συμπτώματα ή σημεία καρδιακής ανεπάρκειας, στεφανιαίας νόσου, αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου ή περιφερικής αγγειακής νόσου.
4. Μη ελεγχόμενη υπέρταση.
5. Κολπική μαρμαρυγή.
6. Μέτρια και άνω βαλβιδική νόσος.
7. Ηπατική ή νεφρική νόσος.
8. Αναιμία
9. Θυρεοειδοπάθεια
10. Κάθε σοβαρό πρόβλημα υγείας

11. Επιπλοκές από το ΣΔ2 (διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια, αυτόνομη νευροπάθεια).

### **9.1.2 Σχεδιασμός μελέτης**

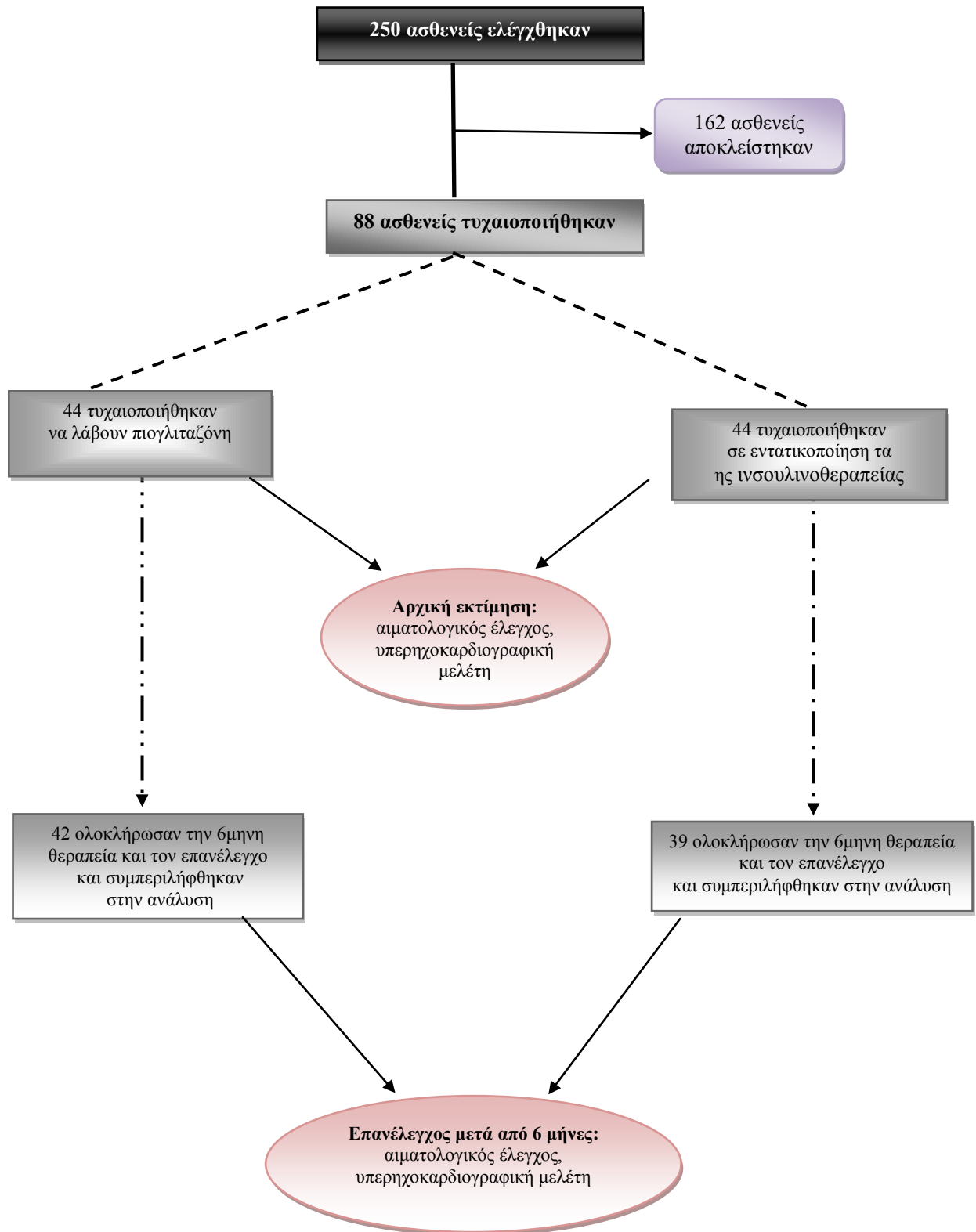
Η παρούσα μελέτη σχεδιάστηκε ως μία τυχαιοποιημένη, προοπτική, ανοιχτή τυφλή εκτίμηση, στην οποία όλες οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν από πρόσωπα που δεν γνώριζαν το είδος της θεραπείας και τις θεραπευτικές παρεμβάσεις. Η εκτίμηση αφορούσε υπερηχοκαρδιογραφικούς δείκτες λειτουργίας της αριστερής κοιλίας ασυμπτωματικών ΣΔ2 ασθενών με ενδείξεις ΔΔΑΚ, οι οποίοι ελάμβαναν αγωγή με μετοφορμίνη ή/και σουλφονουλουρία, όταν προστέθηκε πιογλιταζόνη στη θεραπεία τους ή αυτή εντατικοποιήθηκε, για 6 μήνες. Το κύριο καταληκτικό σημείο ήταν η αλλαγή στην πρώιμη διαστολική ταχύτητα του μιτροειδικού δακτυλίου (E') από την αρχική μέτρηση στον επανέλεγχο. Οι λοιπές αναλύσεις περιλάμβαναν αλλαγές στο γλυκαιμικό έλεγχο, τους δείκτες αντίστασης στην ινσουλίνη, τους δείκτες συστολικής λειτουργίας της αριστερής κοιλίας, το δείκτη Tei, την αναλογία E/A, τις συστολικές και διαστολικές μιτροειδικές ταχύτητες και την αναλογία E/E'.

Οι ασθενείς που επιλέχθηκαν παρακολουθούνταν στα τακτικά εξωτερικά Ενδοκρινολογικά ιατρεία του Πανεπιστημιακού και του Γενικού νοσοκομείου Χατζηκώστα Ιωαννίνων, κατά το χρονικό διάστημα από τον Οκτώβριο 2004 έως τον Απρίλιο 2006. Η επιλογή των ασθενών έγινε σύμφωνα με τις ήδη περιγραφείσες διαδικασίες. Οι ασθενείς που επιλέχθηκαν και έδωσαν γραπτή συγκατάθεση τυχαιοποιήθηκαν με αναλογία 1:1 σε δύο ομάδες: πιογλιταζόνη (30 mg od) προστέθηκε στην ομάδα A (N=44), ενώ στην ομάδα B (N=44) αυξήθηκε η ήδη λαμβάνουσα αντιδιαβητική αγωγή κατά την αρχική εκτίμηση. Δηλαδή, μπορούσε να αυξηθεί μόνο η δόση της μετοφορμίνης ή/και σουλφονουλουρίας, ενώ δεν επιτρεπόταν η προσθήκη άλλου παράγοντα. Η ομάδα B χρησιμοποιήθηκε ως ομάδα ελέγχου για τη σύγκριση με την πιογλιταζόνη, καθώς θεωρήθηκε αντιδεοντολογική η παραμονή μη επαρκώς ρυθμιζόμενων ΣΔ2 ασθενών χωρίς παρέμβαση.

Η κλινική εκτίμηση, η αιμοληψία και η υπερηχοκαρδιογραφική εκτίμηση διενεργήθηκαν σε όλους τους ασθενείς στον αρχικό έλεγχο και τον επανέλεγχο μετά από 6 μήνες, ενώ κάθε άλλη αγωγή, εκτός της αντιδιαβητικής, παρέμεινε χωρίς αλλαγή το διάστημα αυτό.

Η μελέτη σχεδιάστηκε σύμφωνα με τις προβλεπόμενες διατάξεις της Διακήρυξης του Ελσίνκι και εγκρίθηκε από την Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας του Μιχαηλίδειου

Καρδιολογικού Κέντρου. Όλοι οι ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη παρείχαν γραπτή συναίνεση για τη συμμετοχή τους. Ο σχεδιασμός της μελέτης παρουσιάζεται στο διάγραμμα ροής της εικόνας 9.1.



**Εικόνα 9.1.** Διάγραμμα ροής της μελέτης ECHO.



### **9.1.3 Εργαστηριακές εξετάσεις**

Δείγμα αίματος ελήφθη από κάθε ασθενή μετά από ολονύκτια νηστεία για μέτρηση της γλυκόζης, ινσουλίνης, λιπιδίων, ηπατικής και νεφρικής λειτουργίας και αιματολογικού προφίλ, σύμφωνα με τις ήδη περιγραφείσες μεθόδους.

### **9.1.4 Υπερηχοκαρδιογραφική εκτίμηση**

Η υπερηχοκαρδιογραφική μελέτη όλων των ασθενών έγινε στον αρχικό έλεγχο και μετά από 6 μήνες, όπως περιγράφηκε στην αρχή του ειδικού μέρους.

### **9.1.5 Στατιστική ανάλυση**

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έγινε με το στατιστικό πακέτο SPSS (version 15.0 for Windows, SPSS Inc. Chicago, IL, USA). Τα δεδομένα περιγράφηκαν ως μέσες και τυπικές αποκλίσεις (standard deviations, SD) για τις συνεχείς μεταβλητές και ως συχνότητες και ποσοστά για τις κατηγορικές μεταβλητές. Όλες οι συνεχείς μεταβλητές στους διάφορους μελετώμενους πληθυσμούς ελέγχθηκαν ως προς την κανονική κατανομή με τη χρήση της στατιστικής δοκιμασίας Z Kolmogorov-Smirnov. Η ινσουλίνη νηστείας, η αναλογία γλυκόζης προς ινσουλίνη και ο δείκτης HOMA δεν είχαν φυσιολογική κατανομή. Οι μεταβλητές με μη κανονική κατανομή υπέστησαν λογαριθμική μεταβολή και στη μελέτη συσχετίσεων και παλινδρόμησης χρησιμοποιήθηκαν οι φυσικοί τους λογάριθμοι. Για τη σύγκριση των κατηγορικών και συνεχών μεταβλητών μεταξύ των υποομάδων κάθε μελέτης κατά την αρχική εκτίμηση χρησιμοποιήθηκαν οι στατιστικές δοκιμασίες  $\chi^2$ -test και το ασύζευκτο  $t$ -test των φοιτητών (unpaired Student  $t$ -test). Για την αξιολόγηση των αλλαγών μεταξύ συνεχών και κατηγορικών μεταβλητών εντός της ίδιας ομάδας χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία του συζευγμένου  $t$ -test των φοιτητών (paired Student  $t$ -test) ή η δοκιμασία Wilcoxon's. Για μη φυσιολογικά κατανομημένες μεταβλητές χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία Mann-Whitney. Η ανάλυση μεταβλητότητας των επαναλαμβανόμενων μετρήσεων (Repeated Measures Analysis of Variance, RM ANOVA) διενεργήθηκε για την εκτίμηση των αλλαγών στον επανέλεγχο μεταξύ των δύο ομάδων. Με βάση πιλοτικά δεδομένα ΣΔ2 ασθενών και των δύο φύλων έγιναν υπολογισμοί ισχύος: 40 ασθενείς απαιτούνταν για την ανίχνευση μίας κατά 15% αλλαγής στο μέσο Ε', με ισχύ περίπου 85% για  $P=0.05$  δύο πλευρών. Οι συντελεστές συσχέτισης Pearson και Spearman υπολογίστηκαν μεταξύ του αρχικού Ε', των αλλαγών του

Ε'στους 6 μήνες και όλων των υπόλοιπων μεταβλητών και για τις δύο ομάδες. Η τιμή  $p < 0.05$  θεωρήθηκε σημαντική.

## 9.2 Αποτελέσματα

81 ασθενείς ολοκλήρωσαν τη μελέτη (ομάδα A,  $n=42$  και ομάδα B,  $n=39$ ) και συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση (εικόνα 9.1). Δύο ασθενείς της ομάδας A διέκοψαν την πιογλιταζόνη: ο ένας εμφάνισε προκνημιαίο οίδημα και ο άλλος χρειάστηκε ινσουλίνη για την επίτευξη γλυκαιμικού ελέγχου. Από την ομάδα B, 5 ασθενείς αποσύρθηκαν από τη μελέτη: 3 χρειάστηκαν ινσουλίνη και 2 δεν επιθυμούσαν τη συνέχιση της μελέτης. Η θεραπεία με πιογλιταζόνη δεν συνοδεύτηκε από αύξηση των ηπατικών ενζύμων. Δεν παρατηρήθηκαν άλλα συμπτώματα ή σημεία καρδιακής ανεπάρκειας ή άλλα δυσμενή καρδιαγγειακά συμβάματα κατά τη διάρκεια των 6 μηνών.

### 9.2.1 Δημογραφικές, κλινικές και μεταβολικές παράμετροι.

Τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των 81 ασθενών της μελέτης απεικονίζονται στον πίνακα 9.1. Οι δύο ομάδες αποτελούνταν κυρίως από γυναίκες (64 και 72% αντίστοιχα,  $p=NS$ ) και δεν διέφεραν στην ηλικία ή στα υπόλοιπα χαρακτηριστικά. Όλες οι γυναίκες της μελέτης ήταν εμμηνόπαυσιακές και δεν ελάμβαναν θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης.

Οι φυσικές και εργαστηριακές παράμετροι των δύο ομάδων στην αρχική μέτρηση και τον επανέλεγχο φαίνονται στον πίνακα 9.2. Οι δύο ομάδες δεν διέφεραν σε καμία παράμετρο κατά την αρχική εκτίμηση.

Μετά από 6 μήνες, σημειώθηκε όμοια σημαντική μείωση στη  $HbA_{1C}$  (κατά  $0.57 \pm 0.71\%$  και  $0.37 \pm 0.91\%$  στις ομάδες A και B αντίστοιχα,  $p=NS$  μεταξύ των ομάδων) και αύξηση στην ολική και LDL χοληστερόλη ( $p < 0.05$  και για τις δύο,  $p=NS$  μεταξύ των ομάδων). Στην ομάδα A, η πιογλιταζόνη συντέλεσε επίσης σε σημαντική αύξηση του σωματικού βάρους, της HDL χοληστερόλης και της αναλογίας γλυκόζης/ινσουλίνη, ενώ μείωσε σημαντικά τη γλυκόζη και την ινσουλίνη νηστείας, το δείκτη HOMA και τη διαστολική αρτηριακή πίεση ( $p < 0.05$  για όλα). Στην ομάδα B, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση στην HDL χοληστερόλη ( $p < 0.05$ ), (πίνακας 9.2). Με τη χρήση της RM ANOVA, βρέθηκε σημαντική διαφορά ( $p < 0.05$ ) από τη θεραπεία μεταξύ των δύο ομάδων στις εξής παραμέτρους: στο σωματικό βάρος, τη διαστολική αρτηριακή πίεση, τα τριγλυκερίδια, την HDL χοληστερόλη, την ινσουλίνη

νηστείας και το δείκτη HOMA. Οι αλλαγές στις υπόλοιπες παραμέτρους κατά τον επανέλεγχο δεν διέφεραν μεταξύ των ομάδων.

**Πίνακας 9.1.** Αρχικά δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των δύο ομάδων.

Μεταβλητή	Ομάδα Α Πιογλιταζόνη (n=42)	Ομάδα Β Άλλη θεραπεία (n=39)	Τιμή P
Ηλικία, έτη (εύρος)	64.3±8.1 (44-77)	64.8±7.5 (48-81)	0.78
Θήλυ φύλο, n (%)	27 (64)	28 (72)	0.49
Υπερτασικοί, n (%)	31 (74)	32 (82)	0.27
Δυσλιπιδαιμικοί, n (%)	26 (62)	27 (69)	0.64
Καπνιστές (πρώην ή νυν), n (%)	14 (33)	10 (26)	0.48
Οικογενειακό ιστορικό ΣΝ	23 (55)	24 (62)	0.35
Διάρκεια ΣΔ2, έτη	10.2±6.6	9.0±6.9	0.41
Μετφορμίνη	31 (74)	26 (67)	0.63
Σουλφονουλουρία	31 (74)	27 (69)	0.81
Μετφορμίνη & Σουλφονουλουρία	20 (48)	15 (38)	0.50
Αντιυπερτασικά, n (%)	27 (64)	27 (69)	0.81
Διουρητικά, n (%)	6 (14)	8 (21)	0.56
ACE ή AT-II αναστολείς, n (%)	22 (52)	22 (56)	0.82
β-αποκλειστές, n (%)	1 (2)	3 (8)	0.35
Ανταγωνιστές ασβεστίου, n (%)	12 (29)	11 (28)	1.00
Στατίνες, n (%)	18 (43)	17 (44)	1.00
Αντιαιμοπεταλιακά, n (%)	5 (12)	4 (10)	1.00

Mean±SD unless otherwise stated. CAD, coronary artery disease; ACE, angiotensin converting enzyme; AT-II, angiotensin II

Πίνακας 9.2. Φυσικές & εργαστηριακές μετρήσεις των δύο ομάδων στο αρχικό σημείο της μελέτης και στον επανέλεγχο μετά από 6 μήνες.

Μεταβλητή	Ομάδα Α, Πιογλιταζόνη (n=42)			Ομάδα Β, Άλλη αγωγή (n=39)			Σύγκριση των αλλαγών μεταξύ των 2 ομάδων.
	Αρχική εκτίμηση	Επανάλεγχος	Τιμή P	Αρχική εκτίμηση	Επανάλεγχος	Τιμή P	Τιμή P (RM ANOVA)
Βάρος σώματος, kg	76.6 ± 12.5	78.8 ± 12.9	<b>0.025</b>	74.2 ± 10.8	74.2 ± 11.7	0.50	<b>0.026</b>
Περίμ. μέσης, cm	104.7 ± 11.2	104.0 ± 12.0	0.12	105.6 ± 15.9	104.0 ± 10.2	0.63	0.19
Καρδιακή συχνότητα, σφύξεις/λεπτό	73 ± 11	72 ± 11	0.58	73 ± 8	71 ± 10	0.08	0.86
Συστολική ΑΠ, mmHg	143 ± 15	141 ± 15	0.47	150 ± 17	146 ± 18	0.21	0.62
Διαστολική ΑΠ, mmHg	78 ± 6	75 ± 7	<b>0.003</b>	78 ± 8	79 ± 9	0.64	<b>0.024</b>
Ολική χοληστερόλη, mg/dl	214 ± 40	224 ± 45	<b>0.000</b>	212 ± 43	226 ± 44	<b>0.019</b>	0.45
Τριγλυκερίδια, mg/dl	142 ± 60	134 ± 51	0.31	143 ± 94	160 ± 80	<b>0.050</b>	<b>0.030</b>
HDL χοληστερόλη, mg/dl	53 ± 11	56 ± 12	<b>0.002</b>	56 ± 14	53 ± 12	<b>0.017</b>	<b>0.014</b>
LDL χοληστερόλη, mg/dl	134 ± 33	141 ± 39	<b>0.018</b>	125 ± 44	141 ± 39	<b>0.017</b>	0.22
Γλυκόζη νηστείας, mg/dl	154 ± 31	146 ± 31	<b>0.017</b>	153 ± 33	149 ± 29	0.23	0.37
Ινσουλίνη νηστείας, μU/ml	9.9 ± 5.2	7.7 ± 3.3	<b>0.000</b>	9.3 ± 4.8	10.2 ± 5.3	0.42	<b>0.006</b>
HbA <sub>1C</sub> , %	8.0 ± 0.9	7.5 ± 1.0	<b>0.000</b>	7.9 ± 1.0	7.5 ± 1.3	<b>0.002</b>	0.28
Γλυκόζη/ινσουλίνη	19.0 ± 10.3	23.5 ± 13.6	<b>0.000</b>	21.4 ± 15.1	22.1 ± 21.1	0.51	0.08
HOMA	3.9 ± 2.6	2.7 ± 1.2	<b>0.000</b>	3.5 ± 1.8	3.6 ± 1.8	0.38	<b>0.001</b>

### 9.2.2 Υπερηχοκαρδιογραφικές παρατηρήσεις

Σύμφωνα με το πρωτόκολλο της μελέτης, όπως προαναφέρθηκε, όλοι οι ασθενείς που συμπεριλήφθηκαν σε αυτή είχαν διατηρημένη συστολική λειτουργία της αριστερής κοιλίας και υπερηχοκαρδιογραφικούς δείκτες ΔΔΑΚ. Κανένας ασθενής δεν είχε εικόνα Doppler περιοριστικού τύπου ( $E/A > 2$ ). 29 ασθενείς σε κάθε ομάδα είχαν υπερτροφία της αριστερής κοιλίας (69% και 74% στις ομάδες A και B αντίστοιχα,  $p=NS$ ). Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων κατά την αρχική εκτίμηση στις συμβατικές ή TDI υπερηχοκαρδιογραφικές μετρήσεις εκτός από το χρόνο επιβράδυνσης, που ήταν σημαντικά χαμηλότερος στην ομάδα A (πίνακας 3). Το αρχικό  $E'$  συσχετίστηκε αντίστροφα με την ηλικία ( $r -3.87$ ,  $p=0.001$ ) και την παρουσία υπέρτασης ( $r -0.359$ ,  $p=0.002$ ) σε όλους τους ασθενείς.

Στους 6 μήνες, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές αλλαγές σε καμία ομάδα στους υπερηχοκαρδιογραφικούς δείκτες ( $p=NS$  για όλα, πίνακας 9.3). Με τη χρήση της RM ANOVA βρήκαμε ότι οι αλλαγές στον επανέλεγχο δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των δύο ομάδων ( $p=NS$  για όλα). Η προσαρμογή για συμπλεκόμενους παράγοντες δεν χρειάστηκε, καθώς δεν παρατηρήθηκε αρχικά στατιστική διαφορά σε κανένα από τα χαρακτηριστικά μεταξύ των ομάδων ( $p > 0.27$  για όλες τις μεταβλητές). Πιο συγκεκριμένα και στις δύο ομάδες η ταχύτητα  $E'$  αυξήθηκε (κατά  $6.7 \pm 22.7\%$  και  $6.9 \pm 30.7\%$  στις ομάδες A και B αντίστοιχα), ενώ η αναλογία  $E/E'$  μειώθηκε στον επανέλεγχο (κατά  $0.03 \pm 16.97\%$  και  $3.18 \pm 34.87\%$  αντίστοιχα), όμως οι αλλαγές αυτές δεν ήταν σημαντικές εντός της κάθε ομάδας ούτε μεταξύ των δύο ομάδων ( $p=NS$  για όλες τις συγκρίσεις). Οι αλλαγές στην ταχύτητα  $E'$  στους 6 μήνες συσχετίστηκαν μόνο με τις αλλαγές στη  $HbA_{1c}$  στην ομάδα A ( $r -0.484$ ,  $p=0.0003$ ) και με την ηλικία στην ομάδα B ( $r -0.435$ ,  $p=0.046$ ). Τέλος, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές από την επίδραση της πιογλιταζόνης έναντι της ομάδας ελέγχου B στα αποτελέσματα της ανάλυσης αλληλεπίδρασης φύλου ή σε άλλες υποομάδες υψηλού κινδύνου, όπως για παράδειγμα σε ηλικίες  $>60$  ετών, διάρκεια διαβήτη  $>10$  χρόνια, υπερτασικούς, ασθενείς με υπερτροφία αριστερής κοιλίας ( $p > 0.05$  για όλες τις συγκρίσεις, τα δεδομένα δεν παρουσιάστηκαν).

**Πίνακας 9.3.** Υπερηχοκαρδιογραφικές μετρήσεις στις 2 ομάδες στην αρχική εκτίμηση και κατά τον επανέλεγχο μετά από 6 μήνες.

Μεταβλητή	Ομάδα Α Πιογλιταζόνη (n=42)			Ομάδα Β Άλλη αντιδιαβητική αγωγή, (n=39)			Σύγκριση των αλλαγών μεταξύ των 2 ομάδων
	Αρχική εκτίμηση	Επανέλεγχος	Τιμή P	Αρχική εκτίμηση	Επανέλεγχος	Τιμή P	Τιμή P (RM ANOVA)
<b>Συμβατική υπερηχοκαρδιογραφία</b>							
Left atrial diameter, mm	39.5 ± 6.1	39.4 ± 5.5	0.84	37.9 ± 5.2	39.1 ± 5.3	0.15	0.22
IVSd, mm	11.4 ± 2.1	11.0 ± 2.0	0.23	11.8 ± 1.8	11.7 ± 2.2	0.79	0.58
PWd, mm	10.7 ± 1.8	10.3 ± 1.8	0.23	11.1 ± 1.6	10.7 ± 1.5	0.14	0.99
LVDd, mm	50.0 ± 5.4	49.6 ± 5.6	0.52	48.6 ± 4.4	47.3 ± 5.7	0.20	0.44
LVDs, mm	29.4 ± 5.8	30.2 ± 4.3	0.31	28.7 ± 4.1	28.8 ± 5.6	0.97	0.49
LV mass index, g/m <sup>2</sup>	113.8 ± 27.9	107.8 ± 33.3	0.21	118.1 ± 28.9	110.2 ± 28.2	0.17	0.78
Fractional shortening, (%)	41.4 ± 6.2	40.2 ± 6.1	0.17	41.0 ± 6.5	39.2 ± 8.1	0.14	0.69
Ejection Fraction, (%)	71.4 ± 7.1	69.7 ± 7.2	0.10	71.0 ± 7.7	68.9 ± 9.6	0.13	0.77
E, cm/s	66.1 ± 15.9	66.2 ± 15.5	0.94	62.6 ± 15.4	6.3 ± 14.0	0.26	0.42
A, cm/s	79.6 ± 19.7	81.3 ± 23.7	0.42	80.2 ± 19.6	82.8 ± 14.6	0.23	0.76
E/A ratio	0.87 ± 0.27	0.86 ± 0.23	0.72	0.80 ± 0.20	0.80 ± 0.15	0.88	0.87
Deceleration Time, ms	193 ± 43	194 ± 49	0.88	215 ± 54 *	230 ± 41	0.10	0.16
Tei index	0.35 ± 0.15	0.35 ± 0.22	0.91	0.38 ± 0.18	0.35 ± 0.15	0.37	0.52
<b>Υπερηχοκαρδιογραφική απεικόνιση με ιστικό Doppler</b>							
Septal S', cm/s	7.9 ± 0.9	8.1 ± 1.1	0.27	7.8 ± 1.2	7.6 ± 1.3	0.59	0.26
Septal E', cm/s	6.8 ± 1.8	7.0 ± 1.7	0.46	6.7 ± 1.4	7.3 ± 2.1	0.18	0.43
Septal A', cm/s	10.5 ± 1.6	10.8 ± 1.6	0.29	10.6 ± 2.0	10.3 ± 1.9	0.34	0.15
Septal E'/A' ratio	0.67 ± 0.22	0.66 ± 0.20	0.87	0.65 ± 0.18	0.71 ± 0.17	0.14	0.23
Lateral S', cm/s	7.7 ± 1.5	8.1 ± 1.5	0.16	8.0 ± 1.7	8.0 ± 1.6	0.99	0.34
Lateral E', cm/s	8.1 ± 2.5	8.4 ± 2.5	0.39	8.3 ± 2.0	8.6 ± 3.1	0.45	0.94
Lateral A', cm/s	11.4 ± 2.4	11.5 ± 2.5	0.84	11.1 ± 2.2	10.7 ± 2.9	0.31	0.40
Lateral E'/A' ratio	0.75 ± 0.29	0.78 ± 0.38	0.53	0.79 ± 0.27	0.84 ± 0.31	0.39	0.96
Tricuspid S', cm/s	14.5 ± 2.6	15.4 ± 3.7	0.09	14.1 ± 4.0	14.4 ± 3.3	0.60	0.49
Tricuspid E', cm/s	12.2 ± 2.9	12.0 ± 3.3	0.63	11.3 ± 3.8	11.9 ± 3.0	0.34	0.29
Tricuspid A', cm/s	18.3 ± 3.7	18.1 ± 3.9	0.82	17.8 ± 4.5	18.3 ± 4.5	0.42	0.48
Tricuspid E'/A' ratio	0.69 ± 0.20	0.68 ± 0.24	0.89	0.65 ± 0.18	0.68 ± 0.17	0.36	0.59
E' (average), cm/s	7.36 ± 1.85	7.66 ± 1.87	0.30	7.55 ± 1.44	7.96 ± 2.31	0.28	0.82
E/E'	9.14 ± 2.39	9.08 ± 2.71	0.80	8.82 ± 2.61	8.68 ± 2.63	0.73	0.87

### 9.3 Συζήτηση

Η παρούσα μελέτη έδειξε ότι η προσθήκη πιογλιταζόνης στην ήδη υπάρχουσα αγωγή με σουλφονουλουριά ή/και μετοφορμίνη για 6 μήνες σε ασυμπτωματικούς ΣΔ2 ασθενείς με φυσιολογική συστολική λειτουργία και ενδείξεις ΔΔΑΚ, δεν είχε κάποια ευνοϊκή ή δυσμενή επίδραση στους συμβατικούς ή TDI υπερηχοκαρδιογραφικούς δείκτες διαστολικής ή συστολικής λειτουργίας της αριστερής κοιλίας, παρά τις όμοιες μεταβολικές αλλαγές. Η πιογλιταζόνη βελτίωσε το γλυκαιμικό έλεγχο και την ευαισθησία στην ινσουλίνη, μείωσε την αρτηριακή πίεση, ενώ προκάλεσε αύξηση του σωματικού βάρους και επέφερε αλλαγές στο λιπιδαιμικό προφίλ των ασθενών της μελέτης.

Μεγάλες κλινικές μελέτες και μετα-αναλύσεις έδειξαν ότι η πιογλιταζόνη μειώνει τον κίνδυνο καρδιαγγειακών συμβάντων, ωστόσο η χρήση της συσχετίστηκε με την εμφάνιση μη θανατηφόρου καρδιακής ανεπάρκειας (Dormandy *et al.*, 2005, Lincoff *et al.*, 2007). Από την άλλη μεριά και η ροζιγλιταζόνη συνδέθηκε με αυξημένο κίνδυνο καρδιακής ανεπάρκειας και εμφράγματος του μυοκαρδίου (Singh *et al.*, 2007). Επιπλέον, πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι η ροζιγλιταζόνη, σε σύγκριση με την πιογλιταζόνη, σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εγκεφαλικού επεισοδίου, καρδιακής ανεπάρκειας και θνησιμότητας από όλα τα αίτια σε ασθενείς ηλικίας 65 ετών και άνω (Graham *et al.*, 2010).

Σε μη διαβητικούς υπερτασικούς ασθενείς, η πιογλιταζόνη βελτίωσε τους συμβατικούς υπερηχοκαρδιογραφικούς δείκτες διαστολικής λειτουργίας της αριστερής κοιλίας (αύξησε την αναλογία E/A και το χρόνο επιβράδυνσης), (Horio *et al.*, 2005). Σε μία μικρή μελέτη ΣΔ2 ασθενών, η ροζιγλιταζόνη αύξησε την ταχύτητα E' δια μέσω του μιτροειδικού δακτυλίου (κατά 12.7%) φανερώνοντας ιδιότητες βελτίωσης της διαστολής του μυοκαρδίου, με παράλληλη αύξηση του κλάσματος βράχυνσης (von Bibra *et al.*, 2008). Ακόμη, μία αύξηση στη διαφραγματική ταχύτητα E' (κατά 7.7%), που συσχετίστηκε με μείωση των επιπέδων πλάσματος του κολλαγόνου τύπου III, βρέθηκε από τη χορήγηση πιογλιταζόνης σε ένα άλλο μικρό δείγμα ΣΔ2 ασθενών (Terui *et al.*, 2009). Σε μία πρόσφατη σύγχρονη μελέτη με MRI/PET σε άντρες με ΣΔ2 και σχετικά φυσιολογική καρδιακή λειτουργία, η πιογλιταζόνη φάνηκε ότι επάγει ήπιες αλλαγές στο ποσοστό διαμιτροειδικής πλήρωσης και το διαστολικό όγκο της αριστερής κοιλίας σε σταθερές πιέσεις πλήρωσης, ευρήματα συμβατά με βελτίωση της συσταλτικότητας της αριστερής

κοιλίας (van der Meer *et al.*, 2009). Αυτή η βελτίωση δεν μπορούσε να εξηγηθεί από καμία αλλαγή στις μεταβολικές παραμέτρους ή το μεταβολισμό του μυοκαρδίου.

Στην παρούσα μελέτη ΣΔ2 ασθενών με ΔΔΑΚ, η πιογλιταζόνη δεν φάνηκε να έχει σημαντική ευνοϊκή ή δυσμενή επίδραση στην καρδιακή δομή ή λειτουργία, παρά τις θετικές επιδράσεις από την πιογλιταζόνη στις διάφορες μεταβολικές παραμέτρους.

Οι διάμετροι του αριστερού κόλπου και της αριστερής κοιλίας, όπως και το κλάσμα εξώθησης της αριστερής κοιλίας παρέμειναν αμετάβλητα, δείχνοντας πιθανώς απουσία σημαντικής υπερφόρτωσης όγκου, εύρημα σύμφωνο και με προηγούμενες μελέτες (Giles *et al.*, 2008, Terui *et al.*, 2009). Επιπλέον, οι διαστολικές ιδιότητες της αριστερής κοιλίας δεν άλλαξαν: η ταχύτητα Ε' αυξήθηκε μη σημαντικά και στον ίδιο βαθμό (περίπου κατά 7%) και στις δύο ομάδες. Οι μυοκαρδιακές ταχύτητες μέσω του δακτυλίου της τριγλώχινας παρέμειναν αμετάβλητες, δείχνοντας ουδέτερο αποτέλεσμα της πιογλιταζόνης και στη δεξιά συστολική λειτουργία, εύρημα που δεν είχε προηγουμένως αναφερθεί.

Διάφοροι λόγοι θα μπορούσαν να εξηγήσουν γιατί η χρήση της πιογλιταζόνης στην παρούσα μελέτη δεν συνοδεύτηκε από θετικό αποτέλεσμα στις καρδιακές διαστολικές ιδιότητες, σε αντίθεση με μερικές πρόσφατες μελέτες. Οι ασθενείς που αποτέλεσαν το δείγμα της παρούσας μελέτης επιλέχτηκαν με βάση τις ενδείξεις διαστολικής δυσλειτουργίας, η οποία πιθανόν να οφειλόταν σε ποικίλους λόγους σε αυτούς τους ασθενείς, εκτός από το ΣΔ2, όπως την υπέρταση και την προχωρημένη ηλικία. Πράγματι, η επίπτωση της υπέρτασης, που είναι γνωστό ότι επιδεινώνει περαιτέρω τη διαστολική λειτουργία της αριστερής κοιλίας (Liu *et al.*, 2001), ήταν υψηλή στο συγκεκριμένο δείγμα ασθενών. Επιπλέον, η ταχύτητα Ε' κατά την αρχική μέτρηση σε όλους τους ασθενείς συσχετίστηκε αντίστροφα με την ηλικία και την παρουσία υπέρτασης, εύρημα σύμφωνο με προηγούμενες αναφορές (Liu *et al.*, 2001). Όποια και αν είναι τα αίτια της ΔΔΑΚ στους ασθενείς της παρούσας μελέτης, η παρουσία της φανερώνει κάποιου βαθμού μυοκαρδιακή εμπλοκή, που έχει πιθανώς περιορίσει τις δυνητικά ευνοϊκές δράσεις της πιογλιταζόνης στη διαστολική λειτουργία. Η αυξημένη μυοκαρδιακή ίνωση έχει συσχετιστεί με ΔΔΑΚ και τέτοιου είδους δομικές αλλαγές θεωρούνται ανθιστάμενες στη θεραπεία (Loimaala *et al.*, 2007). Επιπλέον, το όφελος από τη χρήση της πιογλιταζόνης μπορεί να είναι πολύ μικρό ώστε να μπορεί να ανιχνευτεί ακόμη και με τη χρήση TDI μεθοδολογίας, που θεωρείται ανώτερη από την καθιερωμένη ηχογραφία στην εκτίμηση της λειτουργίας της αριστερής κοιλίας (Boyer *et al.*, 2004, Khorrami *et al.*, 2004, Vinereanu *et al.*, 2003).



Σε κάθε περίπτωση, σημαντικές αλλαγές στις μυοκαρδιακές διαστολικές ιδιότητες που θα μπορούσαν εύκολα να ανιχνευτούν με υπερηχοκαρδιογραφία και να οδηγήσουν πιθανά σε βελτίωση της κλινικής έκβασης δεν παρατηρήθηκαν από την πιογλιταζόνη στη μελέτη μας. Επιπλέον, στην παρούσα μελέτη η αύξηση της ταχύτητας E' από την πιογλιταζόνη συσχετίστηκε με τη βελτίωση του γλυκαιμικού ελέγχου. Είναι πιθανό ότι μεγαλύτερη δόση πιογλιταζόνης, που θα επιτύγχανε καλύτερο γλυκαιμικό έλεγχο θα μπορούσε να οδηγήσει σε σημαντικές αλλαγές. Ωστόσο, ο βαθμός του μεταβολικού ελέγχου δεν έχει συσχετιστεί με βελτίωση της διαστολικής λειτουργίας της αριστερής κοιλίας σε μία πρόσφατη τυχαιοποιημένη μελέτη σύγκρισης της ινσουλίνης με μετφορμίνη/σουλφονουλουρίες (Jarnert *et al.*, 2009).

### **Περιορισμοί της μελέτης**

Αν και η παρούσα μελέτη ήταν ενός μόνο κέντρου, ο πληθυσμός της μελέτης παρείχε επαρκή ισχύ για την ανίχνευση μέτριων αλλαγών στους υπερηχοκαρδιογραφικούς δείκτες διαστολικής λειτουργίας της αριστερής κοιλίας, που υπολογίστηκαν με βάση προηγούμενες μελέτες (Terui *et al.*, 2009, van der Meer *et al.*, 2009, von Bibra *et al.*, 2008) και την επαναληψιμότητα της μεθοδολογίας μας. Πρόκειται για μία τυχαιοποιημένη, ανοιχτή μελέτη, αλλά οι υπερηχοκαρδιογραφικές καταγραφές και μετρήσεις έγιναν από χειριστές που δεν γνώριζαν τη θεραπεία των ασθενών. Ο πληθυσμός μας αποτελέστηκε κυρίως από εμμηνοπαυσιακές γυναίκες, επομένως τα αναφερόμενα αποτελέσματα δεν μπορούν να γενικευτούν στο σύνολο των ΣΔ2 ασθενών. Ωστόσο, η ανάλυση αλληλεπίδρασης φύλου απέκλεισε την πιθανότητα επίδρασης του φύλου στα αποτελέσματα της μελέτης.

Άλλοι φαρμακευτικοί παράγοντες που ελάμβαναν οι ασθενείς της μελέτης (για παράδειγμα αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου της αγγειοτενσίνης ή αναστολείς της αγγειοτενσίνης II, ανταγωνιστές ασβεστίου) θα μπορούσαν να έχουν επηρεάσει τη διαστολική λειτουργία της αριστερής κοιλίας, περιορίζοντας πιθανώς την επίδραση της πιογλιταζόνης. Ωστόσο, καμία αλλαγή της φαρμακευτικής αγωγής δεν επιτράπηκε κατά τη διάρκεια της μελέτης. Ένας συνδυασμός απλών και εύκολα προσβάσιμων κριτηρίων χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση της ΔΔΑΚ. Η επιλογή τους βασίστηκε σε προηγούμενες δημοσιεύσεις, καθώς οι κατευθυντήριες οδηγίες για

την εκτίμηση της διαστολικής λειτουργίας δημοσιεύτηκαν μετά το πέρας της παρούσας μελέτης (Nagueh *et al.*, 2009).

Αν και αυτά τα κριτήρια περιλαμβάνονται κατά το μεγαλύτερο μέρος στις κατευθυντήριες οδηγίες εκτίμησης της διαστολικής λειτουργίας της αριστερής κοιλίας, δεν μπορεί να αποκλειστεί ότι η ΔΔΑΚ ίσως να υπερδιαγνώστηκε σε ένα μικρό αριθμό ασθενών. Πιο σύγχρονες μετρήσεις, όπως οι μέσες διαστολικές ταχύτητες από όλα τα σημεία του μιτροειδικού δακτυλίου ή ο όγκος του αριστερού κόλπου θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σε μελλοντικές έρευνες, προκειμένου να αποκαλύψουν περισσότερο απτές αλλαγές στη διαστολική λειτουργία της αριστερής κοιλίας.

Μόνο ένας ασθενής εμφάνισε προκνημιαίο οίδημα στην ομάδα Α από την πιογλιταζόνη κατά τη διάρκεια της μελέτης, χωρίς άλλα συμπτώματα ή σημεία καρδιακής ανεπάρκειας. Ο ασθενής διέκοψε την πιογλιταζόνη μόνος του, πολύ πριν τη διεξαγωγή της επαναληπτικής υπερηχοκαρδιογραφικής μελέτης. Τέλος, η ύπαρξη στεφανιαίας νόσου δεν μπορούσε να αποκλειστεί ισχυρά με αγγειογραφία ή μη επεμβατική εκτίμηση προκλητής ισχαιμίας. Η πιθανή ύπαρξη στεφανιαίας νόσου θα μπορούσε να επηρεάσει την επίδραση της πιογλιταζόνης στη διαστολική λειτουργία.

Συμπερασματικά, σε ασυμπτωματικούς ΣΔ2 ασθενείς με ενδείξεις ΔΔΑΚ και διατηρημένη συστολική λειτουργία, η χορήγηση πιογλιταζόνης για 6 μήνες δεν είχε ούτε ευνοϊκό ούτε δυσμενές αποτέλεσμα στους υπερηχοκαρδιογραφικούς δείκτες της καρδιακής δομής και τη συστολική ή διαστολική λειτουργία, παρά τα θετικά αποτελέσματα στο γλυκαιμικό έλεγχο, την αντίσταση στην ινσουλίνη, το λιπιδαιμικό προφίλ και την αρτηριακή πίεση. Αν και η χρήση των γλιταζονών έχει συσχετιστεί με την επαγωγή καρδιακής ανεπάρκειας σε μερικούς ΣΔ2 ασθενείς, η πιογλιταζόνη δεν φάνηκε να έχει επιβλαβές αποτέλεσμα στις ουσιαστικές διαστολικές ιδιότητες του μυοκαρδίου ΣΔ2 ασθενών με προϋπάρχουσα ΔΔΑΚ. Μεγαλύτερες μελέτες με πιο ευαίσθητες μεθόδους απαιτούνται, προκειμένου να αποκαλυφθούν πιθανές ευνοϊκές επιδράσεις της πιογλιταζόνης στις μυοκαρδιακές διαστολικές ιδιότητες.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10<sup>ο</sup>

### ΣΥΝΟΛΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα μελέτη διερεύνησε την επίδραση της χορήγησης γλιταζονών για 6 μήνες (πιογλιταζόνης και ροζιγλιταζόνης) στην ενδοθηλιακή λειτουργία ασθενών με ΣΔ2, οι οποίοι ελάμβαναν μονοθεραπεία με μετφορμίνη ή σουλφονυλουρία (πρωιμότερα στάδια), διπλοθεραπεία με μετφορμίνη ή σουλφονυλουρία και ινσουλίνη (προχωρημένος ΣΔ2). Επιπλέον, διερευνήθηκε η καρδιαγγειακή ασφάλεια από τη χορήγηση της πιογλιταζόνης σε σημαντικό δείγμα του παραπάνω πληθυσμού. Τέλος, προσδιορίστηκαν οι προγνωστικοί παράγοντες της αγγειακής δυσλειτουργίας στο δείγμα αυτό των ΣΔ2 ασθενών.

Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές ανεπιθύμητες ενέργειες από τη χρήση των γλιταζονών στους παραπάνω ασθενείς, ούτε σημειώθηκαν σοβαρά καρδιαγγειακά συμβλήματα κατά τη διάρκεια των 6 μηνών της μελέτης. Ήπιο προκνημιαίο οίδημα εμφανίστηκε σε περιορισμένο αριθμό ασθενών, που όμως δεν οδήγησε σε διακοπή της αγωγής στις περισσότερες περιπτώσεις. Επιπλέον, η χρήση των γλιταζονών δεν συνοδεύτηκε από αύξηση των ηπατικών ενζύμων.

Η θεραπεία με γλιταζόνες βελτίωσε σημαντικά την ενδοθηλιακή λειτουργία, εκτιμώμενη μέσω της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής (FMD), σε όλες τις υποομάδες της μελέτης, ακόμη και σε ασθενείς με προχωρημένο ΣΔ2 που ελάμβαναν ινσουλίνη. Αναφορικά με την επίδραση στην καρδιακή λειτουργία, η χορήγηση της πιογλιταζόνης έδειξε ουδέτερο αποτέλεσμα στους ασθενείς της μελέτης.

Στη συνέχεια παρατίθενται αναλυτικά τα συμπεράσματα των επιμέρους μελετών της παρούσας έρευνας:

- Σε ασθενείς με ΣΔ2 που λαμβάνουν ήδη μετφορμίνη, η προσθήκη πιογλιταζόνης σε σύγκριση με γλιμεπιρίδη για 6 μήνες βελτίωσε την ενδοθηλιακή λειτουργία και την αντίσταση στην ινσουλίνη, παρά τον όμοιο γλυκαιμικό έλεγχο. Η ευνοϊκή αυτή επίδραση της πιογλιταζόνης στην ενδοθηλιακή λειτουργία αποδόθηκε κυρίως στην παράλληλη μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη.

- Η προσθήκη πιογλιταζόνης σε ασθενείς με ΣΔ2 που ελάμβαναν σουλφονουλουρία βελτίωσε σημαντικά το FMD, δράση που όμως δεν φάνηκε να διαφέρει σημαντικά από αυτή της μετφορμίνης. Η βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας από τους δύο αυτούς παράγοντες δεν βρέθηκε να σχετίζεται με τη βελτίωση του γλυκαιμικού ελέγχου ή τη μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη σε αυτή την ομάδα ασθενών.
- Η προσθήκη πιογλιταζόνης για 6 μήνες σε ασθενείς με ΣΔ2 που ήταν σε διπλή αγωγή με σουλφονουλουρία και μετφορμίνη, η οποία έχει αμφίβολη καρδιαγγειακή ασφάλεια, βελτίωσε την ενδοθηλιακή λειτουργία των ασθενών αυτών ανεξάρτητα από την βελτίωση του γλυκαιμικού ελέγχου ή τη μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη. Η βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας φάνηκε να είναι ανεξάρτητο αποτέλεσμα της πιογλιταζόνης.
- Η προσθήκη μικρής δόσης ροζιγλιταζόνης για 6 μήνες σε ασθενείς με προχωρημένο ΣΔ2 που ελάμβαναν ινσουλίνη είχε ευνοϊκή επίδραση στην ενδοθηλιακή λειτουργία. Ωστόσο, η προγνωστική αξία της βελτίωσης του FMD από τη ροζιγλιταζόνη είναι άγνωστη, εξαιτίας των τελευταίων δεδομένων σχετικά με την αύξηση του καρδιαγγειακού κινδύνου από τη ροζιγλιταζόνη ειδικά σε αυτή την κατηγορία ΣΔ2 ασθενών.
- Σε ασθενείς με ΣΔ2 χωρίς γνωστή μακροαγγειοπάθεια ή μικροαγγειοπάθεια, η διαταραχή στο FMD συσχετίστηκε ανεξάρτητα μόνο με τη μεγαλύτερη διάρκεια του ΣΔ2, ενώ δεν παρατηρήθηκαν συσχετίσεις με τους υπόλοιπους παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου που είναι γνωστό ότι επηρεάζουν την ενδοθηλιακή λειτουργία. Επιπλέον, η δυσλειτουργία των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων και η αυξημένη αρτηριακή σκληρότητα ήταν περισσότερο έκδηλες στους πιο ηλικιωμένους ασθενείς με υπέρταση. Ο χειρότερος γλυκαιμικός έλεγχος συσχετίστηκε μόνο με τη διαταραχή της λειτουργίας των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων.

- Σε ασυμπτωματικούς ΣΔ2 ασθενείς με ενδείξεις διαστολικής δυσλειτουργίας της αριστερής κοιλίας (ΔΔΑΚ) και διατηρημένη συστολική λειτουργία, η χορήγηση πιογλιταζόνης για 6 μήνες είχε ουδέτερο αποτέλεσμα στους υπερηχοκαρδιογραφικούς δείκτες της καρδιακής δομής και της συστολικής ή διαστολικής λειτουργίας, παρά τη βελτίωση της υπεργλυκαιμίας, της αντίστασης στην ινσουλίνη, του λιπιδαιμικού προφίλ και της αρτηριακής πίεσης. Επιπλέον, η πιογλιταζόνη δεν φάνηκε να έχει επιβλαβές αποτέλεσμα στη διαστολική λειτουργία του μυοκαρδίου ΣΔ2 ασθενών με προϋπάρχουσα ΔΔΑΚ.

Περαιτέρω έρευνα απαιτείται προκειμένου να εξακριβωθούν οι μηχανισμοί βελτίωσης της ενδοθηλιακής λειτουργίας των παραπάνω ασθενών και να διερευνηθεί για ποιους λόγους αυτή δεν μεταφράζεται σε βελτίωση της καρδιαγγειακής πρόγνωσης στην ομάδα των ινσουλινοθεραπευόμενων ΣΔ2 ασθενών. Αναφορικά με τη δράση της πιογλιταζόνης στην καρδιακή λειτουργία απαιτούνται μεγαλύτερες μελέτες με πιο ευαίσθητες μεθόδους, έτσι ώστε να αποκαλυφθούν πιθανές ευνοϊκές επιδράσεις αυτής στη λειτουργία του μυοκαρδίου καθώς και οι μηχανισμοί που τις επάγουν.



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

### Θεραπεία του σακχαρώδη διαβήτη και επίδραση στη λειτουργικότητα του ενδοθηλίου των αγγείων.

Αικατερίνη Παπαθανασίου  
Διδακτορική διατριβή

**Υπάρχουσα γνώση – Σκοπός μελέτης:** Ο Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου II (ΣΔ2) αποτελεί την πιο συχνή ενδοκρινική διαταραχή με συνεχώς αυξανόμενη επίπτωση, που πλέον έχει πάρει διαστάσεις επιδημίας. Οι ασθενείς με ΣΔ2 παρουσιάζουν σοβαρές μικροαγγειακές και μακροαγγειακές επιπλοκές, στις οποίες αποδίδονται η αυξημένη νοσηρότητα και θνησιμότητα καθώς και το υψηλό κόστος για την αντιμετώπιση της νόσου. Η καρδιαγγειακή νόσος αποτελεί την κύρια αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας των ΣΔ2 ασθενών, ενώ η πρόγνωση μετά από οξύ στεφανιαίο συμβάν είναι δυσμενέστερη στους ΣΔ2 ασθενείς σε σχέση με μη διαβητικούς πληθυσμούς. Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία αποτελεί την πρωϊμότερη ανιχνεύσιμη διαταραχή της αθηροσκλήρωσης, που είναι η κύρια παθοφυσιολογική διεργασία της καρδιαγγειακής νόσου. Η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου προηγείται της εμφανούς αρτηριακής νόσου κατά χρόνια και έχει συσχετιστεί με την αντίσταση στην ινσουλίνη, που αποτελεί τον κύριο αιτιοπαθογενετικό παράγοντα του ΣΔ2. Μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη θα μπορούσε να οδηγήσει σε βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας και της καρδιαγγειακής πρόγνωσης ασθενών με ΣΔ2.

Οι Θειαζολιδινεδιόνες (γλιταζόνες), πιογλιταζόνη και ροζιγλιταζόνη, είναι από του στόματος αντιδιαβητικοί παράγοντες που βελτιώνουν το γλυκαιμικό έλεγχο μειώνοντας την αντίσταση στην ινσουλίνη στους περιφερικούς ιστούς. Εκτός από την υπογλυκαιμική τους δράση, οι γλιταζόνες έχουν ευνοϊκή επίδραση και στα αγγεία, καθώς βελτιώνουν τη ενδοθηλιακή λειτουργία και άλλους δείκτες αγγειακής λειτουργίας, την αρτηριακή πίεση, το μεταβολισμό των λιπιδίων και τους δείκτες φλεγμονής και θρόμβωσης, καθυστερώντας πιθανώς την εξέλιξη της υποκλινικής αθηροσκλήρωσης. Αναφορικά με την καρδιαγγειακή πρόγνωση, πρόσφατες μελέτες και μετα-αναλύσεις έδειξαν ότι η πιογλιταζόνη μπορεί να μειώσει το ποσοστό

εμφάνισης καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε ΣΔ2 ασθενείς υψηλού κινδύνου (μελέτη PROactive), ενώ αντίθετα η ροζιγλιταζόνη ενοχοποιείται για αύξηση των συμβαμάτων αυτών στους ΣΔ2 ασθενείς, ιδιαίτερα σε αυτούς υπό ινσουλινοθεραπεία.

Η παρούσα μελέτη σχεδιάστηκε με κύριο σκοπό να διερευνήσει την επίδραση των γλιταζονών (πιογλιταζόνης ή ροζιγλιταζόνης) στην ενδοθηλιακή λειτουργία ασθενών με ΣΔ2 χωρίς γνωστή καρδιαγγειακή νόσο, οι οποίοι δεν είχαν επαρκή γλυκαιμικό έλεγχο με την έως τότε χορηγούμενη αντιδιαβητική αγωγή και που βρίσκονταν σε διαφορετικά στάδια της νόσου (διαφορετική χρονική διάρκεια από την διάγνωση της νόσου, ανάγκη για ένα ή περισσότερα αντιδιαβητικά φάρμακα ή χορήγηση ινσουλίνης).

Δευτερευόντως μελετήθηκαν:

- A) η επίδραση της πιογλιταζόνης στην μυοκαρδιακή λειτουργία και
- B) οι προγνωστικοί παράγοντες της ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας και αυξημένης αρτηριακής σκληρότητας στο σύνολο των διαβητικών ασθενών κατά το αρχικό στάδιο της μελέτης.

**Υλικό – Μέθοδοι.** Στη μελέτη συμμετείχαν 165 ασθενείς με ΣΔ2, ηλικίας 40 – 80 ετών, χωρίς κάποιο σοβαρό πρόβλημα υγείας και χωρίς γνωστό ιστορικό καρδιαγγειακών παθήσεων, οι οποίοι δεν επιτύγχαναν το γλυκαιμικό στόχο με την τρέχουσα αγωγή. Η συλλογή του δείγματος έγινε στα εξωτερικά Ενδοκρινολογικά ιατρεία του Πανεπιστημιακού και Γενικού Νοσοκομείου Χατζηκώστα Ιωαννίνων στα πλαίσια του τακτικού εξαμηνιαίου ελέγχου τους, κατά το χρονικό διάστημα μεταξύ Οκτωβρίου 2003 και Ιουλίου 2005. Η επιλογή των ασθενών οι οποίοι συναίνεσαν να συμμετάσχουν στη μελέτη έγινε σύμφωνα με τη σειρά προσέλευσής τους στο εξωτερικό ιατρείο και αφού προηγήθηκε λήψη του ιατρικού τους ιστορικού, πλήρους κλινική εξέταση και διενέργεια ηλεκτροκαρδιογραφήματος.

Για την εκτίμηση της δράσης των γλιταζονών στην ενδοθηλιακή και καρδιακή λειτουργία σχεδιάστηκαν 4 διαφορετικές ανοικτές τυχαιοποιημένες μελέτες κατά τις οποίες στους ασθενείς του δείγματος προστέθηκαν στην ήδη χορηγούμενη αγωγή γλιταζόνες (πιογλιταζόνη ή ροζιγλιταζόνη) για 6 μήνες. Οποιαδήποτε άλλη αγωγή (αντιυπερτασική, υπολιπιδαιμική, αντιπηκτική) παρέμεινε σταθερή κατά τη διάρκεια της μελέτης, ενώ διατηρήθηκε το ίδιο επίπεδο φυσικής δραστηριότητας και είδος διαίτας.

Συγκεκριμένα σχεδιάστηκαν οι παρακάτω 4 ανοικτές τυχαιοποιημένες μελέτες:



- **Πρώτη μελέτη** (μελέτη Α), (N=28 άτομα). Οι ασθενείς ήταν ήδη σε θεραπεία με μετφορμίνη και τυχαιοποιήθηκαν να λάβουν πιογλιταζόνη (30 mg ημερησίως), (N=14 άτομα) ή γλιμεπιρίδη (4 mg ημερησίως), (N=14 άτομα).
- **Δεύτερη μελέτη** (μελέτη Β), (N=34 άτομα). Οι ασθενείς ελάμβαναν ήδη σουλφονουλουρία και τυχαιοποιήθηκαν σε προσθήκη πιογλιταζόνης (30mg ημερησίως), (n=17) ή μετφορμίνης (850mg δύο φορές/ημέρα), (N=17 άτομα).
- **Τρίτη μελέτη** (μελέτη Γ), (N=45 άτομα). Οι ασθενείς ήταν ήδη σε διπλοθεραπεία με σουλφονουλουρία και μετφορμίνη και τυχαιοποιήθηκαν να λάβουν πιογλιταζόνη (30 mg ημερησίως), (N=30 άτομα) ή τίποτε (N=15 άτομα).
- **Τέταρτη μελέτη** (μελέτη Δ), (N=34 άτομα). Οι ασθενείς ήταν ήδη σε ινσουλινοθεραπεία και τυχαιοποιήθηκαν να λάβουν ροζιγλιταζόνη (4 mg ημερησίως) (N=17 άτομα) ή τίποτε (N=17 άτομα).

Η ύπαρξη παραγόντων καρδιαγγειακού κινδύνου, η λήψη φαρμάκων και η διάρκεια από τη διάγνωση του ΣΔ2 καταγράφονταν για κάθε ασθενή. Ακολουθούσε πλήρης κλινική εξέταση, υπολογισμός του δείκτη μάζας σώματος (Δ.Μ.Σ) και του λόγου των περιμέτρων μέσης/ισχία και βιοχημικός προσδιορισμός της γλυκόζης και ινσουλίνης νηστείας, HbA1c, λιπιδίων ορού, ηπατικής και νεφρικής λειτουργίας, υψηλής ευαισθησίας C-αντιδρώσα πρωτεΐνης και γενικής εξέτασης αίματος. Η αντίσταση στην ινσουλίνη εκτιμήθηκε από τους δείκτες HOMA-IR (Insulin resistance Homeostatic Model Assessment index) και GIR (fasting glucose-to-insulin ratio). Ακόμη, κρατήθηκαν οροί για τη μέτρηση, σε δεύτερο χρόνο, των δεικτών αγγειακής φλεγμονής διακυτταρικού μορίου προσκόλλησης 1 (Intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1), του αγγειακού μορίου κυτταρικής προσκόλλησης (Vascular Cell Adhesion Molecule-1, VCAM-1) και της e-σελεκτίνης (e-selectin). Στη μελέτη Γ μετρήθηκε επιπλέον η μικροαλβουμίνη πρωινού δείγματος ούρων. Η διαδικασία αυτή διεξαγόταν στο αρχικό σημείο της μελέτης και στο τέλος των 6 μηνών.

Οι αγγειακές και υπερηχοκαρδιογραφικές μελέτες διεξάγονταν την επόμενη ημέρα. Η εκτίμηση της ενδοθηλιακής λειτουργίας έγινε με τη μέτρηση της ενδοθηλιο-εξαρτώμενης αγγειοδιαστολής (flow-mediated dilation, FMD) της βραχιόνιας αρτηρίας, ενώ της αρτηριακής σκληρότητας με τη μέτρηση της ταχύτητας σφυγμικού κύματος (pulse wave velocity, PWV) με τονομετρία περιφερικών αρτηριών. Η

υπερηχοκαρδιογραφική μελέτη περιλάμβανε την εκτίμηση της επίδρασης των γλιταζονών σε νεότερους δείκτες διαστολικής λειτουργίας της αριστερής κοιλίας και διεξήχθη μόνο στους ασθενείς με ενδείξεις διαστολικής δυσλειτουργίας της αριστερής κοιλίας (ΔΔΑΚ) που ελάμβαναν από του στόματος αγωγή (ομάδες Α,Β,Γ). Η αρτηριακή σκληρότητα μετρήθηκε σε όλους τους ασθενείς μόνο στο αρχικό σημείο της μελέτης, ενώ το FMD και η υπερηχοκαρδιογραφική μελέτη έγιναν αρχικά και μετά από 6 μήνες.

**Αποτελέσματα.** Στο αρχικό σημείο της μελέτης δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των υποομάδων της κάθε μελέτης.

**Μελέτη Α:** Στον επανέλεγχο, ο γλυκαιμικός έλεγχος ήταν όμοιος για τις δύο ομάδες. Παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές από την προσθήκη σουλφονουλουρίας έναντι πιογλιταζόνης στις εξής παραμέτρους: την περίμετρο μέσης, τα επίπεδα ινσουλίνης νηστείας, το δείκτη HOMA, τα επίπεδα της HDL χοληστερόλης, και το FMD, ( $p < 0.05$  για όλα). Ο μόνος ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας της βελτίωσης του FMD ήταν οι αλλαγές στο δείκτη HOMA από τη θεραπεία ( $R^2$  0.488, slope: -0.782, [95% CI: -1.128, -0.436],  $p = 0.0001$ ).

**Μελέτη Β:** Η προσθήκη πιογλιταζόνης είχε ως αποτέλεσμα σημαντική μείωση της ινσουλίνης νηστείας ( $p = 0.01$ ), της HbA1c ( $p = 0.01$ ) και του δείκτη HOMA ( $p = 0.003$ ) και αύξηση του FMD ( $P = 0.002$ ). Στην ομάδα της μετφορμίνης δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές αλλαγές. Η στατιστική ανάλυση έδειξε μία μη σημαντική τάση ( $p = 0.1$ ) για μεγαλύτερη βελτίωση του FMD από την πιογλιταζόνη σε σχέση με τη μετφορμίνη. Ο μόνος ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας της βελτίωσης του FMD για όλους τους ασθενείς ήταν η αλλαγή από τη θεραπεία στην ολική χοληστερόλη (B -0.024,  $p = 0.018$ ). Όσο μεγαλύτερη ήταν η μείωση της ολικής χοληστερόλης, τόσο μεγαλύτερη ήταν η βελτίωση του FMD.

**Μελέτη Γ.** Η προσθήκη πιογλιταζόνης μείωσε σημαντικά: τη HbA1c ( $p < 0.05$ ), τη διαστολική αρτηριακή πίεση ( $p < 0.05$ ), τη μικροαλβουμίνη ούρων ( $p < 0.05$ ) και το FMD ( $p < 0.0005$ ). Ακόμη, παρατηρήθηκε μία μικρή, μη σημαντική διαφορά στο ΔΜΣ ( $p = 0.077$ ). Η ανάλυση βηματικής γραμμικής παλινδρόμησης για όλους τους ασθενείς ανέδειξε ως ανεξάρτητους προγνωστικούς παράγοντες της βελτίωσης του FMD τη

θεραπεία με πιογλιταζόνη (slope: 1.63 [95%CI: 0.97, 2.30],  $p < 0.0001$ ) και το FMD κατά την αρχική μέτρηση (slope: -0.44 [95%CI: -0.69, -0.20],  $p < 0.005$ ).

**Μελέτη Δ.** Η προσθήκη ροζιγλιταζόνης μείωσε σημαντικά τη HbA1c ( $p < 0.0005$ ) και τη γλυκόζη νηστείας ( $p < 0.05$ ) και βελτίωσε το FMD ( $p < 0.005$ ). Στην ομάδα της ινσουλίνης δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές αλλαγές. Ο μόνος ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας της βελτίωσης του FMD ήταν η θεραπεία με ροζιγλιταζόνη ( $p = 0.048$ ).

Ο υπερηχοκαρδιογραφικός έλεγχος δεν διέφερε μεταξύ των ομάδων και δεν έδειξε σημαντικές διαφορές σε καμία παράμετρο από τη χρήση της πιογλιταζόνης ( $p = NS$  για όλα). Αναφορικά με τους προγνωστικούς παράγοντες της αγγειακής λειτουργίας, η διάρκεια το ΣΔ2 ήταν ο μόνος ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας του FMD ( $\beta -0.40$ ,  $R^2 0.05$ ,  $P=0.003$ ). Η προχωρημένη ηλικία, η γλυκόζη νηστείας και η παρουσία υπέρτασης σχετίστηκαν με μειωμένη νιτρωδο-εξαρτώμενη αγγειοδιαστολή (nitrate-mediated vasodilation, NMD), ενώ η προχωρημένη ηλικία και η συστολική αρτηριακή υπέρταση με το PWV ( $R^2 0.25$ ,  $p < 0.001$ ).

### **Συμπεράσματα.**

- ✓ Σε ΣΔ2 ασθενείς που ήταν ήδη σε μετφορμίνη, η προσθήκη πιογλιταζόνης, σε σύγκριση με γλιμεπιρίδη, βελτίωσε την ενδοθηλιακή λειτουργία παρά τον όμοιο γλυκαιμικό έλεγχο, δράση που αποδόθηκε σε μείωση της αντίστασης στην ινσουλίνη.
- ✓ Σε ασθενείς που ελάμβαναν σουλφονουρία, η δράση της πιογλιταζόνης σε σύγκριση με τη μετφορμίνη στην ενδοθηλιακή λειτουργία δεν διέφερε σημαντικά. Η βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας σχετίστηκε κυρίως με τη βελτίωση του λιπιδαιμικού ελέγχου.
- ✓ Η προσθήκη πιογλιταζόνης σε ασθενείς που ελάμβαναν διπλοθεραπεία με σουλφονουρία και μετφορμίνη βελτίωσε την ενδοθηλιακή λειτουργία, αποτέλεσμα που αποδόθηκε στην ίδια την πιογλιταζόνη.
- ✓ Σε ινσουλινοθεραπευόμενους ασθενείς με προχωρημένο ΣΔ2, η χορήγηση ροζιγλιταζόνης βελτίωσε την ενδοθηλιακή λειτουργία. Περαιτέρω μελέτες απαιτούνται για να διερευνηθεί γιατί αυτή η ευνοϊκή δράση στο ενδοθήλιο δεν

μεταφράζεται σε βελτίωση της καρδιαγγειακής πρόγνωση στους ασθενείς αυτούς.

- ✓ Αν και η χρήση γλιταζονών έχει σχετιστεί με καρδιακή ανεπάρκεια σε μερικούς ΣΔ2 ασθενείς, η χορήγηση πιο γλιταζόνης δεν είχε ευνοϊκά ή επιβλαβή αποτελέσματα στους υπερηχοκαρδιογραφικούς δείκτες καρδιακής δομής, συστολικής ή διαστολικής λειτουργίας σε ΣΔ2 ασθενείς με προυπάρχουσα ΔΔΑΚ.
- ✓ Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία δεν φάνηκε να σχετίζεται με τους κλασικούς παράγοντες καρδιαγγειακού κινδύνου, αλλά μάλλον με τη διάρκεια του ΣΔ2. Η δυσλειτουργία των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων και η αυξημένη αρτηριακή σκληρότητα ήταν πιο έκδηλες στους ηλικιωμένους ΣΔ2 ασθενείς με υπέρταση. Ο κακός γλυκαιμικός έλεγχος σχετίστηκε κυρίως με δυσλειτουργία των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων.

# SUMMARY

## **Treatment of Diabetes Mellitus and effect on vascular endothelial function.**

**Katerina Papathanassiou**

**Doctorate thesis**

**Background – Aim.** Type 2 diabetes mellitus (DM2) is the most common endocrine disorder with increasing incidence, which has achieved epidemic proportions. Patients with diabetes have an increased incidence of both microvascular and macrovascular complications, that are responsible for the increased morbidity and mortality and the high cost of treating the disease. Cardiovascular disease (CVD) is the major cause of morbidity and mortality in DM2 patients, with a worse prognosis after an acute CV event for diabetic, compared with non-diabetic patients. Endothelial dysfunction, which is the earliest detectable abnormality of cardiovascular health, consists the major substrate of cardiovascular disease and has been associated with insulin resistance in DM2 patients. Reduction in insulin resistance may lead to an improvement in endothelial function and cardiovascular prognosis in patients with type 2 diabetes.

Thiazolidinediones, pioglitazone and rosiglitazone, are oral antidiabetic agents that have been shown to improve glycaemic control by reducing insulin resistance in peripheral tissues. In addition to their insulin-sensitizing effects, TZDs seem to exert beneficial vascular effects, as they improve endothelial function and other indices of vascular function, blood pressure, lipid metabolism and inflammatory markers and delay the progression of subclinical atherosclerosis. Regarding cardiovascular prognosis, recent studies and meta-analyses showed that pioglitazone can reduce the incidence of cardiovascular events in DM2 patients at high risk (PROactive Study), while rosiglitazone has been associated with a rise of these events in DM2 patients, particularly those on insulin therapy.

The present study was designed primarily to investigate the effect of glitazones (pioglitazone or rosiglitazone) in endothelial function of patients with type 2 diabetes

without known cardiovascular disease who were inadequately treated and were in different stages of the disease (different time from diagnosis, need for one or more antidiabetic drugs or insulin).

The secondary aims of the study included:

- A) assessment of the impact of pioglitazone on myocardial function and
- B) identification of the predictors of endothelial dysfunction and increased arterial stiffness in all patients at baseline, before any change in their treatment.

**Materials – Methods.** 165 patients with type 2 diabetes, 40–80 years old, not optimally controlled with their current antidiabetic treatment and without known cardiovascular disease were enrolled in this study. Patients were recruited at the Endocrinology out-patient clinics of the University and Hatzikosta General Hospital of Ioannina during the period between October 2003 and July 2005, after review of their medical history, a complete physical examination and an electrocardiogram. Patients eligible for the study who consented to participate were randomly assigned based simply on the order of their presentation in the out-patient clinic.

Four different open-label, randomized studies were designed, in order to assess the vascular actions of glitazones in patients with type 2 diabetes who were already treated with antidiabetic agents p.os or insulin. In those patients, pioglitazone or rosiglitazone was added in their current treatment for 6 months. Patients were asked to maintain the same diet and level of physical activity and stable doses of concurrent medications used (glimeperide, antihypertensive, hypolipidaemic and antiplatelet medications) throughout the study.

Specifically, the following four open-label, randomized studies were designed:

- ***First study*** (study A), (n=28). Twenty-eight patients with type 2 diabetes not optimally controlled on metformin were randomized in 2 groups; glimepiride (4 mg od) was added in the first group (n=14) and pioglitazone (30 mg od) in the second group (n=14), for 6 months.
- ***Second study*** (study B), (n=34). This study randomized thirty-four patients with uncontrolled T2DM treated with sulfonylureas to receive either pioglitazone (n=17) 30mg once daily or metformin (n=17) 850mg twice daily for 6 months in order to improve glycaemic control.

- ***Third study*** (study C), (n=45). Individuals were randomized into two groups; no treatment was added in the group (n=15), while pioglitazone (30 mg od) was added in the second group (n=25) for 6 months.
- ***Fourth study*** (study D), (n=34). Patients with advanced T2DM treated with insulin were randomised into two groups: no additional treatment was given in 17 patients, while 17 patients were given rosiglitazone (4 mg once daily) for 6 months.

Cardiovascular risk factors, medications received and time since the diagnosis of diabetes were recorded and body mass index (BMI) and the minimum waist measurement between the pelvic brim and the costal margin were recorded. Fasting glucose and insulin, GHb, lipid concentrations, liver and renal function and full blood count were measured. Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM- 1), e-selectin and high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) were used as vascular inflammation indices. Urinary albumin excretion (microalbuminuria) was measured only in third study. Insulin resistance was calculated by Homeostatic Model Assessment index (HOMA-IR) and the fasting glucose-to-insulin ratio (GIR).

Vascular and echocardiography studies were performed the next day. Arterial stiffness, assessed by pulse wave velocity (PWV) using applanation tonometry, was measured in all patients only at baseline, while FMD and ECHO were performed in all patients at baseline and at 6 months. The effects of glitazones on novel echocardiographic indices of left ventricular (LV) diastolic function was investigated only in DM2 patients with LV diastolic dysfunction (LVDD) who were not receiving insulin.

**Results.** The subgroups of each study did not differ in any measured variable at baseline.

***Study A:*** Fasting glucose and glycated haemoglobin improved similarly in both groups. There were significant differences between the 2 groups in the absolute changes observed at follow-up in: waist circumference, in groups of sulfonylurea and pioglitazone, respectively; fasting insulin levels, HOMA, HDL cholesterol levels and FMD, ( $p < 0.05$  for all). The only independent predictor factor of the FMD improvement was treatment-induced changes in HOMA ( $R^2$  0.488, slope: -0.782, [95% CI: -1.128, -0.436],  $p = 0.0001$ ).

**Study B:** Addition of pioglitazone resulted in a significant decrease in fasting insulin ( $p=0.01$ ), glycated hemoglobin ( $p=0.01$ ) and HOMA index ( $p=0.003$ ) and an increase in FMD ( $P=0.002$ ). No significant changes were observed in the metformin group. Statistical analysis showed a trend (though not significant,  $p=0.1$ ) for a greater improvement in FMD with pioglitazone compared to metformin. The single independent predictor of FMD improvement in all T2DM patients was treatment-induced change in total cholesterol ( $B -0.024$ ,  $p=0.018$ ); the greater a decrease in total cholesterol, the greater an increase in FMD.

**Study C:** At follow-up, treatment with pioglitazone induced significant changes in glycated hemoglobin ( $p<0.05$ ), diastolic blood pressure ( $p<0.05$ ), urine microalbumin ( $p<0.05$ ) and FMD ( $p<0.0005$ ). A small, not significant, difference in BMI was also observed ( $p=0.077$ ). Using stepwise regression analysis in all patients, the independent predictor factors of the improvement in FMD were treatment with pioglitazone (slope:  $1.63$  [95%CI:  $0.97, 2.30$ ],  $p<0.0001$ ) and baseline FMD (slope:  $-0.44$  [95%CI:  $-0.69, -0.20$ ],  $p<0.005$ ).

**Study D.** Addition of rosiglitazone significantly reduced glycosylated haemoglobin (HbA1c) ( $p < 0.0005$ ) and fasting glucose ( $p < 0.05$ ) and improved FMD ( $p < 0.005$ ). No significant changes were observed in the insulin-only group. The single independent predictor of FMD improvement was rosiglitazone treatment ( $p = 0.048$ ).

No significant changes were observed in any echocardiographic parameter in either group and did not differ between groups ( $p = \text{NS}$  for all). Regarding determinants of vascular function, diabetes duration was the single independent predictor of FMD ( $\beta -0.40$ ,  $R^2 0.05$ ,  $P=0.003$ ). Increased age, fasting glucose and the presence of hypertension were independent predictors of decreased NMD ( $R^2 0.16$ ,  $p<0.001$ ), while increased age and systolic blood pressure were independently associated with increased PWV ( $R^2 0.25$ ,  $p<0.001$ ).

## **Conclusions.**

- ✓ In patients with type 2 diabetes already on metformin, addition of pioglitazone as compared to glimepiride, improved endothelial function despite similar



glycemic control. The improvement in endothelial function was mainly due to a reduction in insulin resistance.

- ✓ The effects of pioglitazone, as compared to metformin, on FMD in DM2 patients treated with sulfonylureas did not differ greatly. Improvement in endothelial function seem to depend mainly on lipid control.
- ✓ In DM2 patients treated with sulfonylurea plus metformin, the addition of pioglitazone for 6 months improved endothelial function, that seemed to be an independent effect of pioglitazone.
- ✓ In patients with advanced T2DM treated with insulin, addition of rosiglitazone may have a beneficial effect on endothelial function. Further research is needed to investigate why this beneficial effect does not translate into improved cardiovascular prognosis in these patients.
- ✓ Although the use of TZDs has been associated with induction of HF in some DM2 patients, pioglitazone had no favorable or harmful effect on echocardiographic indices of cardiac structure, systolic or diastolic function in DM2 patients with pre-existing LVDD.
- ✓ In T2DM patients, endothelial dysfunction did not appear to be associated with any traditional cardiovascular risk factors but rather with the long duration of diabetes. Vascular smooth muscle dysfunction and increased arterial stiffness were more prominent in older T2DM patients with hypertension. Worse glycemic control was associated with impaired vascular smooth muscle function.



## **BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

### **ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ**

**Adams JF, Clark JS, Ireland JT, et al.** Malabsorption of vitamin B12 and intrinsic factor secretion during biguanide therapy. *Diabetologia* 1983;24:16–8.

**Adams MR, Robinson J, McCredie R, Seale JP, Sorensen KE, Deanfield JE, Celermajer DS.** Smooth muscle dysfunction occurs independently of impaired endothelium-dependent dilation in adults at risk of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol.* 1998;32(1):123-7.

**Aengevaeren WRM, Uigen GJH, Jakema JW, Bruschke AVG, van der Werf T.** Functional evaluation of lipid lowering therapy by pravastatin in the regression growth evaluation statin study (REGRESS). *Circulation* 1997; 96: 429-35.

**Agewall S, Hernberg A.** Atorvastatin normalizes endothelial function in healthy smokers. *Clin Science* 2006; 111: 87–91.

**Ahmadian M, Suh J.M, Hah N, Liddle C, Atkins A.N, Downes M, Evans R.M.** PPAR $\gamma$  signaling and metabolism: the good, the bad and the future. *Nature Medicine* 2013, 99:557-566.

**Ahren B, Havel P.J.** Leptin and insulin secretion. *Am J Physiol.* 1999; 277(4 Pt 2):R959-66.

**Aji W, Ravalli S, Szabolcs M et al.** L-arginine prevents xanthoma development and inhibits atherosclerosis in LDL receptor knockout mice. *Circulation* 1997; 95: 430-7.

**Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, Fruchart JC, James WP, Loria CM, Smith SC, Jr.** Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009, 120:1640-1645.

**American Diabetes Association.** Standards of Medical Care in Diabetes—2011. *Diabetes Care* 2011; 34, S (1): S11- S 61.

**American Diabetes Association.** Standards of Medical Care in Diabetes 2013. *Diabetes Care* 2013; 37 (S1): S14-S80.

**American Diabetes Association.** Standards of Medical Care in Diabetes 2014. *Diabetes Care* 2014; 36 (S1): S11-S66

**Anan F, Takahashi N, Ooie T, Yufu K, Hara M, Nakagawa M, Yonemochi H, Saikawa T, Yoshimatsu H.** Effects of valsartan and perindopril combination therapy on left ventricular hypertrophy and aortic arterial stiffness in patients with essential hypertension. *Eur J Clin Pharmacol.* 2005;61(5-6):353-9.

**Anderson TJ.** Assessment and treatment of endothelial dysfunction in humans. *J Am Coll Cardiol* 1999; 34: 631-8.

**Anderson EA, Mark AL.** Flow-mediated and reflex changes in large peripheral artery tone in humans. *Circulation* 1989; 79:93-100.

**Anderson TJ, Meredith IT, Yeung AC et al.** The effect of cholesterol-lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion. *N Engl J Med* 1995; 332: 488-493.

**Anderson TJ, Meredith IT, Charbonneau F et al.** Endothelium-dependent coronary vasomotion relates to the susceptibility of LDL to oxidation in humans. *Circulation* 1996; 93: 1647-50.

**Anderson TJ, Overhiser RW, Haber HE, Charbonneau F.** A comparative study of four anti-hypertensive agents on endothelial function in patients with coronary disease. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31: 327(abstr).

**Anderson TJ, Elstein E, Haber HE, Charbonneau F.** Comparative study of ACE inhibition, angiotensin II antagonism and calcium channel blockade on flow-mediated vasodilation in patients with coronary disease (B.A.N.F.F study). *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 60.

**Anderson PW, Zhang XY, Tian J, Correale JD, Xi XP, Yang D, Graf K, Law RE, Hsueh WA.** Insulin and angiotensin II are additive in stimulating TGF- $\beta$ 1 and matrix mRNAs in mesangial cells. *Kidney Int* 1996; 50: 745-753.

**Andrews TC, Raby K, Barry J et al.** Effect of cholesterol reduction on myocardial ischemia in patients with coronary disease. *Circulation* 1997; 95: 324-8.

**Annonu AK, Fattah AA, Mokhtar MS, Ghareeb S, Elhendy A:** Left ventricular systolic and diastolic functional abnormalities in asymptomatic patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Am Soc Echocardiogr* 2001, 14:885-891.

**Arner, P.** The adipocyte in insulin resistance: Key molecules and the impact of the thiazolidinediones. *Trends Endocrinol. Metab.* 2003; 14:137-145.

**Asnani S, Kunhiraman B, Jawa A, Akers D, Lumpkin D and Fonseca V.** Pioglitazone restores endothelial function in patients with type 2 diabetes treated with insulin. *Metab Syndr Relat Disord* 2006; 4: 179–184.

**Ayaori M, Iwakami N, Uto-Kondo H, Sato H, Sasaki M, Komatsu T, Iizuka M, Takiguchi S, Yakushiji E, Nakaya K, MD, Yogo M, Ogura M, MD, PhD; Takase B, Murakami T, Ikewaki K.** Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors Attenuate Endothelial Function as Evaluated by Flow-Mediated Vasodilatation in Type 2 Diabetic Patients. *J Am Heart Assoc.* 2013;2:e003277

**Bagg W, Whalley GA, Gamble G, Drury PL, Sharpe N and Braatvedt GD.** Effects of improved glycaemic control on endothelial function in patients with type 2 diabetes. *Intern Med J* 2001; 31: 322-328.

**Bahia, L., et al.,** Adiponectin is associated with improvement of endothelial function after rosiglitazone treatment in non-diabetic individuals with metabolic syndrome. *Atherosclerosis*, 2007. 195(1): p. 138-46.

**Bajaj M, DeFronzo RA** Metabolic and molecular basis of insulin resistance. *J Nucl Cardiol* 2003, 10:311–323.

**Bak JF, Møller N, Schmitz O, Saaek A, Pedersen O.** In vivo insulin action and muscle glycogen synthase activity in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: effects of diet treatment. *Diabetologia* 1992; 35:777–84.

**Ban K, Noyan-Ashraf MH, Hoefler J, Bolz SS, Drucker DJ, Husain M.** Cardioprotective and vasodilatory actions of glucagon-like peptide 1 receptor are mediated through both glucagon-like peptide 1 receptor-dependent and - independent pathways. *Circulation.* 2008;117:2340–2350.

**Bank AJ, Kelly AS, Thelen AM, Kaiser DR, Gonzalez-Campoy JM.** Effects of carvedilol versus metoprolol on endothelial function and oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Hypertens* 2007; 20: 777-783.

**Banskota NK, Taub R, Zellner K, King GL.** Insulin, insulin-like growth factor I and platelet-derived growth factor interact additively in the induction of the protooncogene c-myc and cellular proliferation in cultured bovine aortic smooth muscle cells. *Mol Endocrinol* 1989; 3:1183–1190.

**Baron AD.** The coupling of glucose metabolism and perfusion in human skeletal muscle. The potential role of endothelium-derived nitric oxide. *Diabetes.* 1996;45 S 1:S105-9.

**Barker, D.J.P., Hales, C.N., Fall, C.H.D., Osmond, C., Phipps, K., and Clark, P.M.S.** Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. *Diabetologia* 1993, 36, 62-67.

**Bastaki S.** Diabetes mellitus and its treatment. *Int J Diabetes & Metabolism* 2005;13:111-134.

**Basu A, Charkoudian N, Schrage W, Rizza RA, Basu R, Joyner MJ.** Beneficial effects of GLP-1 on endothelial function in humans: dampening by glyburide but not by glimepiride. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007;293: E1289–E1295.

**Bavdekar, A., Yajnik, C.S., Fall, C.H.D., Bapat, S., Pandit, A.N., Deshpande, V., Bhawe, S., Kellingray, S.D., and Joglekar, C.** Insulin resistance syndrome in 8-year-old Indian children: small at birth, big at 8 years, or both? *Diabetes* 1999, 48, 2422-2429.

**Bechlioulis, A., et al.,** Menopause and hormone therapy: from vascular endothelial function to cardiovascular disease. *Hellenic J Cardiol*, 2009. 50(4): p. 303-15.

**Beckman JA, Goldfine AB, Gordon MB, Carrett LA, Creager MA.** Inhibition of protein kinase c $\beta$  prevents impaired endothelium-dependent vasodilation caused by hyperglycemia in humans. *Circ Res* 2002; 90:107-111.

**Beishuizen E.D, Tamsma J.T, Jukema W, Van de Ree M.A, van der Vijver JM, Meinders E, Huisman M.V.** The Effect of Statin Therapy on Endothelial Function in Type 2 Diabetes Without Manifest Cardiovascular Disease. *Diabetes Care* 2005; 28:1668–1674.

**Benndorf RA, Appel D, Maas R, Sxcwedhelm E, et al.** Telmisartan improves endothelial function in patients with essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 2007, 50: 367-371.

**Berry KL, Skyrme-Jones RA, Meredith IT.** Occlusion cuff position is an important determinant of the time course and magnitude of human brachial artery flow-mediated dilation. *Clin Sci* 2000; 99:261-7.

**Betteridge DJ, Verge `s B.** Long-term effects on lipids and lipoproteins of pioglitazone versus gliclazide addition to metformin and pioglitazone versus metformin addition to sulphonylurea in the treatment of type 2 diabetes. *Diabetologia* 2005; 48: 247–8.

**Biscetti F, Straface G, Arena V, Stigliano E, Pecorini G, Rizzo P, De Angelis G, Iuliano L, Ghirlanda G, Flex A:** Pioglitazone enhances collateral blood flow in ischemic hindlimb of diabetic mice through an Akt-dependent VEGF-mediated mechanism, regardless of PPAR $\gamma$  stimulation. *Cardiovasc Diabetol* 2009, 8:49.

**Bjarnegård N, Arnqvist HJ, Lindström T, Jonasson L, Jönsson A, Länne T.** Long-term hyperglycaemia impairs vascular smooth muscle cell function in women with type 1 diabetes mellitus. *Diab Vasc Dis Res.* 2009;6(1):25-31.

**Blacher J, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, Safar ME, London GM.** Impact of aortic stiffness on survival in end-stage renal disease. *Circulation.* 1999;99(18):2434-9.

**Boden G.** Free fatty acids – the link between obesity and insulin resistance. *Endocr Pract* 2001 ;7:44–51.

**Boden G, Shulman G.I.** Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and  $\beta$ -cell dysfunction. *European Journal of Clinical Investigation* 2002; 32 (s3): 14–23.

**Boger RH, Moias R, Schulze F, Schwedhelm E.** Elevated levels of asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a marker of cardiovascular disease and mortality. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43: 1124-1129.

**Botton L.M., Green A.** Long-term regulation of lipolysis and hormone-sensitive lipase by insulin and glucose. *Diabetes* 1999; 48(9), 1691-1697.

**Boudina S, Abel ED:** Diabetic cardiomyopathy revisited. *Circulation* 2007, 115:3213-3223.

**Boulanger C, Lüscher T.** Release of endothelin from the porcine aorta: inhibition by endothelium-derived nitric oxide. *J Clin Invest* 1990; 587-590.

**Boutouyrie P, Tropeano AI, Asmar R, Gautier I, Benetos A, Lacolley P, Laurent S.** Aortic stiffness is an independent predictor of primary coronary events in hypertensive patients: a longitudinal study. *Hypertension.* 2002;39(1):10-5.

**Boyer J, Thanigaraj S, Schechtman KB, Perez JE:** Prevalence of ventricular diastolic dysfunction in asymptomatic, normotensive patients with diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2004, 93:870-875.

**Brady P, Terzic A.** The Sulfonylurea Controversy: More Questions From the Heart. *J Am Coll Cardiol* 1998; 31:950–6.

**Brake, D. K., E. O. Smith, H. Mersmann, C. W. Smith, and R. L. Robker..** ICAM-1 expression in adipose tissue: Effects of diet-induced obesity in mice. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2006; 291:C1232–C1239.

**Buch, H.N., et al.,** Combination of insulin and thiazolidinedione therapy in massively obese patients with Type 2 diabetes. *Diabet Med*, 2002. 19(7): p. 572-4.

**Buse JB, Ginsberg HN, Bakris GL, et al.; American Heart Association; American Diabetes Association.** Primary prevention of cardiovascular diseases in people with diabetes mellitus: a scientific statement from the American Heart Association and the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 2007; 30: 162–172.

**Calles-Escandon J, Cipolla M:** Diabetes and endothelial dysfunction: a clinical perspective. *Endocr Rev* 2001, 22: 36-52.

**Calnek DS, Mazzella L, Roser S et al.** Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands increase release of nitric oxide from endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 52-57.

**Campia U, Matuskey LA and Panza JA.** Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation with pioglitazone improves endothelium-dependent dilation in nondiabetic patients with major cardiovascular risk factors. *Circulation* 2006; 113: 867-875.

**Campisi R, Nathan L, Pampaloni MH et al.** Noninvasive assessment of coronary microcirculatory function in postmenopausal women and effects of short-term and long-term estrogen administration. *Circulation* 2002; 105: 425-430.

**Carlson, C. J., S. Koterski, R. J. Sciotti, G. B. Pocard, and C. M. Rondinone.** Enhanced basal activation of mitogen-activated protein kinases in adipocytes from type 2 diabetes: Potential role of p38 in the downregulation of GLUT4 expression. *Diabetes* 2003; 52:634–641.

**Caro JF, Sinha MK, Raju SM et al** Insulin receptor kinase in human skeletal muscle from obese subjects with and without non-insulin dependent diabetes. *J Clin Invest* 1987; 79:1330–1337.

**Castellot J, Addonizo ML, Rosenberg R et al.** Cultured endothelial cells produce a heparin-like inhibitor of smooth muscle cell growth. *J Cell Biol* 1981; 90:372.

**Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM et al.** Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992; 340: 1111-5.



**Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C *et al.*** Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *J Am Coll Cardiol* 1994; 24: 1468-74.

**Celermajer DS.** Endothelial dysfunction: Does it matter? Is it reversible? *J Am Coll Cardiol* 1997; 30:325-333.

**Ceriello A, Esposito K, Testa R, Bonfigli AR, Marra M, Giugliano D.** The possible protective role of glucagon-like peptide 1 on endothelium during the meal and evidence for an “endothelial resistance” to glucagon-like peptide 1 in diabetes. *Diabetes Care*. 2011;34:697–702.

**Cersosimo E, Garlick P, Ferretti J.** Insulin regulation of renal glucose metabolism in humans. *Am J Physiol* 1999; 276(39): E788-E84.

**Cersosimo E, DeFronzo R.A.** Insulin resistance and endothelial dysfunction: the road map to cardiovascular diseases. *Diabetes Metab Res Rev* 2006; 22: 423–436.

**Cersosimo E, Mandarino L.J, DeFronzo R.A. 2011. Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. Στο: [www.endotext.org](http://www.endotext.org).**

**Chandran, M., Phillips, S.A., Ciaraldi, T., and Henry, R.R.** Adiponectin: More than just another fat cell hormone? *Diabetes Care* 2003 26: 2442–2450.

**Charbonnel BH, Matthews DR, Schernthaner G, Hanefeld M, Brunetti P,** on behalf of the QUARTET Study Group. A long-term comparison of pioglitazone and gliclazide in patients with Type 2 diabetes mellitus: a randomized, double-blind, parallel-group comparison trial. *Diabet Med* 2005;22:399–405.

**Charles MA, Morange P, Eschwege E, Andre P, Vague P, Juhan-Vague I.** Effect of weight change and metformin on fibrinolysis and the von Willebrand factor in obese nondiabetic subjects: the BIGPRO1 (Biguanides and the Prevention of the Risk of Obesity) Study. *Diabetes Care* 1998; 21: 1967-1972.

**Chen LZ, Wang B, Zhang H, Yang JM.** Analyses of carotid intima-media thickness and quantitative arterial stiffness in type 2 diabetes mellitus patients with follow-ups]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 2013;93(12):927-9.

**Chen LL, Yu F, Zeng TS, Liao YF, Li YM, Ding HC.** Effects of gliclazide on endothelial function in patients with newly diagnosed type 2 diabetes. *Eur J Pharmacol*. 2011; 659(2-3):296-301.

**Chiasson JL, Josse RG, Gomis R, Hanefeld M, Karasik A, Laakso M.** Acarbose treatment and the risk of cardiovascular disease and hypertension in patients with impaired glucose tolerance: the STOP-NIDDM Trial. *JAMA*. 2003;290:486-494.

- Cho SH.** Effects of a smoking cessation education on smoking cessation, endothelial function, and serum carboxyhemoglobin in male patients with variant angina. *J Korean Acad Nurs.* 2012;42(2):190-8.
- Clarkson P, Weingard KW, Kaplan JR, Adams MR.** Mechanisms of atherogenesis. *Circulation* 1987; 76 (suppl. 1): I 20-28.
- Clarkson P, Adams MR, Powe AJ et al.** Oral L-arginine improves endothelium-dependent dilation in hypercholesterolemic young adults. *J Clin Invest* 1996; 97: 1989-1994.
- Clarkson P, Montgomery HE, Mullen MJ et al.** Exercise training enhances endothelial function in young men. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33: 1379-1385.
- Cline, G.W., Petersen, K.F., Krssak, M., Shen, J., Hundal, R.S., Trajanoski, Z., Inzucchi, S., Dresner, A., Rothman, D.L., and Shulman, G.I.** Impaired glucose transport as a cause of decreased insulin-stimulated muscle glycogen synthesis in type 2 diabetes. *N. Engl. J. Med.* 1999, 341,240-246.
- Cobitz A, Zambanini A, Sowell M et al.** A retrospective evaluation of congestive heart failure and myocardial ischemia events in 14,237 patients with type 2 diabetes mellitus enrolled in 42 short-term, double-blind, randomized clinical studies with rosiglitazone. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2008; 17: 769–81.
- Cody RJ.** The potential role of endothelin as a vasoconstrictor substrate in congestive heart failure. *Eur Heart J* 1992; 13: 1573-1578.
- Cohen 2012. Chapter 8, Metabolic Syndrome.** Στο: [www.endotext.org](http://www.endotext.org).
- Colburn P, Buonassisi V.** Estrogen binding sites in endothelial cell cultures. *Science* 1978; 210: 817-819.
- Collins P., Griffith T. M., Henderson A. H, Lewis M. J.** Endothelium-derived relaxing factor alters calcium fluxes in rabbit aorta: a cyclic guanosine monophosphate-mediated effect. *J Physiol* 1986; 381: 427-37.
- Colombo C, Cutson JJ, Yamauchi T, Vinson C, Kadowaki T, Gavrilova O, Reitman ML:** Transplantation of adipose tissue lacking leptin is unable to reverse the metabolic abnormalities associated with lipoatrophy. *Diabetes* 2002; 51:2727–2733.
- Colwell J.A.** Pharmacological Strategies to Prevent Macrovascular Disease in NIDDM. *Diabetes* 1997; 46(Suppl. 2): S131-134.
- Combs TP, Wagner JA, Berger J et al.** Induction of adipocyte complement-related protein of 30 kilodaltons by PPARγ agonists: a potential mechanism of insulin sensitization. *Endocrinology* 2002; 143:998-1007.

**Considine, R. V., M. Sinha, M. Heiman, A. Kriauciunas, T. Stephens, M. Nyce, J. Ohannesian, and C. Marco.** Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N. Engl. J. Med.* 1996; 334:292-295.

**Cooke JP, Tsao PS.** Is NO an endogenous antiatherogenic molecule? *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 653-655.

**Cooke JP.** The endothelium: a new target for therapy. *Vasc Med* 2000; 5:49-53.

**Cooke JP, Tsao PS:** Go with the flow. *Circulation* 2001; 103:2773-2775.

**Correti M, Anderson T.J et al.** Guidelines for the Ultrasound Assessment of Endothelial-Dependent Flow-Mediated Vasodilatation of the Brachial Artery. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 257-65.

**Corson M.A, James N.L, Latta S.S.E et al.** Phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase in response to fluid shear stress. *Circulation Research* 1996; 79: 984-991.

**Cox DA, Vita JA, Treasure CB, Fish RD, Alexander RW, Ganz P, Selwyn AP.** Atherosclerosis impairs flow-mediated dilation of coronary arteries in humans. *Circulation* 1989; 80: 458-465.

**Creager MA, Cooke JP, Mendelsohn ME et al.** Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest* 1990; 86: 228-34.

**Creager MA, Gallagher SH, Girerd XT et al.** L-arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest* 1992; 90: 1248-53.

**Crisby M, Nordin-Fredriksson G, Shah PK, Yano J, Zhu J, Nilsson J.** Pravastatin treatment increases collagen content and decreases lipid content, inflammation, metalloproteinases and cell death in human carotid plaques: implications for plaque stabilization. *Circulation* 2001; 103: 926-933.

**Cruickshank K, Riste L, Anderson SG, Wright JS, Dunn G, Gosling RG.** Aortic pulse-wave velocity and its relationship to mortality in diabetes and glucose intolerance: an integrated index of vascular function? *Circulation.* 2002;106(16):2085-90.

**Cusi K, Maezono K, Osman A et al.** Insulin resistance differentially affects the PI 3-kinase and MAP kinase-mediated signaling in human muscle. *J Clin Invest* 2000, 105:311-320.

**Cusin, I., F. Rohner-Jeanrenaud, A. Stricker-Krongrad, and B. Jeanrenaud.** The weight-reducing effect of an intracerebroventricular bolus injection of leptin in

genetically obese fa/fa rats. Reduced sensitivity compared with lean animals. *Diabetes* 1996; 45:1446-1450.

**Dabelea, D., Imperatore, G., Pettit, D.J., Bennett, P.H., Hanson, R.I., and Knowler, W.C.** Birth weight, type 2 diabetes, and insulin resistance in Pima Indian children and young adults. *Diabetes Care* 1999, 22, 944-950.

**Dahabreh IJ.** Meta-analysis of rare events: an update and sensitivity analysis of cardiovascular events in randomized trials of rosiglitazone. *Clin Trials* 2008; 5: 116–20.

**Dandona, P., et al.,** Thiazolidinediones-improving endothelial function and potential long-term benefits on cardiovascular disease in subjects with type 2 diabetes. *J Diabetes Complications*, 2008. 22(1): p. 62-75.

**Dargie HJ, Hildebrandt PR, Riegger GA, McMurray JJ, McMorn SO, Roberts JN, Zambanini A, Wilding JP:** A randomized, placebo-controlled trial assessing the effects of rosiglitazone on echocardiographic function and cardiac status in type 2 diabetic patients with New York Heart Association Functional Class I or II Heart Failure. *J Am Coll Cardiol* 2007, 49:1696-1704.

**Davidson MH, Meyer PM, Haffner SM et al.** Increased high- density lipoprotein cholesterol predicts the pioglitazone-mediated reduction of carotid intima-media thickness progression in patients with type 2 diabetes mellitus. *Circulation* 2008; 117: 2123–30.

**Davignon, J. and P. Ganz,** Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation*, 2004. 109(23 Suppl 1): p. III27-32.

**Deanfield J, Donald A, Ferre C et al.** Working group on endothelin and endothelial factors of the European Society of Hypertension. Endothelial function and dysfunction. Part 1. Methodological issues for assessment in the different vascular beds: a statement by the Working Group on Endothelin and endothelial factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens* 2005; 23: 7-17.

**Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ.** Endothelial function and dysfunction. Testing and clinical relevance. *Circulation* 2007; 115: 1285-1295.

**Deeg MA, Buse JB, Goldberg RB et al.** Pioglitazone and rosiglitazone have different effects on serum lipoprotein particle concentrations and sizes in patients with type 2 diabetes and dyslipidemia. *Diabetes Care* 2007; 30: 2458–64.

**DeFronzo RA, Gunnarsson R, Bjorkman O, Olsson M, Wahren J.** Effects of insulin on peripheral and splanchnic glucose metabolism in non-insulin dependent diabetes mellitus. *J. Clin Invest* 1985; 76: 149-155.

**DeFronzo RA.** Lilly Lecture. The triumvirate: beta-cell, muscle, liver: a collusion responsible for NIDDM. *Diabetes* 1988;37:667-68.

**DeFronzo RA.** Pathogenesis of type 2 diabetes: metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. *Diabetes Rev* 1997; 5:178-269.

**DeFronzo RA.** From the triumvirate to the ominous octet: a new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes* 2009; 58:773–795.

**DeFronzo R.A.** Insulin resistance, lipotoxicity, type 2 diabetes and atherosclerosis: the missing links. The Claude Bernard Lecture 2009. *Diabetologia* 2010; 53:1270-1287.

**de Jager J, Dekker JM, Kooy A, Kostense PJ, Nijpels G, Heine RJ, Bouter LM, Stehouwer CD.** Endothelial dysfunction and low-grade inflammation explain much of the excess cardiovascular mortality in individuals with type 2 diabetes: the Hoorn Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26(5):1086-93.

**Derosa G, Cicero AF, D'Angelo A et al.** Thiazolidinedione effects on blood pressure in diabetic patients with metabolic syndrome treated with glimepiride. *Hypertens Res* 2005; 28: 917–24.

**Derosa G, Fogari E, Cicero AF et al.** Blood pressure control and inflammatory markers in type 2 diabetic patients treated with pioglitazone or rosiglitazone and metformin. *Hypertens Res* 2007; 30: 387–94.

**Diep QN, El Mabrouk M, Cohn JS, Endemann D, Amiri F, Virdis A, Neves MF, and Schiffrin EL.** Structure, endothelial function, cell growth, and inflammation in blood vessels of angiotensin II-infused rats: role of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma. *Circulation* 2002;105: 2296–2302.

**Dimmeler S, Fleming I, Fisslthaler B et al.** Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation. *Nature* 1999; 399: 601-5.

**Doggrell, S.A.,** Clinical trials with thiazolidinediones in subjects with Type 2 diabetes--is pioglitazone any different from rosiglitazone? *Expert Opin Pharmacother*, 2008. 9(3): p. 405-20.

**Dogra GK, Watts GF, Chan DC, Stanton K.** Statin therapy improves brachial artery vasodilator function in patients with type I diabetes and microalbuminuria. *Diabetic Medicine* 2005; 22: 239-242.

**Dorkhan M, Dencker M, Frid A:** Treatment with pioglitazone induced significant, reversible mitral regurgitation. *Cardiovasc Diabetol* 2008, 7:12.

**Dorkhan M, Dencker M, Stagmo M, Groop L:** Effect of pioglitazone versus insulin glargine on cardiac size, function, and measures of fluid retention in patients with type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol* 2009, 8:15.

**Dormandy JA, Charbonnel B, Eckland DJ et al.** Secondary prevention of macrovascular events in patients with type 2 diabetes in the PROactive Study (PROspective pioglitAZone Clinical Trial In macroVascular Events): a randomised controlled trial. *Lancet* 2005; 366: 1279–89.

**Doucette JW, Corl PD, Payne HM et al.** Validation of a Doppler guide wire for intravascular measurement of coronary artery flow velocity. *Circulation* 1992; 85: 1899-1911.

**Dresner, A., Laurent, D., Marcucci, M., Griffin, M.E., Dufour, S., Cline, G.W., Slezak, L.A., Andersen, D.K., Hundal, R.S., Rothman, D.L., Petersen, K.F., and Shulman, G.I.** Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity *J. Clin. Invest.* 1999; 103: 253-259.

**Ebihara K, Ogawa Y, Masuzaki H, Shintani M, Miyanaga F, Aizawa-Abe M, Hayashi T, Hosoda K, Inoue G, Yoshimasa Y, Gavrilova O, Reitman ML, Nakao K:** Transgenic overexpression of leptin rescues insulin resistance and diabetes in a mouse model of lipotrophic diabetes. *Diabetes* 2001; 50:1440–1448.

**Ekberg K, Landau BR, Wajngot A, Chandramouli V, Efendic S, Brunengraber H, Wahren J.** Contributions by kidney and liver to glucose production in the postabsorptive state and after 60 h of fasting. *Diabetes* 48:292-298, 1999.

**Elliot D.G., Henderson D.J., Smith G.M., Webb T.E., Dainty I.A.** Cloning and Characterization of a Bovine P<sub>2Y</sub> Receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 212 (2): 648–656.

**Enderle MD, Schröder S, Ossen R et al.** Comparison of peripheral endothelial dysfunction and intima-media thickness in patients with suspected coronary artery disease. *Heart* 1998; 80:349-54.

**Engel-Nitz NM, Martin S, Sun P, Buesching D, Fonseca V.** Cardiovascular events and insulin therapy: a retrospective cohort analysis. *Diabetes Res Clin Pract* 2008; 81:97–104.

**Erickson LA, Hekman CM, Loskutoff DJ.** The primary plasminogen-activator inhibitors in endothelial cells, platelets, serum and plasma immunologically related. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 8710-8714.

**Esposito K, Giugliano D, Nappo F, Marfella R.** Campanian Postprandial Hyperglycemia Study Group. Regression of carotid atherosclerosis by control of postprandial hyperglycemia in type 2 diabetes mellitus. *Circulation* 2004; 110: 214-219.

**Evans J.L, Robert J., Rushakoff R.J.** Oral Pharmacological Agents for Type 2 Diabetes. Στο: [www.endotext.org](http://www.endotext.org).

**Falk E, Shah PK, Fuster V:** Coronary plaque disruption. *Circulation* 1995; 92: 657–671.

**Fagot-Campagna A, Balkau B, Simon D, Warnet JM, Claude JR, Ducimetiere P et al.** High free fatty acid concentration: an independent risk factor for hypertension in the Paris Prospective Study. *Int J Epidemiol* 1998; 27: 808–13.

**Faruqi R, de la Motte C, DiCorleto PE.** Alphatocopherol inhibits agonist-induced monocytic cell adhesion to cultured human endothelial cells. *J Clin Invest* 1994; 94: 592-600.

**Faulx M.D, Wright A.T et al.** Detection of endothelial dysfunction with brachial artery ultrasound scanning. *Am Heart J* 2003; 145: 943-51.

**FDA Drug Safety Communication.** Update to Ongoing Safety Review of Actos (Pioglitazone) and Increased Risk of Bladder Cancer. <http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm259150.htm>. Accessed July 21, 2011.

**Federal Drug Administration.** Avandia: FDA meta-analysis presented at Joint Meeting of Metabolic & Endocrine Advisory Committee and Drug Safety & Risk Management Advisory Committee, 30 July 2007. <http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/07/slides/2007-4308s1-05-fda-mele.ppt> (accessed November 2008).

**Felber JP, Magnenat G, Casthelaz M, Geser CA, Muller-Hess R, de Kalbermatten N et al.** Carbohydrate and lipid oxidation in normal and diabetic subjects. *Diabetes* 1977; 26: 693–9.

**Fernandez M, Triplitt C, Wajcberg E et al.** Addition of pioglitazone and ramipril to intensive insulin therapy in type 2 diabetes patients improves vascular function by different mechanisms. *Diabetes Care* 2008; 31: 121–7.

**Ferrannini E, De Fronzo RA.** Insulin Action In Vivo: Glucose Metabolism, in International Textbook of Diabetes Mellitus, *Edited by DeFronzo RA, Ferrannini E, Keen H, Zimmet. P. John Wiley & Sons, Ltd. England: 2004; 277–3.*

**Finta KM, Fischer MJ, Lee L, Gordon D, Pitt B, Webb RC.** Ramipril prevents impaired endothelium-dependent relaxation in arteries from rabbits fed on atherogenic diet. *Atherosclerosis 1993; 100: 149-156.*

**Fisher M.** Improving cardiovascular risk – applying evidence-based medicine to glucose-lowering therapy with thiazolidinediones in patients with type 2 diabetes. *Int J Clin Pract, 2009, 63; 9:1354–1368. Cardiovasc. Diabet. 2009, 8; 38.*

**Fisman EZ, Tenenbaum A, Benderly M, Goldbourt U, Behar S, Morto M.** Antihyperglycemic treatment in diabetics with coronary disease: increased metformin-associated mortality over a 5-year follow-up. *Cardiology 1999; 91(3):195-202.*

**Fisman EZ, Tenenbaum A, Boyko V, Benderly M, Adler Y et al** Oral antidiabetic treatment in patients with coronary disease: time-related increased mortality on combined glyburide/metformin therapy over a 7.7-year follow-up. *Clin Cardiol 2001;24(2):151-158.*

**Fisman E.Z, Tenenbaum A, Motro M, Adler Y.** Oral Antidiabetic Therapy in Patients with Heart Disease. A Cardiologic Standpoint. *Herz 2004;29:290–8.*

**Fisman E.Z, Tenenbaum A.** A cardiologic approach to non-insulin antidiabetic pharmacotherapy in patients with heart disease. *Cardiovasc Diabetol. 2009, 20;8:38.*

**Flammer AJ, Hermann F, Wiesli P, Schwegler B, Chenevard R, Hürlimann D et al.** Effect of losartan, compared with atenolol, on endothelial function and oxidative stress in patients with type 2 diabetes and hypertension. *J Hypertens 2007; 785-791.*

**Fleming A.** FDA approach to the regulation of drugs for diabetes. *Am Heart J 1999;138:S339–45.*

**Fisher M.** Improving cardiovascular risk—applying evidence-based medicine to glucose-lowering therapy with thiazolidinediones in patients with type 2 diabetes. *Int J Clin Pract, 2009, 63; 9:1354–1368. Cardiovasc. Diabet. 2009, 8;38.*

**Fisman E.Z, Tenenbaum A, Motro M, Adler Y.** Oral Antidiabetic Therapy in Patients with Heart Disease. A Cardiologic Standpoint. *Herz 2004;29:290–8.*

**Folli F, Saad JA, Backer JM, Kahn CR.** Regulation of phosphatidylinositol 3-kinase activity in liver and muscle of animal models of insulin-resistant and insulin-deficient diabetes mellitus. *J Clin Invest 92:1787-1794, 1993.*



**Fonarow GC, Srikanthan P:** Diabetic cardiomyopathy. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2006, 35:575-599.

**Fonseca VA.** Rationale for the use of insulin sensitizers to prevent cardiovascular events in type 2 diabetes mellitus. *Am J Med* 2007;120:S18-S25.

**Fontana L, McNeill KL, Ritter JM et al.** Effects of vitamin C and of a cell permeable superoxide dismutase mimetic on acute lipoprotein induced endothelial dysfunction in rabbit aortic rings. *Br J Pharmacol* 1999; 120: 730.

**Ford ES.** Trends in the risk for coronary heart disease among adults with diagnosed diabetes in the U.S.: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2008. *Diabetes Care* 2011; 34:1337-1343.

**Ford ES, Li C, Zhao G.** Prevalence and correlates of metabolic syndrome based on a harmonious definition among adults in the US. *J Diabetes* 2010, 2:180-193.

**Forte P, Copland M, Smith L, Milne E, Sutherland J, Benfamin N.** Basal nitric oxide synthesis in essential hypertension. *Lancet* 1997; 349: 837-842.

**Fridovich I.** Superoxide anion radical ( $O_2^-$ ), superoxide dismutases and related matters. *J Biol Chem* 1997; 272: 18515-18517.

**Freidenberg GR, Reichart D, Olefsky JM, Henry RR.** Reversibility of defective adipocyte insulin receptor kinase activity in non-insulin-dependent diabetes mellitus. Effect of weight loss. *J Clin Invest* 1988; 82:1398-406.

**Frielingdorf J, Seiler C, Kaufmann P, Vassalli G, Suter T, Hess OM.** Normalization of abnormal coronary vasomotion by calcium antagonists in patients with hypertension. *Circulation* 1996; 93: 1380-1387.

**Fujiyama S, Amuno K, Uehira K, Yashida M et al.** Bone marrow monocyte lineage cells adhere on injured endothelium in a monocyte chemoattractant protein-1-dependent manner and accelerate reendothelialization as endothelial progenitor cells. *Circ Res* 2003; 93: 980-989.

**Furchgott RF, Zawadzki JV.** The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373-376.

**Furchgott RF.** Studies of relaxation of rabbit aorta by sodium nitrate: The basis for the proposal that the acid-activatable inhibitory factor from bovine retractor penis is inorganic nitric and the endothelium-derived relaxing factor is nitric oxide. *Mechanisms of vasodilatation, vol. 4. Vanhoutte PM, ed. New*

**Gaede P, Lund-Andersen H, Parving HH, Pedersen O.** Effect of a multifactorial intervention on mortality in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2008; 358: 580–591.

**Gaenger, H., et al.,** Effect of insulin therapy on endothelium-dependent dilation in type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol*, 2002. 89(4): p. 431-4.

**Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, Libby P.** Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *Journal of Clinical Investigation* 1994; 94: 2493-2503.

**Garg R, Yusuf S.** Overview of randomized trials of angiotensin-converting enzyme inhibitors on mortality and morbidity in patients with heart failure: Collaborative Group on ACE Inhibitor Trials. *JAMA* 1995; 273:1450-6.

**Garg U.C, Hassid A.** Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1989; 83: 1774-17.

**Garrison M.K, Ng A.V, Schmit B.** Leg sympathetic response to noxious skin stimuli is similar in high and low level human spinal cord injury. *Clin Neurophysiology* 2008; 119 (2): 466–474.

**Gelaye B, Revilla L, Lopez T, Suarez L, Sanchez SE, Hevner K, Fitzpatrick AL, Williams MA.** Association between insulin resistance and c-reactive protein among Peruvian adults. *Diabetol Metab Syndr*. 2010 May 18; 2(1):30.

**George F, Brisson C, Poncelet P, Laurent JC, Massot O, Arnoux D, Ambrosi P, Klein-Soyer C, Cazenave JP, Sampol J.** Rapid isolation of human endothelial cells from whole blood using S-Endol monoclonal antibody coupled to immuno-magnetic beads: demonstration of endothelial injury after angioplasty. *Thromb Haemost* 1992; 67: 147-153.

**Gerhard MD, Tawakol A, Halley EA.** Long-term estradiol therapy with or without progesterone improves endothelium dependent vasodilation in post-menopausal women. *Circulation* 1996; 94(sup 1):I-279.

**Gerhard M, Walsh BW, Tawakol A et al.** Estradiol therapy combined with progesterone and endothelium-dependent vasodilatation in postmenopausal women. *Circulation* 1998; 98:1158-63.

**Gerstein HC, Miller ME, Byington RP, Goff Jr DC, Bigger JT, Buse JB, Cushman WC, Genuth S, Ismail-Beigi F, Grimm Jr RH, Probstfield JL, Simons-Morton DG, Friedewald WT.** Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes

Study Group. Effects of intensive glucose lowering in type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2008;358: 2545–2559.

**Gerstein, H.C., et al.**, Effect of rosiglitazone on progression of coronary atherosclerosis in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease: the assessment on the prevention of progression by rosiglitazone on atherosclerosis in diabetes patients with cardiovascular history trial. *Circulation*, 2010. 121(10): p. 1176-87.

**Giles TD, Miller AB, Elkayam U, Bhattacharya M, Perez A:** Pioglitazone and heart failure: results from a controlled study in patients with type 2 diabetes mellitus and systolic dysfunction. *J Card Fail* 2008, 14:445-452.

**Gilligan DM, Quygumi AA, Cannon RO et al.** Effects of physiological levels of estrogen on coronary vasomotor function in postmenopausal women. *Circulation* 1994; 89: 2545-51.

**Gilmer TP, O'Connor PJ, Rush WA, et al.** Predictors of health care costs in adults with diabetes. *Diabetes Care*. 2005;28: 59-64.

**Gimbrone M.A, Nagel T, Topper J.N.** Biomechanical activation: an emerging paradigm in endothelial adhesion biology. *J Clin Invest* 1997; 99: 1809-1813.

**Giorda CB, Avogaro A, Maggini M et al.** Recurrence of cardiovascular events in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2008; 31:2154–2159.

**Girard TJ, Broze GJ Jr.** Tissue factor pathway inhibitor. *Methods Enzymol* 1993; 222: 195-209.

**GISSI-Prevenzione Investigators.** Dietary supplementation with n-3polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial. *Lancet* 1999; 354: 447-455.

**GlaxoSmithKline.** Study No. ZM2005 / 00181 / 01: Avandia Cardiovascular Event Modeling Project. <http://www.gsk-clinical-studyregister.com/files/pdf/3104.pdf> (accessed November 2008).

**Goetze S, Bungenstock A, Czupalla C, Eilers F, Stawowy P, Kintscher U, Spencer-Hänsch C, Graf K, Nürnberg B, Law RE, Fleck E, Gräfe M.** Leptin induces endothelial cell migration through Akt, which is inhibited by PPARgamma-ligands. *Hypertension*. 2002;40(5):748-54.

**Goetze S, Eilers F, Bungenstock A, Kintscher U, Stawowy P, Blaschke F, Graf K, Law RE, Fleck E, and Grafe M.** PPAR activators inhibit endothelial cell migration by targeting Akt. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;293: 1431–1437.

**Gokce N, Holbrook M, Hunter LM et al.** Acute effects of vasoactive drug treatment on brachial artery reactivity. *J Am Coll Cardiol* 2002; 40: 761-5.

**Gokce N, Keaney JF Jr, Hunter LM, et al.** Predictive value of noninvasively determined endothelial dysfunction for long-term cardiovascular events in patients with peripheral vascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1769-1775.

**Goldberg RB.** Thiazolidinediones and vascular damage. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity* 2007; 14(2): 108-115.

**Goldberg RB, Kendall DM, Deeg MA et al.** A comparison of lipid and glycemic effects of pioglitazone and rosiglitazone in patients with type 2 diabetes and dyslipidemia. *Diabetes Care* 2005; 28: 1547-54.

**Golding J, Pembrey M, Jones R; ALSPAC Study Team.** ALSPAC- the Avon Longitudinal Study of Parents and Children: I: Study methodology. *Paediatric Perinatal Epidemiol* 2001; 15: 74-87.

**Goldstein BJ.** Current views on the mechanism of action of thiazolidinedione insulin sensitizers. *Diabetes Technol Ther* 1999; 1:267-275.

**Gómez-Marcos MA, Recio-Rodríguez JI, Patino-Alonso MC, Agudo-Conde C, Rodríguez-Sánchez E, Gómez-Sánchez L, Gómez-Sánchez M, García-Ortiz L.** Relationship between electrocardiographic left ventricular hypertrophy criteria and vascular structure and function parameters in hypertensive patients. *J Hum Hypertens*. 2013. doi: 10.1038/jhh.2013.87.

**Goodarzi OM, Bryer-Ash M.** Metformin revisited: re-evaluation of its properties and role in the pharmacopoeia of modern antidiabetic agents. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2005; 7: 7654-65.

**Goodfellow J, Ramsey MW, Luddington LA, Jones CJ, Coates PA, Dunstan F, Lewis MJ, Owens DR, Henderson AH.** Endothelium and inelastic arteries: an early marker of vascular dysfunction in non-insulin dependent diabetes. *BMJ*. 1996;312(7033):744-5.

**Goodhart DM, Anderson TJ.** Role of nitric oxide in coronary arterial vasomotion and the influence of coronary atherosclerosis and its risks. *Am J Cardiol* 1998; 82: 1034-1039.

**Gosling P.** Microalbuminuria and cardiovascular risk factors: a word of caution. *J Hum Hypertens* 1998; 12: 211-213.

**Gosmanova E.O, Canada R.B, Mangold T.A, Rawls W.N., Wall B.M.** Effect of Metformin-Containing Antidiabetic Regimens on All-cause Mortality in Veterans With Type 2 Diabetes Mellitus. *Am J Med Sci* 2008;336(3):241–247.

**Gould KL, Martucci JP, Goldberg DI et al.** Short-term cholesterol lowering decrease size and severity of perfusion abnormalities by positron emission tomography after dipyridamole in patients with coronary artery disease. *Circulation* 1994; 89: 1530-8.

**Graham DJ, Ouellet-Hellstrom R, MaCurdy TE, Ali F, Sholley C, Worrall C, Kelman JA:** Risk of acute myocardial infarction, stroke, heart failure, and death in elderly Medicare patients treated with rosiglitazone or pioglitazone. *JAMA* 2010, 304:411-418.

**Griffin ME, Marcucci MJ, Cline GW, Bell K, Barucci N, Lee D et al.** Free fatty acid-induced insulin resistance is associated with activation of protein kinase C theta and alterations in the insulin signaling cascade. *Diabetes* 1999; 48:1270–4.

**Grill V.** A comparison of brain glucose metabolism in diabetes as measured by positron emission tomography or by arteriovenous techniques. *Ann Med* 22:171-175, 1990.

**Grundy S.M, Brewer H.B, James I. Cleeman J.I, Smith S.C, Lenfant C, for the Conference Participants.** Definition of Metabolic Syndrome. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association Conference on Scientific Issues Related to Definition. *Circulation*. 2004;109:433-438.

**Guazzi M, Samaja M, Arena R, Vincenzi M, Guazzi MD.** Long-term use of sildenafil in the therapeutic management of heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50: 2136-2144.

**Guerci B, Kearney-Schwartz A, Böhme P, Zannad F, Drouin P.** Endothelial dysfunction and type 2 diabetes. Part 1: physiology and methods for exploring the endothelial function. *Diabetes Metab (Paris)* 2001; 27: 425-434.

**Guerci B, Kearney-Schwartz A et al.** Endothelial dysfunction and type 2 diabetes. *Diabetes Metab* 2001; 27: 425-434

**Guetto V, Quygumi AA, Prasad A et al.** The role of nitric oxide in coronary vascular effects of estrogen in postmenopausal women. *Circulation* 1997; 96:2795-2801.

**Guha M, Bai W, Nadler JL, Natarajan R.** Molecular mechanisms of tumor necrosis factor gene expression in monocytic cells via hyperglycemia-induced oxidant stress dependent and -independent pathways. *J Biol Chem* 2000; 275: 17728–17739.

**Habit F, Dakta D, Crossman D, M' Oakley C, Cleland J.** Enhanced basal nitric oxide production in heart failure: another failed counter-regulatory vasodilator mechanism? *Lancet* 1994; 344: 371-373.

**Haffner SM, Greenberg AS, Weston WM, Chen H, Williams K, Freed MI.** Effect of rosiglitazone treatment on nontraditional markers of cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Circulation* 2002; 106: 679–84.

**Haffner SM, Lehto S, Ronnema T et al.** Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1998; 339:229–234.

**Haffner SM, Stern MP, Hazuda HP, Mitchell BD, Patterson JK.** Cardiovascular risk factors in confirmed prediabetic individuals. Does the clock for coronary heart disease start ticking before the onset of clinical diabetes? *JAMA*. 1990 6;263(21):2893-8.

**Halfström I, Rohani M, Deneberg S et al.** Effects of low-dose prednisolone on endothelial function, atherosclerosis and traditional risk factors for atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis- a randomized study. *J Rheum* 2007; 34: 1810-1816.

**Hamann A, Garcia-Puig J, Paul G, Donaldson J, Stewart M.** Comparison of fixed-dose rosiglitazone / metformin combination therapy with sulphonylurea plus metformin in overweight individuals with type 2 diabetes inadequately controlled on metformin alone. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2008; 116: 6–13.

**Hamblin M, Chang L, Fan Y, Zhang J, Chen Y.E.** PPARs and the Cardiovascular System. *Antioxid. Redox Signal*. 2009; 11: 1415–1452.

**Handin RI, Wagner DD.** Molecular and cellular biology of von Willebrand factor. *Prog Haemost Thromb* 1989; 9: 233-245.

**Hanefeld M, Cagatayb M, Petrowitschb T, Neuserb D, Petzinnab D, Ruppcc M.** Acarbose reduces the risk for myocardial infarction in type 2 diabetic patients: meta-analysis of seven long-term studies. *European Heart Journal* 2004, 25, 10 –16.

**Hanefeld M, Marx N, Pfutzner A et al.** Anti-inflammatory effects of pioglitazone and/or simvastatin in high cardiovascular risk patients with elevated high sensitivity C-reactive protein: the PIOSTAT Study. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49: 290–7.

- Hansson GK:** Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005; 352:1685–1695.
- Hatsuda S, Shoji T, Shinohara K, Kimoto E, Mori K, Fukumoto S, Koyama H, Emoto M, Nishizawa Y.** Regional arterial stiffness associated with ischemic heart disease in type 2 diabetes mellitus. *J Atheroscler Thromb.* 2006;13(2):114-21.
- Hattori Y, Suzuki M, Hattori S, Kasai K.** Globular adiponectin upregulates nitric oxide production in vascular endothelial cells. *Diabetologia* 2003; 46:1543–1549.
- Havel P.J.** Update on Adipocyte Hormones. Regulation of Energy Balance and Carbohydrate/Lipid Metabolism. *Diabetes* 2004; 53 (Suppl. 1): S143–S151.
- Hedblad, B., et al.,** Rosiglitazone and carotid IMT progression rate in a mixed cohort of patients with type 2 diabetes and the insulin resistance syndrome: main results from the Rosiglitazone Atherosclerosis Study. *J Intern Med*, 2007. 261(3): p. 293-305.
- Henderson AH.** Endothelial dysfunction: a reversible clinical measure of atherogenic susceptibility and cardiovascular inefficiency. *Int J Cardiol* 1997;62:S43-48.
- Heeschen C, Aicher A, Lehmann R, Fichtlscherer S, Vasa M, Urbich C, Mildner-Rihm C, Martin H, Zeiher AM, Dimmeler S.** Erythropoietin is a potent physiologic stimulus for endothelial progenitor cell mobilization. *Blood.* 2003;102(4):1340-6.
- Henderson AH.** Endothelium in control. *Br Heart J* 1991; 65: 116-125.
- Henry RR, Gumbiner B, Ditzler T, Wallace P, Lyon R, Glauber HS.** Intensive conventional insulin therapy for type II diabetes. Metabolic effects during a 6-mo outpatient trial. *Diabetes Care.* 1993;16:21-31.
- Heinzel B, John M, Klatt P, Bohme E, Mayer B.** Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent formation of hydrogen peroxide by brain nitric oxide synthase. *Biochem J* 1992; 28: 627-630.
- Hekman CM, Loskutoff GJ.** Fibrinolytic pathways and the endothelium. *Semin Thromb Hemost* 1987; 13: 514-527.
- Herrington DM, Reboussin DM, Brosnihan KB et al.** Effects of estrogen replacement on the progression of coronary artery atherosclerosis. *N Engl J Med* 2000; 343: 522-529.
- Herrington DM, Klein KP.** Pharmacogenetics of estrogen replacement therapy. *J Appl Physiol* 2001; 91: 2776-2784.
- Hirata Y, Nagata D, Suzuki E, Nishimatsu H, Suzuki J, Nagai R.** Diagnosis and treatment of endothelial dysfunction in cardiovascular disease. *Int Heart J.* 2010; 51(1):1-6.

**Hitman GA, Hawrammi K, McCarthy MI, Viswanathan M, Snehalatha C, Ramachandran A, Tuomilehto J, Tumilehto-Wolf E, Nissenen A, Pedersen O.** Insulin receptor substrate-1 gene mutations in NIDDM: implication for the study of polygenic disease. *Diabetologia* 38:481-486, 1995.

**Holst JJ, Gromada J:** Role of incretin hormones in the regulation of insulin secretion in diabetic and nondiabetic humans. *Amer J Physiol Endocrinol Metab.*2004; 287: E199- E206.

**Home PD, Bailey CJ, Donaldson J, Chen H, Stewart MW.** A double-blind randomized study comparing the effects of continuing or not continuing rosiglitazone and metformin therapy when starting insulin therapy in people with type 2 diabetes. *Diabet Med* 2007; 24: 618–25.

**Home PD, Pocock SJ, Beck-Nielsen H, et al.** Rosiglitazone evaluated for cardiovascular outcomes in oral agent combination therapy for type 2 diabetes (RECORD): a multicentre, randomised, open-label trial. *Lancet*, 2009;373 (9681):2125–35.

**Homing B, Maier V, Drexler H.** Physical training improves endothelial function in patients with chronic heart failure. *Circulation* 1996; 93: 210-214.

**Horio T, Suzuki M, Suzuki K, Takamisawa I, Hiuge A, Kamide K, Takiuchi S, Iwashima Y, Kihara S, Funahashi T, et al:** Pioglitazone improves left ventricular diastolic function in patients with essential hypertension. *Am J Hypertens* 2005, 18:949-957.

**Horio T, Suzuki M, Takamisawa I, et al.** Pioglitazone-induced insulin sensitization improves vascular endothelial function in nondiabetic patients with essential hypertension. *Am J Hypertens* 2005;18:1626-1630.

**Hotamisligil G, Murray D, Choy L, Spiegelman B.M.** Tumor necrosis factor a inhibits signaling from the insulin receptor. *Proc. Nati. Acad. Sci. Usa* 1994; 91: 4854-4858.

**Hsueh W, Ronald E. Law R.E.** Insulin Signaling in the Arterial Wall. *Am J Cardiol* 1999;84:21J–24J.

**Hu S, Wang S, Dunning BE.** Glucose-dependent and glucosesensitizing insulinotropic effect of nateglinide: comparison to sulfonylureas and repaglinide. *Int J Exp Diabetes Res* 2001;2: 63–72.

**Hulley S, Grady D, Bush T et al.** Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women: Heart and



Estrogen/progestin Replacement Study (HERS) Research Group. *JAMA* 1998; 280: 605-613.

**Hwang SJ, Ballantyne CM, Sharrett AR, Smith LC, Davis CE, Gotto AM Jr, Boerwinkle E.** Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1 and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart cases: the Atherosclerosis Risk in communities (ARIC) Study. *Circulation* 1997; 16: 96: 4219-4225.

**Hwang J, Kleinhenz DJ, Lassegue B, Griendling KK, Dikalov S, and Hart CM.** Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma ligands regulate endothelial membrane superoxide production. *Am J Physiol Cell Physiol* 2005;288: C899– C905.

**Iglarz M, Touyz RM, Amiri F, Lavoie MF, Diep QN, and Schiffrin EL.** Effect of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and -gamma activators on vascular remodeling in endothelin-dependent hypertension. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23: 45–51.

**Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE.** Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 9265-9269.

**Ignarro LJ, Byrns RE, Wood KS.** Biochemical and pharmacological properties of EDRF and its similarity to nitric oxide radical. In: *Mechanisms of vasodilatation*, Vanhoutte PM, ed. New York: Raven Press; 1988: 427-435.

**Imai Y, Philippe N, Accili D, Taylor SI.** Expression of variant forms of insulin receptor substrate-1 identified in patients with noninsulin dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 82:4201-4207, 1997.

**Imanishi T, Tsujioka H, Ikejima H, Kuroi A, Takarada S, Kitabata H, Tanimoto T, Muragaki Y, Mochizuki S, Goto M, Yoshida K, Akasaka T.** Renin Inhibitor Aliskiren Improves Impaired Nitric Oxide Bioavailability and Protects Against Atherosclerotic Changes. *Hypertension*. 2008; 52:563-572.

**Inoguchi T, Xia P, Kunisaki M, Higashi S, Feener EP, King JL.** Insulin's effect on protein kinase c and diacylglycerol induced by diabetes and glucose in vascular tissues. *Am J Physiol* 1994; 267: E369-E379.

**Jarnert C, Landstedt-Hallin L, Malmberg K, Melcher A, Ohrvik J, Persson H, Ryden L:** A randomized trial of the impact of strict glycaemic control on myocardial diastolic function and perfusion reserve: a report from the DADD (Diabetes mellitus And Diastolic Dysfunction) study. *Eur J Heart Fail* 2009, 11:39-47.

**Jennings GL, Chin-Dusting JP, Kingwell BA et al.** Modulation of vascular function by diet and exercise. *Clin Expert Hypertens* 1997; 19: 727-737.

**Jeremy RW, McCarron H, Sullivan D.** Effects of dietary L-arginine on atherosclerosis and endothelium-dependent vasodilation in the hypercholesterolemic rabbit. *Circulation* 1996; 94:498-506.

**Jialal I.** Cholesterol Lowering and Coronary Vasomotion. *N Engl J Med* 1995; 333:324-325.

**Joannides R, Haefeli WE, Linder L, Richard V et al.** Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation* 1995; 91: 1314-1319.

**Johnson HM, Gossett LK, Piper ME, Aeschlimann SE, Korcarz CE, Baker TB, Fiore MC, Stein JH.** Effects of smoking and smoking cessation on endothelial function: 1-year outcomes from a randomized clinical trial. *J Am Coll Cardiol.* 2010; 55(18):1988-95.

**Johnson JA, Majumdar SR, Simpson SH, Toth EL.** Decreased mortality associated with the use of metformin compared with sulfonylurea monotherapy in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2002;25:2244-2248.

**Johnson JA, Simpson SH, Toth EL ,Majumdar SR.** Reduced cardiovascular morbidity and mortality associated with metformin use in subjects with type 2 diabetes. *Diabet Med* 2005;22:497-502.

**Jones CJH, Kuo L, Davis MJ, deFilly DV, Chillian WM.** Role of nitric oxide in coronary microvascular responses to adenosine and increased metabolic demand. *Circulation* 1996; 91: 1807-1813.

**Juonala M, Viikari JS, Laitinen T, Marniemi J, Helenius H, Ronnema T, Raitakuri OT.** Interrelations between brachial endothelial function and carotid intima-media thickness in young adults: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Circulation* 2004; 110: 2918-2923.

**Kadowaki T, Yamauchi T** Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev* 2005; 26:439–451.

**Kahn SE, Andrikopoulos S, Verchere CB.** Islet amyloid: a longrecognized but underappreciated pathological feature of type 2 diabetes. *Diabetes* 1999;48:241–53.

**Kahn B.B, Flier J.S.** Obesity and insulin resistance. *J Clin. Invest.* 2000; 106(4): 473-481.

**Kalantaridou SN, Naka KK, Bechlioulis A, Makrigiannakis A, Michalis L, Chrousos GP.** Premature ovarian failure, endothelial dysfunction and estrogen-progestogen replacement. *Trends Endocrinol Metab.* 2006;17(3):101-9.

**Kamata H, Honda S, Maeda S, Chang L, Hirata H, Karin M.** Reactive oxygen species promote TNF $\alpha$ -induced death and sustained JNK activation by inhibiting MAP kinase phosphatases. *Cell.* 2005;120: 649–661.

**Kansas GS.** Selectins and their ligands: current concepts and controversies. *Blood* 1996; 88: 3259-3287.

**Katakami N, Yamasaki Y, Hayaishi-Okano R, Ohtoshi K, Kaneto H, Matsuhisa M, Kosugi K, Hori M.** Metformin or gliclazide, rather than glibenclamide, attenuate progression of carotid intima-media thickness in subjects with type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2004;47(11):1906-13.

**Katayama T, Ueba H, Tsuboi K et al.** Reduction of neointimal hyperplasia after coronary stenting by pioglitazone in nondiabetic patients with metabolic syndrome. *Am Heart J* 2007; 153: 762.

**Kelly AS, Thelen AM, Kaiser DR, Gonzalez-Campoy JM and Bank AJ.** Rosiglitazone improves endothelial function and inflammation but not asymmetric dimethylarginine or oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. *Vasc Med* 2007; 12: 311–318.

**Kelly TN, Bazzano LA, Fonseca VA, Thethi TK, Reynolds K, He J.** Systematic review: glucose control and cardiovascular disease in type 2 diabetes. *Ann Intern Med* 2009;151:394–403.

**Kelishadi R, Hashemi M, Mohammadifard N, Asgarg S et al.** Association of changes in oxidative and proinflammatory states with changes in vascular function after a lifestyle modification trial among obese children. *Clin Chem* 2007.

**Kelley DE, Mandarino LJ.** Fuel selection in human skeletal muscle in insulin resistance: a reexamination. *Diabetes* 2000; 49 :677- 83.

**Kersten S, Desvergne B, Wahli W.** Roles of PPARs in health and disease. *Nature* 2000; 405: 421-424.

**Khouri SJ, Maly GT, Suh DD, Walsh TE:** A practical approach to the echocardiographic evaluation of diastolic function. *J Am Soc Echocardiogr* 2004, 17:290-297.

- Kim J, Montagnani M, Kwang Kon K.K, Quon M.J.** Reciprocal Relationships Between Insulin Resistance and Endothelial Dysfunction: Molecular and Pathophysiological Mechanisms. *Circulation* 2006; 113:1888-1904.
- Kim-Schulze S, McGowan KA, Hubchak SQ et al.** Expression of an estrogen receptor by human coronary artery and umbilical vein endothelial cells. *Circulation* 1996; 94: 1402-1407.
- Kim SK, Zhao ZS, Lee YJ, Lee KE, Kang SM, Choi D, Lim SK, Chung N, Lee HC, Cha BS:** Left-ventricular diastolic dysfunction may be prevented by chronic treatment with PPAR-alpha or -gamma agonists in a type 2 diabetic animal model. *Diabetes Metab Res Rev* 2003, 19:487-493.
- King H, Aubert R, Herman W.** Global burden of diabetes, 1995-2025. Prevalence, numerical estimates and projections. *Diabetes Care* 1998; 21: 1414-1431.
- Klepzig H, Kober G, Matter C, et al.** Sulfonylureas and ischemic preconditioning. A double-blind, placebo-controlled evaluation of glimepiride and glibenclamide. *Eur Heart J* 1999;20:439-46.
- Kliwer SA, Lehmann JM, Milburn MV, Willson TM.** The PPARs and PXR: nuclear xenobiotic receptors that define novel hormone signaling pathways. *Recent Prog Horm Res* 1999; 54:345-367.
- Klimt CR, Knatterud GL, Meinert CL, Prout TE:** The University Group Diabetes Program: a study of the effect of hypoglycaemic agents on vascular complications in patients with adult-onset diabetes. I. Design, methods and baseline characteristics. II. Mortality results. *Diabetes* 1970; 19 (Suppl. 2):747- 830.
- Koh K.K, Son J.W, Ahn J.Y, Hwang H.Y, Kim D.S, Jin D.K, Ahn T.H, Shin E.K.** Effect of hormone replacement therapy on nitric oxide bioactivity and monocyte chemoattractant protein-1 levels. *Int J Cardiol* 2001; 81(1): 43-50.
- Koshiyama H, Ogawa Y, Tanaka K, Tanaka I.** Diabetes mellitus as dysfunction of interactions among all organs: "ominous orchestra of organs." *Clinical Medicine: Endocrinology and Diabetes*. 2008; 1:1-6.
- Koshiyama H, Shimono D, Kuwamura N, Minamikawa J, Nakamura Y.** Rapid communication: inhibitory effect of pioglitazone on carotid arterial wall thickness in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 3452-6.
- Koska J, Schwartz EA, Mullin MP, Schwenke DC, Reaven PD.** Improvement of postprandial endothelial function after a single dose of exenatide in individuals with

impaired glucose tolerance and recent-onset type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2010;33:1028–1030.

**Kulkarni RN, Bruning JC, Winnay JN, Postic C, Magnuson MA, Kahn CR.** Tissue-specific knockout of the insulin receptor in pancreatic beta cells creates an insulin secretory defect similar to that in type 2 diabetes. *Cell* 1999;96:329–39.

**Kullo IJ, Malik AR, Bielak LF, Sheedy PF 2nd, Turner ST, Peyser PA.** Brachial artery diameter and vasodilator response to nitroglycerine, but not flow-mediated dilatation, are associated with the presence and quantity of coronary artery calcium in asymptomatic adults. *Clin Sci (Lond)*. 2007;112(3):175-82.

**Kuvin JT, Patel AR, Sliney KA et al.** Peripheral vascular endothelial function testing as a noninvasive indicator of coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38: 1843-1849.

**Lamanna C, Monami M, Marchionni N and Mannucci E.** Effect of metformin on cardiovascular events and mortality: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Diabetes Obes Metab* 2011,13: 221-228.

**Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, Picard MH, Roman MJ, Seward J, Shanewise JS, et al:** Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr* 2005, 18:1440-1463.

**Langenfeld MR, Forst T, Hohberg C et al.** Pioglitazone decreases carotid intima-media thickness independently of glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus: results from a controlled randomized study. *Circulation* 2005; 111: 2525–31.

**Laurent S, Katsahian S, Fassot C, Tropeano AI, Gautier I, Laloux B, Boutouyrie P.** Aortic stiffness is an independent predictor of fatal stroke in essential hypertension. *Stroke*. 2003;34(5):1203-6.

**Lawrence JM, Reid J, Taylor GJ, Stirling C, Reckless JP.** Favorable effects of pioglitazone and metformin compared with gliclazide on lipoprotein subfractions in overweight patients with early type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27: 41–6.

**Lebovitz HE.** Insulin Secretagogues. In: LeRoith D, Taylor SI, Olefsky JM, editors. *Diabetes Mellitus: A Fundamental and Clinical Text*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000: 769-778.

**Lebovitz HE, Banerji M.A.** Insulin Resistance and Its Treatment by Thiazolidinediones. *Recent Prog Horm Res*. 2001;56:265-94.

**Lebovitz HE, Banerji MA.** Point: visceral adiposity is causally related to insulin resistance. *Diabetes Care*. 2005; 28(9): 2322-5.

**Lecka-Czernik B.** Bone Loss in Diabetes: Use of Antidiabetic Thiazolidinediones and Secondary Osteoporosis. *Curr Osteoporos Rep* 2010, 8:178–184.

**Lee Y, Naseem RH, Duplomb L, Park BH, Garry DJ, Richardson JA, Schaffer JE, Unger RH.** Hyperleptinemia prevents lipotoxic cardiomyopathy in acyl CoA synthase transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101:13624–13629.

**Lekakis JP, Protogerou A, Papamichael C et al.** Effect of nebivolol and atenolol on brachial artery flow-mediated vasodilation in patients with coronary artery disease. *Cardiovasc Drug Ther* 2005; 19: 277-281.

**Lemieux, S., Tremblay, A., Prud'Homme, D., Bouchard, C., Nadeau, A., and Despres, J-P.** Seven-year changes in body fat and visceral adipose tissue in women. Association with indexes of plasma glucose-insulin homeostasis. *Diabetes Care* 1996, 19,983-991.

**Leung FP, Yung LM, Laher I, Yao X, Chen ZY, Huang Y.** Exercise, vascular wall and cardiovascular diseases: an update. (part 1). *Sports Med* 2008; 38(12): 1009-24.

**Levine R.L, Chen SJ, Durand J, Chen Y.F, Oparil S.** Medroxyprogesterone Attenuates Estrogen-Mediated Inhibition of Neointima Formation After Balloon Injury of the Rat Carotid Artery. *Circulation* 1996; 94: 2221-2227.

**Lewis JD, Ferrara A, Peng T, et al.** Risk of bladder cancer among diabetic patients treated with pioglitazone: interim report of a longitudinal cohort study. *Diabetes Care*. 2011;34(4):916–922.

**Li C, Zhang B.B.** Insulin signaling and action: glucose, lipids, protein. Στο: [www.endotext.org](http://www.endotext.org).

**Lieberman EH, Gerhard MD, Uehata A, Walsh BW, Selwyn AP, Ganz P, Yeung AC, Creager MA.** Estrogen improves endothelium-dependent flow-mediated vasodilation in postmenopausal women. *Ann Intern Med* 1994;121: 936-941.

- Lincoff AM, Wolski K, Nichols SJ, Nissen SE:** Pioglitazone and risk of cardiovascular events in patients with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of randomized trials. *JAMA* 2007, 298:1180-1188.
- Liu JE, Palmieri V, Roman MJ, Bella JN, Fabsitz R, Howard BV, Welty TK, Lee ET, Devereux RB:** The impact of diabetes on left ventricular filling pattern in normotensive and hypertensive adults: the Strong Heart Study. *J Am Coll Cardiol* 2001, 37:1943-1949.
- Loimaala A, Groundstroem K, Rinne M, Nenonen A, Huhtala H, Vuori I:** Exercise training does not improve myocardial diastolic tissue velocities in Type 2 diabetes. *Cardiovasc Ultrasound* 2007, 5:32.
- Lorber D.** GLP-1 receptor agonists: effects on cardiovascular risk reduction. *Cardiovasc Ther.* 2013; 31(4):238-49.
- Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M.** Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis. *Circulation* 2007; 115: 459–67.
- Loscalzo J, Weich G.** Nitric oxide and its role in the cardiovascular system. *Prog Cardiovasc Dis* 1995;38:87-194.
- Lowell BB, Shulman GI.** Mitochondrial dysfunction and type 2 diabetes. *Science.* 2005;307:384–387.
- Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, Wayne RR, Mufge GH, Alexander RW, Ganz P:** Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerosis coronary arteries. *N Engl J Med* 1986; 315: 1046-1051.
- Lukich E, Matas Z, Boaz M, Shargorodsky M.** Increasing derangement of glucose homeostasis is associated with increased arterial stiffness in patients with diabetes, impaired fasting glucose and normal controls. *Diabetes Metab Res Rev.* 2010;26(5):365-70.
- Lumeng, C. N., J. L. Bodzin, and A. R. Saltiel.** Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J. Clin. Invest.* 2007;117:175–184.
- Magnusson I, Rothman DL, Katz LD, Shulman RG, Shulman GI.** Increased rate of gluconeogenesis in type II diabetes mellitus. A <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance study. *J Clin Invest* 1992; 90:1323–7.
- Mamtani R, Haynes K, Bilker W.B, Vaughn D.J, Strom B.L, Glanz K, Lewis J.D.** Association Between longer therapy With thiazolidinediones and risk of Bladder cancer: A cohort Study. *J Natl Cancer Inst* 2012;104:1411–1421.

**Mancini GB, Henry GC, Macaya C et al.** Angiotensin-converting enzyme inhibition with quinapril improves endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease: the TREND (Trial on Reversing Endothelial Dysfunction) study. *Circulation* 1996; 94: 258-265.

**Mannucci PM.** Von Willebrand factor: a marker of endothelial damage? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 1359-1362.

**Mannucci E, Monami M, Lamanna C, Gensini GF, Marchionni N.** Pioglitazone and cardiovascular risk. A comprehensive meta-analysis of randomized clinical trials. *Diabetes Obes Metab* 2008; 10: 1221–38.

**Martens FM, Visseren FL, de Koning EJ and Rabelink TJ.** Short-term pioglitazone treatment improves vascular function irrespective of metabolic changes in patients with type 2 diabetes. *J Cardiovasc Pharmacol* 2005; 46: 773–778.

**Marx, N., et al.,** Effect of rosiglitazone treatment on soluble CD40L in patients with type 2 diabetes and coronary artery disease. *Circulation*, 2003. 107(15): p. 1954-7.

**Marx N, Libby P, Plutzky J.** Peroxisome proliferator-activated receptors and their role in the vessel wall: possible mediators of cardiovascular risk? *J Cardiovasc Risk* 2001; 8: 203-210.

**Marx N, Wohrle J, Nusser T et al.** Pioglitazone reduces neointima volume after coronary stent implantation: a randomized, placebo- controlled, double-blind trial in nondiabetic patients. *Circulation* 2005; 112: 2792–8.

**Masaki T.** The discovery, the present state, and the future prospects of endothelin. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989; 13: 1-4.

**Masaki T.** The endothelin family: an overview. *J Cardiovasc Pharmacol* 2000; 35: 3-5.

**Massi-Benedetti M, Scheen A, Charbonnel B.** Pioglitazone delays the need for permanent insulin use: results from PROactive. Paper presented at 66th Scientific Session of the American Diabetes Association, June 2006; Washington, DC.

**Mather KJ, Verma S and Anderson TJ.** Improved endothelial function with metformin in type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37: 1344-1350.

**Matsubara J, Sugiyama S, Sugamura K, Nakamura T, Fujiwara Y, Akiyama E, Kurokawa H, Nozaki T, Ohba K, Konishi M, Maeda H, Izumiya Y, Kaikita K, Sumida H, Jinnouchi H, Matsui K, Kim-Mitsuyama S, Takeya M, Ogawa H.** A dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, des-fluoro-sitagliptin, improves endothelial function



and reduces atherosclerotic lesion formation in apolipoprotein e-deficient mice. *J Am Coll Cardiol*. 2012;59:265–276.

**Matsumoto K, Sera Y, Abe Y, Tominaga T, Yeki Y and Miyake S.** Metformin attenuates progression of carotid arterial wall thickness in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2004; 64: 225-228.

**Mayer EL, Jacobsen DW, Robinson K.** Homocysteine and coronary atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:517–27.

**Mazzola N.** Review of Current and Emerging Therapies in Type 2 Diabetes Mellitus. *Am J Manag Care*. 2012; 18: S17-S26.

**Mazzone T, Meyer PM, Feinsein SB, et al.** Effect of pioglitazone compared with glimepiride on carotid intima-media thickness in type 2 diabetes. *JAMA* 2006;296:2572–81.

**McCrohon JA, Adams MR, McCredie RJ et al.** Hormone replacement therapy is associated with improved arterial physiology in healthy postmenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1996; 45: 435-41.

**McGarry JD.** Banting lecture 2001: dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes. *Diabetes* 2002; 51:7-18.

**McGill HC Jr, Sheridan PJ.** Nuclear uptake of sex steroid hormones in the cardiovascular system of the baboon. *Circ Res* 1981; 48: 238-244.

**McMillan S, Kearley J, Campbell J et al.** Matrix metalloproteinase-9 deficiency results in enhanced allergen-induced airway inflammation. *J of Immunology* 2004; 2586-2594.

**McVeigh GE, Brennan GM, Johnston GD, McDermott BJ, McGrath LT, Henry WR, Andrews JW, Hayes JR.** Impaired endothelium-dependent and independent vasodilation in patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1992;35(8):771-6.

**Medical Economics website.** TZDs, GLP-1 agonist may worsen diabetic retinal disease.

<http://medicaleconomics.modernmedicine.com/memag/article/articleDetail.jsp?id=728840>. Πρόσβαση την 10/11/13.

**Meyer AA, Kundt G, Steiner M, Schuff-Werner P, Kienast W.** Impaired flow-mediated vasodilation, carotid artery intima-media thickening and elevated endothelial plasma markers in obese children; the impact of cardiovascular risk factors. *Pediatrics* 2006; 117: 1560-1567.

- Miele C, Riboulet A, Maitan MA, Oriente F, Romano C, Formisano P, Giudicelli J, Beguinot F, Van Obberghen E** Human glycosylated albumin affects glucose metabolism in L6 skeletal muscle cells by impairing insulin-induced insulin receptor substrate (IRS) signaling through a protein kinase C $_\alpha$ -mediated mechanism. *J Biol Chem* 2003; 278:47376–47387.
- Miranda P.J, DeFronzo R.A, Califf R.M., Guyton J.R.** Metabolic syndrome: Definition, pathophysiology, and mechanisms. *American Heart Journal* 2005; 149:33-45.
- Misbin RI, Green L, Stadel BV, et al.** Lactic acidosis in patients with diabetes treated with metformin. *N Engl J Med* 1998; 338: 265–6.
- Mitcell GF, Vita JA, Larson MG, Parise H, Keyes MJ et al.** Cross-sectional relations of peripheral microvascular function, cardiovascular disease risk factors, and aortic stiffness: the Framingham Heart Study. *Circulation* 2005;112: 3722-3728.
- Mittermayer F, Schaller G, Pleiner J, et al.** Rosiglitazone prevents free fatty acid-induced vascular endothelial dysfunction. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:2574-2580.
- Miura H, Wachtel RE, Liu Y et al.** Flow-induced dilation of human coronary arterioles: important role of Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>(+)</sup> channels. *Circulation* 2001; 103: 1992-1998.
- Miyazaki Y, Matsuda M, DeFronzo RA.** Dose-response effect of pioglitazone on insulin sensitivity and insulin secretion in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2002; 25:517-523.
- Modena MG, Bonetti L, Coppi F, Bursi F, Rossi R.** Prognostic role of reversible endothelial dysfunction in hypertensive postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:505-510.
- Molitch ME, De Fronzo RA, Franz MJ et al.** Diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 2001 ; 24 : 710-719.
- Møller JE, Egstrup K, Køber L, Poulsen SH, Nyvad O, Torp-Pedersen C:** Prognostic importance of systolic and diastolic function after acute myocardial infarction. *Am Heart J*: 2003, **145**:147-153.
- Mombouli JV, Vanhoutte PM.** Endothelial dysfunction: from physiology to therapy. *J Moll Cell Cardiol* 1999; 31: 61-74.

**Montagnani M, Chen H, Barr VA, Quon MJ.** Insulin-stimulated activation of eNOS is independent of Ca<sup>2+</sup> but requires phosphorylation by Akt at Ser(1179). *J Biol Chem.* 2001; 276:30392–30398.

**Montagnani M, Golovchenko I, Kim I, et al.** Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase enhances mitogenic actions of insulin in endothelial cells. *J Biol Chem* 2002; 277:1794–1799.

**Morrish NJ, Wang SL, Stevens LK et al.** Mortality and causes of death in the WHO multinational study of vascular disease in diabetes. *Diabetologia* 2001 44(Suppl 2):S14–S21.

**Mosca L, Collins P, Herrington DM et al.** Hormone replacement therapy and cardiovascular disease: a statement for health-care professionals from the American Heart Association. *Circulation* 2001; 104: 499-503.

**Motoshima H, Wu X, Mahadev K, Goldstein BJ.** Adiponectin suppresses proliferation and superoxide generation and enhances eNOS activity in endothelial cells treated with oxidized LDL. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 315:264–271.

**Mudaliar S, Henry RR.** New oral therapies for type 2 diabetes mellitus: The glitazones or insulin sensitizers. *Annu Rev Med* 2001; 52:239-257.

**Muis, M.J., et al.,** Insulin treatment and cardiovascular disease; friend or foe? A point of view. *Diabet Med*, 2005. 22(2): p. 118-26.

**Mukai Y, Wang CY, Rikitake Y, Liao JK.** Phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase Akt negatively regulates plasminogen activator inhibitor type-1 expression in vascular endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 292:H1937–H1942.

**Mukhtar, R. and J.P. Reckless,** Dyslipidaemia in type 2 diabetes: effects of the thiazolidinediones pioglitazone and rosiglitazone. *Diabet Med*, 2005. 22 Suppl 3: p. 6-10.

**Muniyappa R, Montagnani M, Kon K.K, Quon M.G.** Cardiovascular Actions of Insulin. *Endocrine Reviews* 2007, 28(5):463–491.

**Nagajothi N, Adigopula S, Balamuthusamy S et al.** Pioglitazone and the risk of myocardial infarction and other major adverse cardiac events: a meta-analysis of randomized, controlled trials. *Am J Ther* 2008; 15: 506–11.

**Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC, Marino PN, Oh JK, Smiseth OA, Waggoner AD, Flachskampf FA, Pellikka PA, Evangelisa A:** Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *Eur J Echocardiogr* 2009, 10:165-193.

**Naka KK, Kalantaridou SN, Kravariti M, Bechlioulis A, Kazakos N, Calis KA et al.** Effect of the insulin sensitizers metformin and pioglitazone on endothelial function in young women with polycystic ovary syndrome: a prospective randomized study. *Fertil Steril* 2011; 95: 203-209.

**Nakamura T, Matsuda T, Kawagoe Y et al.** Effect of pioglitazone on carotid intima-media thickness and arterial stiffness in type 2 diabetic nephropathy patients. *Metabolism* 2004; 53: 1382–6.

**Nakanishi N, Shiraishi T, Mariko Wada M.** Association between C-reactive Protein and Insulin Resistance in a Japanese Population: The Minoh Study. *Internal Medicine* 2005; 44: 542–547.

**Natali A, Baldeweg S, Taschi E, et al.** Vascular effects of improving metabolic control with metformin or rosiglitazone in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004;27:1349-1357.

**Nathan DM.** Some answers, more controversy, from UKPDS. *Lancet* 1998; 352:832-833.

**Nathan DM, Buse JB, Davidson MB, et al.** Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy. A consensus statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care*. 2006; 29:1963-72.

**Nathan DM, Buse JB, Davidson MB et al.** Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy. *Diabetes Care* 2009; 32: 193–203.

**National Diabetes Data Group.** Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Diabetes* 1979; 18: 1039-1057.

**Nesto RW, Bell D, Bonow RO, Fonseca V, Grundy SM, Horton ES, Le Winter M, Porte D, Semenkovich CF, Smith S, et al:** Thiazolidinedione use, fluid retention, and congestive heart failure: a consensus statement from the American Heart Association and American Diabetes Association. *Circulation* 2003, 108:2941-2948.

**Nichols GA, Gullion CM, Koro CE, Ephross SA, Brown JB:** The incidence of congestive heart failure in type 2 diabetes: an update. *Diabetes Care* 2004, 27:1879-1884.

**Nikolaidis LA, Mankad S, Sokos GG, Miske G, Shah A, Elahi D, Shannon RP.** Effects of glucagon-like peptide-1 in patients with acute myocardial infarction and left ventricular dysfunction after successful reperfusion. *Circulation* 2004;109: 962–965.

**Nishio K, Sakurai M, Kusuyama T et al.** A randomized comparison of pioglitazone to inhibit restenosis after coronary stenting in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2006; 29: 101–6.

**Nissen SE, Nicholls SJ, Wolski K, et al.** Comparison of Pioglitazone vs Glimepiride on Progression of Coronary Atherosclerosis in Patients With Type 2 Diabetes: The PERISCOPE Randomized Controlled Trial. *JAMA* 2008;299:1561-1573.

**Nissen SE, Wolski K.** Effect of rosiglitazone on the risk of myocardial infarction and death from cardiovascular causes. *N Engl J Med* 2007; 356: 2457–71.

**Nissen SE and Wolski K.** Rosiglitazone revisited: an updated meta-analysis of risk for myocardial infarction and cardiovascular mortality. *Arch Intern Med* 2010; 170: 1191–1201.

**Nystrom FH, Quon MJ.** Insulin signalling: metabolic pathways and mechanisms for specificity. *Cell Signal*. 1999;11:563–574.

**Oberleithner H, Riethmüller C, Schillers H, MacGregor GA, de Wardener HE, Hausberg M.** Plasma sodium stiffens vascular endothelium and reduces nitric oxide release. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007; 9; 104(41):16281-6.

**Ohara Y, Peterson TE, Harrison DG.** Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production. *J Clin Invest* 1993; 91:2546-51.

**Ohara Y, Peterson TE, Sayegh HS et al.** Dietary correction of hypercholesterolemia in the rabbit normalizes endothelial superoxide anion production. *Circulation* 1995; 92: 898-903.

**Olefsky JM, Saltiel AR.** PPAR gamma and the treatment of insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab* 2000; 11:362-368.

**Olsson J, Lindberg G, Gottsäter M, Lindwall K, Sjöstrand A, Tissell A, Evans JMM, Ogston SA, Emslie-Smith A, Morris AD.** Risk of mortality and adverse cardiovascular outcomes in type 2 diabetes: a comparison of patients treated with sulfonylureas and metformin. *Diabetologia* 2006;49:930-936.

**Orio F, Jr., Palomba S, Cascella T, De Simone B, Manguso F, Savastano S et al.** Improvement in endothelial structure and function after metformin treatment in young normal-weight women with polycystic ovary syndrome: results of a 6-month study. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 6072-6076.

**Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S.** Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988; 333:664-666.

**Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE Jr, Epstein SE.** Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 1990; 323: 22-7.

**Papanas N, Maltezos E.** Oral antidiabetic agents: anti-atherosclerotic properties beyond glucose lowering? *Curr Pharm Des.* 2009;15(27):3179-92.

**Pasceri V, Wu HD, Willerson JT, and Yeh ET.** Modulation of vascular inflammation in vitro and in vivo by peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activators. *Circulation*, 2000; 101: 235–238.

**Parodi O, Neglia D, Palombo C et al.** Comparative effects of enalapril and verapamil on myocardial blood flow in systemic hypertension. *Circulation* 1997; 96: 864-73.

**Perez A, Khan M, Johnson T, Karunaratne M.** Pioglitazone plus a sulphonylurea or metformin is associated with increased lipoprotein particle size in patients with type 2 diabetes. *Diab Vasc Dis Res* 2004; 1: 44–50.

**Perley MJ, Kipnis DM:** Plasma insulin responses to oral and intravenous glucose: studies in normal and diabetic subjects. *J Clin Invest* 1967;46:1954 1962.

**Pfützner A, Marx N, Lübben G, et al.** Improvement of cardiovascular risk markers by pioglitazone is independent from glycemic control: results from the pioneer study. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:1925-1931.

**Phillips, D.I.W., Barker, D.J.P., Fall,C.H.D., Seckle, J.R., Whorwood, C.B., Wood, P.J., and Walker, B.R.** Elevated plasma cortisol concentrations: a link between low birth weight and the insulin resistance syndrome? *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1998, 83,757-760.

**Picard F, Auwerx J.** PPAR $\gamma$  and glucose homeostasis. *Annu Rev Nutr* 2002; 22:167-197.

**Pimenta E, Oparil S.** Impact of olmesartan on blood pressure, endothelial function, and cardiovascular outcomes. *Integr Blood Press Control* 2010.

**Pistrosch F, Passauer J, Fischer S, Fuecker K, Hanefeld M, Gross P.** In type 2 diabetes, rosiglitazone therapy for insulin resistance ameliorates endothelial dysfunction independent of glucose control. *Diabetes Care* 2004; 27: 484–90.

**Polikandriotis JA, Mazzella LJ, Rupnow HL, and Hart CM.** Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands stimulate endothelial nitric oxide

production through distinct peroxisome proliferator-activated receptor gamma-dependent mechanisms. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 1810–1816.

**Polonsky WH, Fisher L, Guzman S, Villa-Caballero L, Edelman SV.** Psychological insulin resistance in patients with type 2 diabetes: the scope of the problem. *Diabetes Care*. 2005;28:2543-55.

**Polonsky T, Mazzone T, Davidson M.** The clinical implications of the CHICAGO study for the management of cardiovascular risk in patients with type 2 diabetes mellitus. *Trends Cardiovasc Med*. 2009;19(3):94-9.

**Potenza MA, Marasciulo FL, Chieppa DM, et al.** Insulin resistance in spontaneously hypertensive rats is associated with endothelial dysfunction characterized by imbalance between NO and ET-1 production. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 289:H813–H822.

**Pratipanawatr W, Pratipanawatr T, Cusi K, Berria R, Adams JM, Jenkinson CP, Maezono K, DeFronzo RA, Mandarino LJ.** Skeletal muscle insulin resistance in normoglycemic subjects with a strong family history of type 2 diabetes is associated with decreased insulin-stimulated insulin receptor substrate-1 tyrosine phosphorylation.. *Diabetes* 2001; 50:2572-2578.

**Psaty BM, Furberg CD.** Rosiglitazone and cardiovascular risk. *N Engl J Med*. 2007;356:2522-24.

**Qatanani M, Lazar M.A.** Mechanisms of obesity-associated insulin resistance: many choices on the menu. *Genes Dev*. 2007; 21: 1443-1455.

**Quyyumi AA.** Does acute improvement in endothelial dysfunction in coronary artery disease improve myocardial ischemia? *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 904-11.

**Rahman S, Ismail AA, Ismail SB, Naing NN, Abdul Rahman AR.** Effect of rosiglitazone / ramipril on preclinical vasculopathy in newly diagnosed, untreated diabetes and IGT patients: 1-year randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Eur J Clin Pharmacol* 2007; 63: 733–41.

**Rajagopalan S, Kurz S, Munzel T et al.** Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone. *J Clin Invest* 1996; 97: 1916-23.

**Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA.** The glucose fatty-acid cycle: its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet* 1963; 1:785–9.

**Reaven GM.** Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37: 1595–607.

**Ree SG.** Cell signaling: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, a necessary evil for cell signaling. *Science* 2006; 312: 1882-1883.

**Rees DP, Palmer RMJ, Moncada S.** Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc Nat Acad Sci USA* 1989; 86: 3375-3378.

**Reference Values for Arterial Stiffness' Collaboration.** Determinants of pulse wave velocity in healthy people and in the presence of cardiovascular risk factors: 'establishing normal and reference values'. *Eur Heart J.* 2010;31(19):2338-50.

**Reis SE, Gloth ST, Blumenthal RS et al.** Ethinyl estradiol acutely attenuated abnormal coronary vasomotor response to acetylcholine in postmenopausal women. *Circulation* 1994; 89: 52-60.

**Rifai N, Ridker PM.** Inflammatory markers and coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol* 2002; 13(4): 383-9.

**Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N.** C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 2000; 342: 836–843.

**Ridker PM, Hennekens CH, Roitman-Johnson B, Stampfer MJ, Allen J.** Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule 1 and risks of future myocardial infarction in apparently healthy men. *Lancet* 1998; 10: 351: 88-92.

**Rosenberg L, Kaufman DW, Helmrich SP, Shapiro S.** The risk of myocardial infarction after quitting smoking in men under 55 years of age. *N Engl J Med* 1985; 313: 1511-1514.

**Rosenstock M, Greenberg A.S, Rudich A.** Distinct long-term regulation of glycerol and non-esterified fatty acid release by insulin and TNF-alpha in 3T3-L1 adipocytes *Diabetologia* 2001; 44(1), 55-62.

**Rosmarakis ES, Falagas ME.** Effect of thiazolidinedione therapy on restenosis after coronary stent implantation: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Am Heart J* 2007; 154: 144–50.

**Ross R.** The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362:801-9.

**Ross R:** Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340:115–126.



**Rudofsky G Jr, Reismann P, Grafe IA, et al.** Improved vascular function upon pioglitazone treatment in type 2 diabetes is not associated with changes in mononuclear NF-kappaB binding activity. *Horm Metab Res* 2007; 39: 665–671.

**Ruggeri ZM.** Glycoprotein Ib and von Willebrand factor in the process of thrombus formation. *Ann NY Acad Sci* 1994; 714: 200-210.

**Russel F.D, Skepper J.N, Davenport A.P.** Human endothelial cell storage granules: A novel intracellular site for isoforms of the endothelin converting enzyme. *Circ Res* 1998; 83: 314-321.

**Sack MN, Rader DJ, Cannon RO.** Oestrogen and inhibition of oxidation of low-density lipoproteins in postmenopausal women. *Lancet* 1994; 343: 269-70.

**Saltiel A.R, Kahn C.R.** Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 2001, 414(6865), 799-806.

**Samaras, K., and Campbell, L.V.** Increasing incidence of type 2 diabetes in the third millennium: is abdominal fat the central issue? *Diabetes Care* 2000, 23,443-444.

**Sambanis C, Tziomalos K, Kountana E, Kakavas N, Zografou I, Balaska A, Koulas G, Karagiannis A, Zamboulis C:** Effect of pioglitazone on heart function and N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels of patients with type 2 diabetes. *Acta Diabetol* 2008, 45:23-30.

**Satoh N, Ogawa Y, Usui T et al.** Antiatherogenic effect of pioglitazone in type 2 diabetic patients irrespective of the responsiveness to its antidiabetic effect. *Diabetes Care* 2003; 26: 2493–9.

**Sattar N, Gaw A, Scherbakova O, et al.** Metabolic syndrome with and without C-reactive protein as a predictor of coronary heart disease and diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Circulation* 2003; 108: 414–419.

**Savage DB, Petersen KF, Shulman GI.** Mechanisms of insulin resistance in humans and possible links with inflammation. *Hypertension*. 2005; 45:828–833.

**Scarpello JH and Howlett HC.** Metformin therapy and clinical uses. *Diab Vasc Dis Res* 2008; 5: 157-167.

**Schächinger V, Zeiher AM.** Atherosclerosis-associated endothelial dysfunction. *Z Kardiol*. 2000;89 Suppl 9:IX/70-.

**Schalkwijk CG, Stehouwer CD.** Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endothelial dysfunction. *Clin Sci (Lond)*. 2005;109(2):143-59.

**Schmoelzer I, Wascher TC.** Effect of repaglinide on endothelial dysfunction during a glucose tolerance test in subjects with impaired glucose tolerance. *Cardiovasc. Diabetol* 2006; 5:9.

**Schoonjans C, Auwerx J.** Thiazolidinediones: an update. *Lancet* 2000; 355: 1008-10.

**Schröder S, Enderle MD, Ossen R et al.** Noninvasive determination of endothelium-mediated vasodilation as a screening test for coronary artery disease: pilot study to assess the predictive value in comparison with angina pectoris, exercise electrocardiography, and myocardial perfusion imaging. *Am Heart J.* 1999;138(4 Pt 1):731-9.

**Sellke FW, Armstrong ML, Harrison DG.** Endothelium-dependent vascular relaxation is abnormal in the coronary microcirculation of atherosclerotic primates. *Circulation* 1990; 81: 1586-93.

**Selvin E, Bolen S, Yeh HC, Wiley C, Wilson LM, Marinopoulos SS et al.** Cardiovascular outcomes in trials of oral diabetes medications: a systematic review. *Arch Intern Med* 2008; 168: 2070-2080.

**Shetty S, Secnik K, Oglesby AK.** Relationship of glycemic control to total diabetes-related costs for managed care health plan members with type 2 diabetes. *J Manag Care Pharm.* 2005; 11:559-64.

**Shimbo D, Grahame-Clarke C, Miyake Y, et al.** The association between endothelial dysfunction and cardiovascular outcomes in a population-based multi-ethnic cohort. *Atherosclerosis* 2007;192:197-203.

**Shulman G.I.** Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest* 2000, 106 (2), 171-176.

**Sidhu JS, Kaposzta Z, Markus HS, Kaski JC.** Effects of rosiglitazone on common carotid intima-media thickness progression in coronary artery disease in patients without diabetes mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24:930-934.

**Sierra-Honigmann MR, Nath AK, Murakami C, Garcia- Cardena G, Papapetropoulos A, Sessa WC, Madge LA, Schechner JS, Schwabb MB, Poverini PJ, and Flores- Riveros JR.** Biological action of leptin as an angiogenic factor. *Science (New York)* 1998; 281: 1683–1686.

**Singh S and Furberg CD.** Thiazolidinediones and cardiovascular outcomes in type 2 diabetes. *Heart* 2009; 95: 1–3.

**Singh S, Loke YK, Furberg CD.** Long-term risk of cardiovascular events with rosiglitazone: a meta-analysis. *JAMA* 2007; 298: 1189–95.

**Smitko PE, Wang C-H, Weisel RD, Jeffries GA, Anderson TJ, Verma S.** Biomarkers of vascular disease linking inflammation to endothelial activation. *Circulation* 2003; 108: 204–18.

**Solzbach U, Hornig B, Jeserich M, Just H.** Vitamin C Improves Endothelial Dysfunction of Epicardial Coronary Arteries in Hypertensive Patients. *Circulation*. 1997; 96: 1513-1519

**Sourij H, Zweiker R, Wascher T.** Effects of pioglitazone on endothelial function, insulin sensitivity and glucose control in subjects with coronary artery disease and new-onset type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2006;29:1039-1045.

**Spiegelman, B. M, Hotamisligil, G. S.** Through thick and thin: wasting, obesity, and TNF alpha. *Cell* 1993; 73: 625- 627.

**Springer TA.** Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell* 1994; 76: 301-314.

**Stamler J.S, Loh E, Roddy MA, Currie KE, Creager MA.** Nitric oxide regulates basal systemic and pulmonary vascular resistance in healthy humans. *Circulation* 1994; 89(5): 2035-40.

**Stassen J.M., Arnout J, Deckmyn H.** The hemostatic system. *Curr Med Chem* 2004; 11 (17): 2245–2260.

**Stefan N, Stumvoll M:** Adiponectin: its role in metabolism and beyond. *Horm Metab Res* 2002; 34:469–474.

**Stehouwer CD, Henry RM, Ferreira I.** Arterial stiffness in diabetes and the metabolic syndrome: a pathway to cardiovascular disease. *Diabetologia* 2008; 51: 527–39.

**Steinberg HO, Brechtel G, Johnson A, Fineberg N, Baron AD.** Insulin-mediated skeletal muscle vasodilation is nitric oxide dependent. A novel action of insulin to increase nitric oxide release. *J Clin Invest.* 1994 Sep;94(3):1172-9.

**St John Sutton M, Rendell M, Dandona P, Dole J, Murphy K, Patwardhan R, Patel J, Freed M:** A comparison of the effects of rosiglitazone and glyburide on cardiovascular function and glycemic control in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2002, 25:2058–2064.

**Stocker, D.J., et al.**, A randomized trial of the effects of rosiglitazone and metformin on inflammation and subclinical atherosclerosis in patients with type 2 diabetes. *Am Heart J*, 2007. 153(3): p. 445 e1-6.

**Stolar M.W, Hoogwerf B.J, Gorshow S.M, Boyle P.J, Wales D.O.** Managing Type 2 Diabetes: Going Beyond Glycemic Control. *J Manag Care Pharm.* 2008;14(5):S2-S19.

**Stratton IM, Adler AI, Neil HA, et al.** Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ* 2000; 321: 405-12.

**Su Y, Liu XM, Sun YM, Wang YY, Luan Y, Wu Y.** Endothelial dysfunction in impaired fasting glycemia, impaired glucose tolerance, and type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol.* 2008;102(4):497-8.

**Sudhir K, MacGregor JS, Gupta M et al.** Effect of selective angiotensin II receptor antagonism and angiotensin converting enzyme inhibition on the coronary vasculature in vivo; intravascular two-dimensional and Doppler ultrasound studies. *Circulation* 1993; 87: 931-8.

**Suzuki K, Juo S.H, Rundek T, Boden-Albala B et al.** Genetic contribution to brachial artery flow-mediated dilation: The Northern Manhattan Family Study. *Atherosclerosis* 2007; Apr 24 [Epub ahead of print].

**Suzuki M, Takamisawa I, Yoshimasa Y and Harano Y.** Association between insulin resistance and endothelial dysfunction in type 2 diabetes and the effects of pioglitazone. *Diabetes Res Clin Pract* 2007; 76: 12–17.

**Schwartz B.G, Economides C, Mayeda G.S, Burstein S, Kloner R.A.** The endothelial cell in health and disease: its function, dysfunction, measurement and therapy. *International Journal of Impotence Research* 2010; 22: 77-90.

**Tailor A, Granger DN.** Role of adhesion molecules in vascular regulation and damage. *Current Hypertension Reports* 2000; 2: 78-83.

**Takagi T, Yamamuro A, Tamita K et al.** Pioglitazone reduces neo-intimal tissue proliferation after coronary stent implantation in patients with type 2 diabetes mellitus: an intravascular ultrasound scanning study. *Am Heart J* 2003; 146: e5.

**Takagi T, Yamamuro A, Tamita K, Katayama M, Morioka S.** Thiazolidinedione treatment attenuates diffuse neointimal hyperplasia in restenotic lesions after coronary stent implantation in type 2 diabetic patients: an intravascular ultrasound study. *J Cardiol* 2005; 45: 139–47.

- Takano H, Komuro I.** Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\gamma$  and Cardiovascular Diseases. *Circ J* 2009; 73: 214 – 220.
- Takase B, Vehata A, Akima T et al.** Endothelium-dependent flow-mediated vasodilation in coronary and brachial arteries in suspected coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1998; 82: 1535-9.
- Tamai O, Matsuoka H, Itabe H, Wada Y, Kohno K, Imaizumi T.** Single LDL apheresis improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans. *Circulation* 1997; 95: 76-82.
- Tan KC, Ai VH, Chow WS, Chau MT, Leong L, Lam KS.** Influence of low density lipoprotein (LDL) subfraction profile and LDL oxidation on endothelium-dependent and independent vasodilation in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(9):3212-6.
- Tan KC, Chow WS, Ai VH, Metz C, Bucala R, Lam KS.** Advanced glycation end products and endothelial dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2002;25(6):1055-9.
- Taniguchi CM, Emanuelli B, Kahn CR.** Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006; 7:85–96.
- Tannock LR, Little PJ, Tsoi C et al.** Thiazolidinediones reduce the LDL binding affinity of non-human primate vascular cell proteoglycans. *Diabetologia* 2004; 47: 837-843.
- Tarkun, I., et al.,** Effect of rosiglitazone on insulin resistance, C-reactive protein and endothelial function in non-obese young women with polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol*, 2005. 153(1): p. 115-21.
- Tavena E, Borucki K, Wiens L et al .** Early effects on endothelial function of atorvastatin 40mg twice daily and its withdrawal. *Am J Cardiol* 2006; 97: 1002-1006.
- Terui G, Goto T, Katsuta M, Aoki I, Ito H:** Effect of pioglitazone on left ventricular diastolic function and fibrosis of type III collagen in type 2 diabetic patients. *J Cardiol* 2009, 54:52-58.
- Terzic A, Jahangir A, Kurachi Y.** Cardiac ATP-sensitive K1 channels: regulation by intracellular nucleotides and potassium opening drugs. *Am J Physiol* 1995; 38:C525–45.
- Tessier D, Maheux P, Khalil A, Fulop T.** Effects of gliclazide versus metformin on the clinical profile and lipid peroxidation markers in type 2 diabetes. *Metabolism* 1999; 48: 897-903.

**The Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes Study Group.** Effects of intensive glucose lowering in type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2008; 358: 2545-2559.

**The ADVANCE Collaborative Group.** Intensive blood glucose control and vascular outcomes in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2008; 358:2560-2572.

**The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators.** Vitamin E supplementation and cardiovascular events in high-risk patients. *N Engl J Med* 2000; 342: 154-160.

**Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III).** Final report. *Circulation.* 2002;106:3143–3421.

**Ting RZ, Szeto CC, Chan MH, Ma KK, Chow KM.** Risk factors of vitamin B(12) deficiency in patients receiving metformin. *Arch Intern Med.* 2006; 166:1975-79.

**Toft-Nielsen MB, Damholt MB, Madsbad S, Hilsted LM, Hughes TE, Michelsen BK, Holst JJ:** Determinants of the impaired secretion of glucagon-like peptide-1 in type 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab.*2001;86:3717-3723.

**Treasure CB, Klein JL, Weintraub WS et al.** Beneficial effects of cholesterol-lowering therapy on the coronary endothelium in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1995; 332: 481-487.

**Triplitt C, Cersosimo E, DeFronzo R.A.** Pioglitazone and alogliptin combination therapy in type 2 diabetes: a pathophysiologically sound treatment. *Vascular Health and Risk Management* 2010;6 671–690.

**Tsuchiya K, Nakayama C, Iwashima F, Sakai H, Izumiyama H, Doi M, Hirata Y.**Advanced endothelial dysfunction in diabetic patients with multiple risk factors; importance of insulin resistance. *J Atheroscler Thromb.* 2007;14(6):303-9.

**Tsuji T, Mizushige K, Noma T, Murakami K, Ohmori K, Miyatake A, Kohno M:** Pioglitazone improves left ventricular diastolic function and decreases collagen accumulation in prediabetic stage of a type II diabetic rat. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001, 38:868-874.

**Turner RC, Cull CA, Frighi V, Holman RR.** Glycemic control with diet, sulfonylurea, metformin, or insulin in patients with type 2 diabetes mellitus: progressive requirement for multiple therapies (UKPDS 49). *JAMA* 1999;281:2005-12.

**Uehata A, Lieberman EH, Gerhard MD et al.** Noninvasive assessment of endothelium-dependent flow-mediated dilation of the brachial artery. *Vascular Medicine* 1997; 2: 87-92.

**UK Prospective Diabetes Study Group (UKPDS 34).** Effect of intensive blood glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes. *Lancet* 1998;352:854-65.

**UKPDS 33.** Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes. *Lancet*. 1998; 12; 352 (9131):837-53.

**Umans JG.** Less nitric oxide, more pressure, or the converse? *Lancet* 1997; 349: 816-817.

**Unger RH, Zhou YT.** Lipotoxicity of beta-cells in obesity and in other causes of fatty acid spillover. *Diabetes* 2001; 50 (Suppl. 1):S118-S121.

**United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group.** Intensive blood glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet*. 1998;352:837-53.

**Uren NJ, Melin JA, de Bruyne B, Wijns W, Baudhuin T, Gamici PG.** Relation between myocardial blood flow and the severity of coronary artery stenosis. *N Engl J Med* 1994; 330: 1782-8.

**Utsunomiya K.** Treatment strategy for type 2 diabetes from the perspective of systemic vascular protection and insulin resistance. *Vascular Health and Risk Management* 2012;8 429-436.

**Uwaifo G, Ratner R.** Differential effects of oral hypoglycemic agents on glucose control and cardiovascular risk. *Am J Cardiol* 2007; 99(s): 51B-67B.

**Uysal, K. T., S. M. Wiesbrock, M. W. Marino, and G. S. Hotamisligil.** Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF- $\alpha$  function. *Nature* 1997; 389: 610-614.

**Vallance P, Leiper J.** Cardiovascular biology of the asymmetric dimethylarginine: dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1023-1030.

**Van Boven AJ, Jukema JW, Zwinderman AH, Crinjs HJ, Lie KI, Bruschke AV.** Reduction of transient myocardial ischemia with pravastatin in the addition to the

conventional treatment in 1patients with angina pectoris. REGRes Study Group. *Circulation* 1996; 94: 1503-1505.

**van der Meer RW, Rijzewijk LJ, de Jong HW, Lamb HJ, Lubberink M, Romijn JA, Bax JJ, de Roos A, Kamp O, Paulus WJ, et al:** Pioglitazone improves cardiac function and alters myocardial substrate metabolism without affecting cardiac triglyceride accumulation and high-energy phosphate metabolism in patients with well-controlled type 2 diabetes mellitus. *Circulation* 2009, 119:2069-2077.

**van de Ree MA, Huisman MV, de Man FH, van der Vijver JC, Meinders AE, Blauw GJ.** Impaired endothelium-dependent vasodilation in type 2 diabetes mellitus and the lack of effect of simvastatin. *Cardiovasc Res.* 2001;52(2):299-305.

**Vanhoutte PM.** How to assess endothelial function in human blood vessels. *Journal of Hypertension* 1999; 17: 1047-1058.

**van Poppel PC, Netea MG, Smits P, Tack CJ.** Vildagliptin improves endothelium-dependent vasodilatation in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2011; 34:2072–2077.

**Varghese, A., et al.,** Effect of rosiglitazone on progression of atherosclerosis: insights using 3D carotid cardiovascular magnetic resonance. *J Cardiovasc Magn Reson,* 2009. 11: p. 24.

**Vehkavaara, S. and H. Yki-Jarvinen,** 3.5 years of insulin therapy with insulin glargine improves in vivo endothelial function in type 2 diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol,* 2004. 24(2): p. 325-30.

**Verhaar MC, Honing ML, van Dam T, Zwart M, Koomans HA, Kastelein TJ, Rabelink TJ.** Nifedipine improves endothelial function in hypercholesterolemia, independently of an effect on blood pressure or plasma lipids. *Cardiovasc Res* 1999; 42: 752-760.

**Verma S, Yao L, Stewart DJ, Dumont AS, Anderson TJ, McNeill JH.** Endothelin antagonism uncovers insulin-mediated vasorelaxation in vitro and in vivo. *Hypertension* 2001, 37:328–333.

**Vinereanu D, Nicolaidis E, Tweddel AC, Madler CF, Holst B, Boden LE, Cinteza M, Rees AE, Fraser AG:** Subclinical left ventricular dysfunction in asymptomatic patients with Type II diabetes mellitus, related to serum lipids and glycated haemoglobin. *Clin Sci (Lond)* 2003, 105:591-599.



**Vita JA, Kearney JF Jr, Larson MG et al.** Brachial artery vasodilator function and systemic inflammation in the Framingham Offspring Study. *Circulation* 2004; 110: 2918-2923.

**Vitale C, Mercurio G, Cornoldi A, Fini M, Volterrani M and Rosano GM.** Metformin improves endothelial function in patients with metabolic syndrome. *J Intern Med* 2005; 258: 250-256.

**Vogel RA.** Measurement of endothelial function by brachial artery FMD. *Am J Cardiol* 2001; 88: 31-4E.

**von Bibra H, Diamant M, Scheffer PG, Siegmund T, Schumm-Draeger PM:** Rosiglitazone, but not glimepiride, improves myocardial diastolic function in association with reduction in oxidative stress in type 2 diabetic patients without overt heart disease. *Diab Vasc Dis Res* 2008, 5:310-318.

**von Birgelen C, Hartmann M, Mintz GS et al.** Relationship between cardiovascular risk as predicted by established risk scores versus plaque progression as measured by serial intravascular ultrasound in left main coronary arteries. *Circulation* 2004; 110: 1579-85.

**Vyssoulis G, Pietri P, Vlachopoulos C, Alexopoulos N, Kyvelou SM, Terentes-Printzios D, Stefanadis C.** Early adverse effect of abnormal glucose metabolism on arterial stiffness in drug naive hypertensive patients. *Diab Vasc Dis Res.* 2012;9(1):18-24.

**Wajcberg E, Sriwijitkamol A, Musi N, DeFronzo RA, Cersosimo E.** Relationship between vascular reactivity and lipids in Mexican-Americans with type 2 diabetes treated with pioglitazone. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:1256-12.

**Walker AB, Chattington PD, Buckingham RE, Williams G:** The thiazolidinedione rosiglitazone (BRL-49653) lowers blood pressure and protects against impairment of endothelial function in Zucker fatty rats. *Diabetes* 1999, 48:1448-1453.

**Walter DH, Rittig K, Bahlmann FH, Kirchmair R, Silver M, Murayama T, Nishimura H, Losordo DW, Asahara T, Isner JM.** Statin therapy accelerates reendothelialization: a novel effect involving mobilization and incorporation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *Circulation.* 2002; 105(25):3017-24.

**Wang CH, Ciliberti N, Li SH, Szmilko PE, Weisel RD, Fedak PW, Al-Omran M, Cherng WJ, Li RK, Stanford WL, and Verma S.** Rosiglitazone facilitates

angiogenic progenitor cell differentiation toward endothelial lineage: a new paradigm in glitazone pleiotropy. *Circulation* 2004; 109: 1392–1400.

**Wang, T.D., et al.**, Relation of improvement in endothelium-dependent flow-mediated vasodilation after rosiglitazone to changes in asymmetric dimethylarginine, endothelin-1, and C-reactive protein in nondiabetic patients with the metabolic syndrome. *Am J Cardiol*, 2006. 98(8): p. 1057-62.

**Wannamethee SG, Shaper AG, Whincup PH, Lennon L, Sattar N.** Impact of diabetes on cardiovascular disease risk and all-cause mortality in older men: influence of age at onset, diabetes duration, and established and novel risk factors. *Arch Intern Med*. 201;171(5):404-10.

**Warrens AN, Cassidy MJD, Takahashi K, Ghates MA, Bloom SR.** Endothelin in renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 1990; 5: 418-422.

**Watanabe I, Tani S, Anazawa T, Kushiro T, Kanmatsuse K.** Effect of pioglitazone on arteriosclerosis in comparison with that of gli-benclamide. *Diabetes Res Clin Pract* 2005; 68: 104–10.

**Watts GF, O'Brien SF, Silvester W, Millar JA.** Impaired endothelium-dependent and independent dilatation of forearm resistance arteries in men with diet-treated non-insulin-dependent diabetes: role of dyslipidaemia. *Clin Sci (Lond)*. 1996;91(5):567-73.

**Weissman P.N.** Reappraisal of the Pharmacologic Approach to Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Am J Cardiol* 2002; 90(s): 42G-50G.

**Weisberg, S. P., D. Hunter, R. Huber, J. Lemieux, S. Slaymaker, K. Vaddi, I. Charo, R. L. Leibel, and A. W. Ferrante Jr.** CCR2 modulates inflammatory and metabolic effects of high-fat feeding. *J. Clin. Invest.* 2006;116:115–124.

**Williams SB, Cusco JA, Roddy MA, Johnstone MT, Creager MA.** Impaired nitric oxide-mediated vasodilation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol*. 1996;27(3):567-74.

**Williams JK, Honore EK, Washburn SA, Clarkson TB.** Effects of hormone replacement therapy on reactivity of atherosclerotic coronary arteries in cynomolgus monkeys. *J Am Coll Cardiol* 1994; 24: 1757-61.

**Witte DR, Westerink J, de Koning ET, van der Graaf V, Grobbee DE, Bots ML.** Is the association between flow-mediated dilation and cardiovascular risk limited to low-risk populations? *J Am Coll Cardiol* 2005; 45:1987-1993.

**Wolff B, Lodziewski S, Bollmann T, Opitz CF, Ewert R.** Impaired peripheral endothelial function in severe idiopathic pulmonary hypertension correlates with the pulmonary vascular response to inhaled iloprost. *Am Heart J* 2007; 153: 1088e1-1088e7.

**Woo KS, Chook P, Yu CW, Sung RY, Qiao M, Leung SS, Lam CW, Metreweli C, Celermajer DS.** Effects of diet and exercise on obesity-related vascular dysfunction in children. *Circulation* 2004; 109: 1981-1986.

**Woodcock K, Sharfstein JM, Hamburg.** Regulatory Action on Rosiglitazone by the U.S. Food and Drug Administration. *NEJM* September 23, 2010.

**Woodman RJ, Playford DA, Watts GF et al.** Improved analysis of brachial artery ultrasound using a novel edge-detection software system. *J Appl Physiol* 2001; 91:929-37.

**World Health Organization Expert Committee on Diabetes Mellitus.** Second WHO Technical Report, Series 310. *Geneva: World Health Organization, 1965.*

**World Health Organization Consultation.** Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications, Part 1: Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. Report of a WHO Consultation. *Geneva: World Health Organization, 1999.*

**Wu D, Koga T, Martin KR, Meydani M.** Effect of vitamin E on human aortic endothelial production of chemokines and adhesion to monocytes. *Atherosclerosis* 1999; 147: 297-307.

**Wu Y, Li S, Cui W, Zu X, Wang F, Du J.** Ginkgo biloba extract improves coronary blood flow in patients with coronary artery disease: role of endothelium-dependent vasodilation. *Planta Medica* 2007; 73: 624-628.

**Wyatt J, Nandish S, Oliveros R, Zion AS, Lujan MS, Chilton R.** Effect of glitazones on the progression of coronary artery disease in type 2 diabetes patients. *Vasc Health Risk Manag.* 2010, 4;6:1-8.

**Yamauchi T, Kamon J, Waki H et al.** The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipodystrophy and obesity. *Nat Med* 2001; 7:941-946.

**Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Mitsui Y, Kabayashi M, Watanabe TX, Masaki T.** A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332: 411-1.

**Yasmin, McEniery CM, O'Shaughnessy KM, Harnett P, Arshad A, Wallace S, Maki-Petaja K, McDonnell B, Ashby MJ, Brown J, Cockcroft JR, Wilkinson IB.**

Variation in the human matrix metalloproteinase-9 gene is associated with arterial stiffness in healthy individuals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26(8):1799-805.

**Yavuz D, Koc M, Toprak A et al.** Effects of ACE inhibition and AT1 antagonism on endothelial function and insulin sensitivity in essential hypertensive patients. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 2003; 4(3): 197-203.

**Yazici D, Yavuz DG, Unsalan S et al.** Temporal effects of low-dose ACE inhibition on endothelial function in type I diabetic patients. *J Endocrinol Invest* 2007; 30: 726-33.

**Yokoyama H, Sone H, Saito K, Yamada D, Honjo J, Haneda M.** Flow-mediated dilation is associated with microalbuminuria independent of cardiovascular risk factors in type 2 diabetes - interrelations with arterial thickness and stiffness. *J Atheroscler Thromb.* 2011; 18(9):744-52.

**Yokoyama J, Sutoh N, Higuma T et al.** Efficacy and safety of low- dose pioglitazone after primary coronary angioplasty with the use of bare metal stent in patients with acute myocardial infarction and with type 2 diabetes mellitus or impaired glucose tolerance. *Heart Vessels* 2007; 22: 146–51.

**Yu J, Jin N, Wang G, Zhang F, Mao J, Wang X.** Peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonist improves arterial stiffness in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease. *Metabolism* 2007; 56: 1396–401.

**Yung LM, Laher I, Yao X, Chen ZY, Huang Y, Leung FP.** Exercise, vascular wall and cardiovascular diseases: an update (part 2). *Sports Med* 2009; 39(1): 45-63.

**Zeiber AM, Drexler H, Wollschlager H, Just H.** Modulation of coronary vasomotor tone in humans; progressive endothelial dysfunction with different early stages of coronary atherosclerosis. *Circulation* 1991; 83: 391-401.

**Zhang M, Bai Y, Ye P, Luo L, Xiao W, Wu H, Liu D.** Type 2 diabetes is associated with increased pulse wave velocity measured at different sites of the arterial system but not augmentation index in a Chinese population. *Clin Cardiol.* 2011 Oct;34(10):622-7.

**Zhang X, Zhao SP, Li XP, Gao M, Zhou QC.** Endothelium-dependent and - independent functions are impaired in patients with coronary heart disease. *Atherosclerosis.* 2000;149(1):19-24

**Zhao J, Cheema F.A, Reddy U, Bremner J.D et al.** Heritability of flow-mediated dilation: A twin study. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 2386-2392.

**Ziada KM, Vince DG, Nissen SE, Tuzcu EM:** Arterial remodeling and coronary artery disease: the concept of ‘dilated’ versus ‘obstructive’ coronary atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38: 297–306.

**Ziccardi P, Nappo F, Giugliano G, Esposito K, Marfella R, Cioffi M, D'Andrea F, Molinari AM, Giugliano D.** Reduction of inflammatory cytokine concentrations and improvement of endothelial functions in obese women after weight loss over one year. *Circulation*. 2002;105(7):804-9.

**Ziemke F, Mantzoros C.S.** Adiponectin in insulin resistance: lessons from translational research. *Am J Clin Nutr* 2010; 91(suppl):258S–61S.

### **ΕΛΛΗΝΙΚΗ**

**Δελτίο Τύπου Actos.** Στο: [www.ede.gr/pdf/pdf/ACTOS.pdf](http://www.ede.gr/pdf/pdf/ACTOS.pdf). Πρόσβαση την 01/12/13.

**ΕΟΦ 2008.** Κεφάλαιο 6. Φάρμακα παθήσεων ενδοκρινών αδένων – ορμόνες. 6.1.2.2 Διγουανίδια.

**Ηλιάδης Φ, Διδάγγελος Τα, Καραμήτσος Δ.** Αντενδείξεις, ανεπιθύμητες ενέργειες και αλληλεπιδράσεις αντιδιαβητικών δισκίων. *Ελληνικά Διαβητολογικά Χρονικά* 2007; 20(4):319-332.



## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

*Δημοσιεύσεις σε διεθνή περιοδικά οι οποίες σχετίζονται με την παρούσα εργασία.*

1. **Papathanassiou K**, Naka KK, Kazakos N, Kanioglou C, Makriyiannis D, Pappas K, Katsouras CS, Liveris K, Kolettis T, Tsatsoulis A, Michalis LK. Pioglitazone vs glimepiride: Differential effects on vascular endothelial function in patients with type 2 diabetes. *Atherosclerosis*. 2009;205(1):221-6.
2. Naka KK, Pappas K, **Papathanassiou K**, Papamichael ND, Kazakos N, Kanioglou C, Makriyiannis D, Katsouras CS, Liveris K, Tsatsoulis A, Michalis LK. Lack of effects of pioglitazone on cardiac function in patients with type 2 diabetes and evidence of left ventricular diastolic dysfunction: a tissue doppler imaging study. *Cardiovasc Diabetol*. 2010; 23: 9:57.
3. Naka KK, **Papathanassiou K**, Bechlioulis A, Pappas K, Kazakos N, Kanioglou C, Papafaklis MI, Kostoula A, Vezyraki P, Makriyiannis D, Tsatsoulis A, Michalis LK. Rosiglitazone improves endothelial function in patients with type 2 diabetes treated with insulin. *Diab Vasc Dis Res*. 2011;8(3):195-201
4. Naka KK, **Papathanassiou K**, Bechlioulis A, Pappas K, Kazakos N, Kanioglou C, Kostoula A, Vezyraki P, Makriyiannis D, Tsatsoulis A, Michalis LK. Effects of pioglitazone and metformin on vascular endothelial function in patients with type 2 diabetes treated with sulfonylureas. *Diab Vasc Dis Res*. 2012; 9(1):52-8.
5. Naka KK, **Papathanassiou K**, Bechlioulis A, Kazakos N, Pappas K, Tigas S, Makriyiannis D, Tsatsoulis A, Michalis LK. Determinants of vascular function in patients with type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol*. 2012;11:127.

*Ανακοινώσεις σε Ελληνικά ή Διεθνή ιατρικά συνέδρια οι οποίες σχετίζονται με την παρούσα εργασία*

1. Central obesity is an independent predictor factor for left ventricular diastolic dysfunction in diabetic hypertensive patients. Pappas K, Naka KK, **Papathanassiou K**, Makriyiannis D, Kotsia A, Katsouras CS, Tsatsoulis A, Michalis LK. *Eur J Echocardiography* 2004;5(suppl 1): S167
2. Diastolic dysfunction is a common feature in patients with diabetes irrespective of the presence of hypertension. Pappas K, **Papathanassiou K**, Naka KK, Makriyiannis D, Kazakos N, Katsouras CS, Tsatsoulis A, Michalis LK. *Eur J Echocardiography* 2004;5(suppl 1): S168.
3. Diastolic dysfunction and arterial stiffness in diabetic patients with and without hypertension. Naka KK, Pappas K, **Papathanassiou K**, Kazakos N, Makriyiannis D, Katsouras CS, Tsatsoulis A, Michalis LK. *Eur J Echocardiography* 2004;5(suppl 1): S183.
4. Diastolic dysfunction is common in diabetic patients irrespective of the presence of hypertension. **Papathanassiou K**, Pappas K, Naka KK, Makriyiannis D, Kotsia A, Kazakos N, Katsouras CS, Tsatsoulis A, Michalis LK. *Eur J Clin Invest* 2005;35(suppl 2): p3.
5. Diastolic dysfunction and arterial stiffness in diabetic patients with and without hypertension. **Papathanassiou K**, Naka KK, Pappas K, Makriyiannis D, Kotsia A, Kazakos N, Katsouras CS, Tsatsoulis A, Michalis LK. *Eur J Clin Invest* 2005;35(suppl 2): p3.
6. The impact of central obesity on diastolic dysfunction in diabetic hypertensive patients. **Papathanassiou K**, Naka KK, Pappas K, Makriyiannis D, Kotsia A, Katsouras CS, Tsatsoulis A, Michalis LK. *Eur J Clin Invest* 2005;35 (suppl 2): p3-4.



7. Effects of the addition of metformin versus pioglitazone on vascular endothelial function in type 2 diabetes patients already treated with sulfonylureas. Naka KK, **Papathanassiou K**, Kazakos N, Pappas K, Katsouras CS, Makriyiannis D, Michalis LK, Tsatsoulis A. *41<sup>st</sup> Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes*, Athens, Greece 2005; Abstract Volume; A421:1168.
8. The insulin sensitizer rosiglitazone improves endothelial function in patients with type 2 diabetes on insulin. **Papathanassiou K**, Naka KK, Kazakos N, Pappas K, Liveris K, Makriyiannis D, Tsatsoulis A, Michalis LK. *Artery Research* 2006;1(suppl 1): S39.
9. Διαστολική δυσλειτουργία αριστερής κοιλίας και αρτηριακή σκληρότητα σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, με και χωρίς υπέρταση. **Παπαθανασίου Κ**, Νάκα ΚΚ, Παππάς Κ, Κανιόγλου Χ, Καζάκος Ν, Μακρυγιάννης Δ, Κατσούρας ΧΣ, Μιχάλης ΛΚ, Τσατσούλης Α. *9<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Διαβητολογικό Συνέδριο. Ρόδος, 17-20 Μαρτίου 2005*. Βιβλίο Περιλήψεων, ΟΡ 04. **Βραβείο 2<sup>ης</sup> σε βαθμολογία εργασίας, με πρώτο συγγραφέα μέχρι 35 ετών.**
10. Η διαστολική δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας είναι συχνό εύρημα σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 ανεξάρτητα από την παρουσία αρτηριακής υπέρτασης. **Παπαθανασίου Κ**, Παππάς Κ, Νάκα ΚΚ, Κανιόγλου Χ, Κότσια Α, Μακρυγιάννης Δ, Κατσούρας ΧΣ, Μιχάλης ΛΚ, Τσατσούλης Α. *9<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Διαβητολογικό Συνέδριο. Ρόδος, 17-20 Μαρτίου 2005*. Βιβλίο Περιλήψεων, ΟΡ 17.
11. Η κεντρική παχυσαρκία σε διαβητικούς υπέρτασικούς ασθενείς είναι ανεξέρτητος παράγοντας κινδύνου για διαστολική δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας. **Παπαθανασίου Κ**, Παππάς Κ, Νάκα ΚΚ, Κανιόγλου Χ, Κότσια Α, Μακρυγιάννης Δ, Κατσούρας ΧΣ, Γουδέβενος Ι, Μιχάλης ΛΚ, Τσατσούλης Α. *9<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Διαβητολογικό Συνέδριο. Ρόδος, 17-20 Μαρτίου 2005*. Βιβλίο Περιλήψεων, ΡΡ 49.

12. Η κεντρική παχυσαρκία είναι ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου για διαστολική δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας σε διαβητικούς υπερτασικούς ασθενείς. **Παπαθανασίου Κ**, Παππάς Κ, Νάκα ΚΚ, Κανιόγλου Χ, Κότσια Α, Μακρυγιάννης Δ, Κατσούρας ΧΣ, Γουδέβενος Ι, Μιχάλης ΛΚ, Τσατσούλης Α. 32<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ενδοκρινολογίας και Μεταβολισμού. Πάτρα, 31 Μαρτίου – 2 Απριλίου 2005. Βιβλίο Περιλήψεων, Ρ23.
13. Η διαστολική δυσλειτουργία είναι συχνό χαρακτηριστικό σε ασθενείς με διαβήτη ανεξάρτητα από την παρουσία υπέρτασης. **Παπαθανασίου Κ**, Παππάς Κ, Νάκα ΚΚ, Κανιόγλου Χ, Κότσια Α, Μακρυγιάννης Δ, Κατσούρας ΧΣ, Μιχάλης ΛΚ, Τσατσούλης Α. 32<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ενδοκρινολογίας και Μεταβολισμού. Πάτρα, 31 Μαρτίου – 2 Απριλίου 2005. Βιβλίο Περιλήψεων, Ρ24.
14. Διαστολική δυσλειτουργία αριστερής κοιλίας και αρτηριακή σκληρότητα σε διαβητικούς ασθενείς με και χωρίς υπέρταση. **Παπαθανασίου Κ**, Παππάς Κ, Νάκα ΚΚ, Κανιόγλου Χ, Καζάκος Ν, Μακρυγιάννης Δ, Κατσούρας ΧΣ, Μιχάλης ΛΚ, Τσατσούλης Α. 32<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ενδοκρινολογίας και Μεταβολισμού. Πάτρα, 31 Μαρτίου – 2 Απριλίου 2005. Βιβλίο Περιλήψεων, Ρ25.
15. Σκληρότητα αρτηριών και διαστολική δυσλειτουργία σε διαβητικούς ασθενείς με και χωρίς υπέρταση. **Παπαθανασίου Κ**, Νάκα ΚΚ, Παππάς Κ, Κανιόγλου Χ, Μάρκα Θ, Λιβέρης Κ, Καζάκος Ν, Κατσούρας ΧΣ, Μακρυγιάννης Δ, Τσατσούλης Α, Μιχάλης ΛΚ. 1<sup>ο</sup> Συνέδριο της Πανεπιστημιακής Ιατρικής Εταιρείας. Ιωάννινα, 13-15 Οκτωβρίου 2005. Βιβλίο Περιλήψεων ΡΡ 01.
16. Επίδραση της μετορμίνης και της πιογλιταζόνης στη λειτουργικότητα του αγγειακού ενδοθηλίου σε διαβητικούς ασθενείς τύπου 2. Νάκα ΚΚ, **Παπαθανασίου Κ**, Καζάκος Ν, Καζάκος Ν, Παππάς Κ, Κατσούρας ΧΣ, Μακρυγιάννης Δ, Τσατσούλης Α, Μιχάλης ΛΚ. 1<sup>ο</sup> Συνέδριο της Πανεπιστημιακής Ιατρικής Εταιρείας. Ιωάννινα, 13-15 Οκτωβρίου 2005. Βιβλίο Περιλήψεων ΡΡ 02.

17. Κεντρική παχυσαρκία και διαστολική δυσλειτουργία σε διαβητικούς υπέρτασικούς ασθενείς. **Παπαθανασίου Κ**, Παππάς Κ, Νάκα ΚΚ, Κανιόγλου Χ, Λιβέρης Κ, Μπάρκα Θ, Κατσούρας ΧΣ, Γουδέβενος Ι, Μακρυγιάννης Δ, Τσατσούλης Α, Μιχάλης ΛΚ. 1<sup>ο</sup> Συνέδριο της Πανεπιστημιακής Ιατρικής Εταιρείας. Ιωάννινα, 13-15 Οκτωβρίου 2005. Βιβλίο Περιλήψεων PP 03.
18. Η διαστολική δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας είναι πολύ συχνή σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη και ανεξάρτητη από την παρουσία υπέρτασης. **Παπαθανασίου Κ**, Παππάς Κ, Νάκα ΚΚ, Κανιόγλου Χ, Λιβέρης Κ, Μπάρκα Θ, Κατσούρας ΧΣ, Μακρυγιάννης Δ, Τσατσούλης Α, Μιχάλης ΛΚ. 1<sup>ο</sup> Συνέδριο της Πανεπιστημιακής Ιατρικής Εταιρείας. Ιωάννινα, 13-15 Οκτωβρίου 2005. Βιβλίο Περιλήψεων PP 04.
19. Επίδραση της προσθήκης μετφορμίνης έναντι πιογλιταζόνης στην ενδοθηλιακή λειτουργία τύπου 2 διαβητικών ασθενών που είναι ήδη σε θεραπεία με σουλφονυλουρίες. Πρώιμα αποτελέσματα. Νάκα ΚΚ, **Παπαθανασίου Κ**, Καζάκος Ν, Παππάς Κ, Κατσούρας ΧΣ, Μακρυγιάννης Δ, Τσατσούλης Α, Μιχάλης ΛΚ. *Ελληνική Καρδιολογική Επιθεώρηση* 2005;46(Συμπλ. Α): 105.
20. Predictors of endothelial function, arterial stiffness and vascular inflammation in type 2 diabetes patients. ΚΚ Naka, **K Papathanasiou**, A Bechlioulis, N Kazakos, K Pappas, D Makriyiannis, K Liveris, A Tsatsoulis, LK Michalis. *European Society of Cardiology Congress 2007 – Poster presentation. Eur Heart J* 2007;28(Suppl 1):460.
21. The insulin sensitizer rosiglitazone improves endothelial function in insulin-dependent patients with type 2 diabetes. ΚΚ Naka, **K Papathanasiou**, N Kazakos, A Bechlioulis, K Pappas, K Liveris, D Makriyiannis, A Tsatsoulis, LK Michalis. *European Society of Cardiology Congress 2007 – Poster presentation. Eur Heart J* 2007;28(Suppl 1):466.
22. Sulphonylurea vs pioglitazone: effects on endothelial function in type 2 diabetes patients. ΚΚ Naka, **K Papathanasiou**, N Kazakos, A Bechlioulis, K Pappas, D Makriyiannis, K Liveris, A Tsatsoulis, LK Michalis. *European*

Society of Cardiology Congress 2007 – Poster presentation. Eur Heart J 2007;28(Suppl 1):466.

23. Determinants of vascular function and inflammation in a type 2 diabetic population. KK Naka, **K Papathanasiou**, A Bechlioulis, N Kazakos, K Pappas, D Makriyiannis, A Kostoula, P. Vezyraki, A Tsatsoulis, LK Michalis. *28ο Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο – Αναρτημένη ανακοίνωση. Hellenic J Cardiol 2007;48:A31.*
24. The insulin sensitizer pioglitazone improves endothelial function in non-insulin dependent patients with type 2 diabetes. KK Naka, **K Papathanasiou**, A Bechlioulis, N Kazakos, K Pappas, D Makriyiannis, K Liveris, A Tsatsoulis, LK Michalis. *28ο Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο – Αναρτημένη ανακοίνωση. Hellenic J Cardiol 2007;48:A110.*
25. Sulphonylurea vs pioglitazone: effects on endothelial function in type 2 diabetic patients. KK Naka, **K Papathanasiou**, A Bechlioulis, N Kazakos, K Pappas, D Makriyiannis, K Liveris, A Tsatsoulis, LK Michalis. *Hellenic J Cardiol 2007;48:A113.*

***Ανακοινώσεις σε Ελληνικά και Διεθνή ιατρικά συνέδρια οι οποίες δεν σχετίζονται με την παρούσα εργασία***

1. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΟΞΕΙΑΣ ΜΥΕΛΟΓΕΝΟΥΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑΣ ΣΕ ΗΛΙΚΙΩΜΕΝΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ. Τζουβάρα Ε, Αλυμάρα Β, Χάιδος Α, **Παπαθανασίου Α**, Συμεωνίδης Π, Μεσσίνης Στ, Τσιάρα Σ, Βάσσου Α, Μπουραντάς Κ.Λ. *2<sup>ο</sup> Πανεπειρωτικό Ιατρικό Συνέδριο, 10-12 Οκτωβρίου, 2002, Ιωάννινα.*
2. ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΟΞΕΙΑΣ ΜΥΕΛΟΓΕΝΟΥΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑΣ ΣΕ ΗΛΙΚΙΩΜΕΝΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ. Τζουβάρα Ε, Αλυμάρα Β, Χάιδος Α, **Παπαθανασίου Α**, Συμεωνίδης Π, Μεσσίνης Στ, Τσιάρα Σ, Βάσσου Α, Μπουραντάς Κ.Λ. *13<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Αιματολογικό Συνέδριο, 24-27 Οκτωβρίου, 2002, Πάτρα.*
3. ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΤΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΑΠΟ ΤΟ ΚΑΤΩΤΕΡΟ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΓΡΙΠΗ Η1Ν1. Μάστορα Μ, Λιάπης Ν, Γκίζας Α, Τσουμάνη Α, **Παπαθανασίου Α**, Μπίμπου Α, Ντούμα Α, Φερεντίνος Ν, Διαμάντη Δ, Ακριτίδης Ν. *10<sup>ο</sup> Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρίας Λοιμώξεων, 5-6 Φεβρουαρίου 2010, Αθήνα.*
4. ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΤΙΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΑΠΟ ΤΟ ΚΑΤΩΤΕΡΟ ΑΝΑΠΝΕΥΣΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΓΡΙΠΗ Η1Ν1. Μάστορα Μ, Λιάπης Ν, Γκίζας Α, Τσουμάνη Α, **Παπαθανασίου Α**, Μπίμπου Α, Ντούμα Α, Φερεντίνος Ν, Διαμάντη Δ, Ακριτίδης Ν. *3<sup>η</sup> Ημερίδα της Ελληνικής Εταιρίας Χημειοθεραπείας, 7 Φεβρουαρίου 2010, Αθήνα.*
5. ΥΠΟΘΑΛΑΜΙΚΟΥ ΤΥΠΟΥ ΥΠΟΦΥΣΙΑΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ ΜΕΤΑ ΚΡΑΝΙΟΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗ ΚΑΚΩΣΗ ΚΑΙ ΧΡΗΣΗ ΟΠΙΟΕΙΔΩΝ ΝΑΡΚΩΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ Ν. Λίγκρος, D. Chami, Α. Παπαθανασίου, Λ. Γκουβά, Χ. Λυμνιάτη, Σ. Τίγκας, Α. *39<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ενδοκρινολογίας και Μεταβολισμού, 4-7 Απριλίου, 2012, Αθήνα.*

6. ΣΟΒΑΡΗ ΥΠΟΓΛΥΚΑΙΜΙΑ ΣΕ ΑΣΘΕΝΗ ΜΕ ΧΡΟΝΙΑ ΝΕΦΡΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ: ΜΕΙΩΜΕΝΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΓΛΥΚΟΖΗΣ ΚΑΙ ΑΝΕΠΑΡΚΗΣ ΑΝΤΙΠΡΟΠΗΣΗ Α. Ξυφώλη, Ν. Λίγκρος, Α. Παπαθανασίου, D. Chami<sup>1</sup>, Α. Μαγκατσέλη, Λ. Γκουβά, Σ. Τίγκας, Α. Τσατσούλης. *39<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ενδοκρινολογίας και Μεταβολισμού, 4-7 Απριλίου, 2012, Αθήνα.*
  
7. ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΑΣΘΕΝΟΥΣ ΜΕ ΠΕΡΙΚΟΓΧΙΚΟ ΞΑΝΘΟΚΟΚΚΙΩΜΑ: ΜΙΑ ΣΠΑΝΙΑ ΝΟΣΟΣ ΠΟΥ ΜΙΜΕΙΤΑΙ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΚΗ ΟΦΘΑΛΜΟΠΑΘΕΙΑ. Ζ. Γιωτάκη, Λ. Γκουβά, **Α. Παπαθανασίου**, D. Chami, Σ. Τίγκας, Ι. Ασπρούδης, Α. Τσατσούλης. *40<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ενδοκρινολογίας και Μεταβολισμού, 17-20 Απριλίου, 2013, Αθήνα.*
  
8. ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΟΥΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ ΣΕ ΑΣΘΕΝΗ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΕΝΔΟΓΕΝΟΥΣ ΥΠΕΡΚΟΡΤΙΖΟΛΙΣΜΟΥ. Α. Μαγκατσέλη, Ν. Ξήτα, **Α. Παπαθανασίου**, D. Chami, Ν. Λίγκρος, Σ. Τίγκας, Α. Τσατσούλης. *40<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ενδοκρινολογίας και Μεταβολισμού, 17-20 Απριλίου, 2013, Αθήνα.*