



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ
ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: Ι.Α. ΓΟΥΔΕΒΕΝΟΣ
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ – ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΠΡΩΙΜΗΣ ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΑΥΞΗΤΙΚΩΝ
ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΣΤΙΣ ΗΛΕΚΤΡΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ
ΤΟΥ ΚΟΙΛΙΑΚΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ ΜΕΤΑ ΤΟ ΟΞΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑ
ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ**

ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ Α. ΕΛΑΙΟΠΟΥΛΟΣ

ΙΑΤΡΟΣ

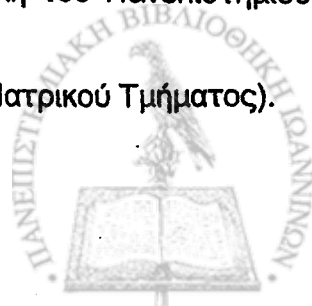
ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2007 //



«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα»

N.5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος).



Ημερομηνία αίτησης του κ. Ελαιόπουλου Δημητρίου: 11-12-2001

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 458^α/22-1-2002

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων

Σιδεράς Δημήτριος τ. Καθηγητής Καρδιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Μιχάλης Λάμπρος Αναπληρωτής Καθηγητής Καρδιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Κωλέττης Θεόφιλος Επίκουρος Καθηγητής Καρδιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 7-3-2002

ΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ : 592^α/24-10-2006

Γουδέβενος Ιωάννης	Καθηγητής Παθολογίας -Καρδιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Ευαγγέλου Άγγελος ,	Καθηγητής Φυσιολογίας, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Μαλάμου –Μήτση Βασιλική	Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Μιχάλης Λάμπρος	Καθηγητής Καρδιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Τσατσούλης Αγαθοκλής	Καθηγητής Παθολογίας -Ενδοκρινολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Κωλέττης Θεόφιλος	Επίκουρος Καθηγητής Καρδιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Κατσούρας Χρήστος	Λέκτορας Καρδιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 8-11-2006

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ

Επαμεινώνδας Τσιάνος

Καθηγητής Παθολογίας



Η Γραμματέας της Σχολής

ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ ΤΣΑΓΓΑΛΑ



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου (OEM) είναι ένα κλινικό σύνδρομο το οποίο προκύπτει από νέκρωση του μυοκαρδιακού ιστού, εξαιτίας ανισορροπίας μεταξύ των αναγκών του μυοκαρδίου σε οξυγόνο και παροχής. Οι κακοήθεις κοιλιακές αρρυθμίες που παρατηρούνται στην οξεία φάση της μυοκαρδιακής νέκρωσης ευθύνονται σε μεγάλο ποσοστό για τη θνητότητα της νόσου αυτής, είτε πρώιμα, είτε όψιμα μετά την έναρξη της ισχαιμίας. Η επίπτωση των αρρυθμιών αυτών σε ασθενείς με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου φαίνεται να μειώνεται, ίσως εξαιτίας της χρήσης τακτικών επαναιμάτωσης ή ενδοφλεβίως χορηγουμένων β-αναστολέων. Εντούτοις, περαιτέρω θεραπευτικές / φαρμακευτικές παρεμβάσεις είναι απαραίτητες για τη μείωση της εμφάνισης και τον τερματισμό των κοιλιακών αρρυθμιών στην οξεία φάση του εμφράγματος του μυοκαρδίου.

Οι ηλεκτροφυσιολογικές μεταβολές των μυοκαρδιακών κυττάρων που ακολουθούν την απόφραξη ενός στεφανιαίου αγγείου- και είναι υπεύθυνες για την υψηλή αρρυθμογένεση που παρατηρείται κατά την περίοδο αυτή- δεν είναι πλήρως κατανοητές. Η χαμηλή παροχή οξυγόνου, η συσσώρευση τοξικών μεταβολικών προϊόντων τοπικά στο μυοκάρδιο και η ενεργοποίηση διαμεμβρανικών διαύλων ιόντων που λειτουργούν μόνο στην ισχαιμία ευθύνονται κυρίως για την εμφάνιση απειλητικών για τη ζωή κοιλιακών αρρυθμιών.

Οι αυξητικοί παράγοντες, και κυρίως η αυξητική ορμόνη, αποτελούν μια ομάδα ουσιών που εμφανίζουν καρδιοπροστατευτικές ιδιότητες σε διάφορα πειραματικά μοντέλα. Η χορήγησή τους δοκιμάζεται μετά την πρόκληση οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου, με σκοπό τη μείωση της νεκρωθείσας μάζας της αριστερής κοιλίας, την πρόκληση υπερτροφίας του μυοκαρδίου και την ευνοϊκή αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας.

Εντούτοις, είναι άγνωστη η επίδραση της χορήγησης των παραγόντων αυτών στις ηλεκτροφυσιολογικές ιδιότητες των μυοκαρδιακών κυττάρων στην οξεία φάση του εμφράγματος. Η πρόκληση υπερτροφίας, η προαγωγή της νεοαγγειογένεσης και η θετική ινότροπος δράση της αυξητικής ορμόνης ενδέχεται να επιδρούν θετικά στις



μηχανικές ιδιότητες του μυοκαρδίου μετεμφραγματικά, χωρίς όμως να είναι διερευνημένη ανάλογη δράση και στις αρρυθμίες.

Έτσι, η επίδραση της χορήγησης αυξητικής ορμόνης στις κοιλιακές αρρυθμίες, σε πειραματικό μοντέλο απόφραξης της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας σε επίμυες αποτέλεσε και το κύριο αντικείμενο μελέτης της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Οι επίμυες αποτελούν το πειραματόζωο εκλογής για τέτοιου είδους μελέτες, καθώς εμφανίζουν κοινά ηλεκτροφυσιολογικά χαρακτηριστικά με τον άνθρωπο. Η πειραματική διαδικασία πραγματοποιήθηκε στο τμήμα Καρδιολογίας του Πειραματικού Εργαστηρίου του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων.

Από τη θέση αυτή θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον Επίκουρο Καθηγητή Καρδιολογίας κ. Κωλέττη Θεόφιλο, για την άριστη καθοδήγησή του σε όλες τις φάσεις εκπόνησης της παρούσας διατριβής, αλλά κυρίως για το πνεύμα διαρκούς αναζήτησης και ορθολογικής επιστημονικής σκέψης που μου μετέδωσε.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους συναδέλφους στο Πειραματικό Εργαστήριο Καρδιολογίας, με τη βοήθεια των οποίων έγινε δυνατή η ολοκλήρωση της παρούσας διατριβής. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Καρδιολογίας κ. Σιδερή Δημήτριο, για τις πολύτιμες και διδακτικές παρατηρήσεις του στη σύνταξη του τελικού κειμένου.



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο

ΑΞΟΝΑΣ ΑΥΞΗΤΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ

1.1 Γενικά	1
1.2 Φυσιολογία αυξητικής ορμόνης	2
1.2.1 Τρόπος δράσης	2
1.2.2 Ρύθμιση έκκρισης	6
1.2.3 Κυτταρικός υποδοχέας	8
1.2.4 Βιολογικές δράσεις	10
1.3 Ινσουλινόμορφοι αυξητικοί παράγοντες (IGF-I, IGF-II, ινσουλίνη)	12
1.3.1 Βιοσύνθεση	12
1.3.2 Υποδοχείς	13
1.3.3 IGF συνδέουσες πρωτεΐνες	13
1.3.4 Δράσεις των IGFs	13
1.4 Αυξητική ορμόνη και IGF-1 στον καρκίνο και το γήρας	13
1.5 Υπερέκκριση αυξητικής ορμόνης- Μεγαλακρία	17
1.5.1 Κλινική εικόνα	17
1.5.2 Επιπλοκές	18
1.5.3 Διάγνωση	20
1.5.4 Θεραπεία	20
1.6 Έλλειψη αυξητικής ορμόνης	21
1.6.1 Αιτιολογία	21
1.6.2 Σύνδρομο έλλειψης ΑΟ	21
1.6.3 Διάγνωση	21
1.6.4 Θεραπεία	22



1.7 Φαρμακολογία αυξητικής ορμόνης	22
1.8 Ενδείξεις της αυξητικής ορμόνης υπό διερεύνηση	23

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο

ΑΥΞΗΤΙΚΗ ΟΡΜΟΝΗ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

2.1 Υποδοχείς	24
2.2 Καρδιακή συσπαστικότητα	25
2.2.1 Ισομορφές μυοσίνης	25
2.2.2 Αυξητική ορμόνη και συσπαστικότητα μυοκαρδιακών ινών	26
2.2.3 IGF-1 και συσπαστικότητα μυοκαρδιακών ινών	29
2.3 Υπερτροφία μυοκαρδίου	31
2.4 Καρδιακή ανεπάρκεια	33
2.4.1 Ασθενείς με έλλειψη ΑΟ	34
2.4.2 Πειραματική καρδιακή ανεπάρκεια	34
2.4.3 Ουσίες διεγείρουσες την έκκριση της ΑΟ και πειραματική καρδιακή ανεπάρκεια	38
2.4.4 Ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια	40
2.4.5 Απόπτωση μυοκαρδιακών κυττάρων	44
2.5 Στεφανιαία νόσος-Αγγεία	47

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο

ΑΥΞΗΤΙΚΗ ΟΡΜΟΝΗ ΚΑΙ ΟΞΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ

3.1 Κινητοποίηση του άξονα ΑΟ/IGF-1 μετά το OEM	52
3.1.1 Πειραματόζωα	52
3.1.2 Άνθρωποι	54
3.2 OEM και έλλειψη ΑΟ	60
3.3 Χορήγηση ΑΟ/IGF-1 στο έμφραγμα του μυοκαρδίου	61
3.3.1 Κυτταροπροστασία	61
3.3.2 Καρδιακή λειτουργία	63
3.3.3 Νεοαγγειογέννεση και αυτόνομο νευρικό σύστημα	66



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο**ΑΡΡΥΘΜΙΕΣ ΣΤΗΝ ΟΞΕΙΑ ΦΑΣΗ ΤΟΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ**

4.1 Ηλεκτροφυσιολογικές μεταβολές σε κυτταρικό και πολυκυτταρικό επίπεδο	69
4.2 Αρρυθμίες μετά το OEM	73
4.2.1 Φάση I	73
4.2.2 Φάση II	75

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο**ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ** 77**ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ****ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6^ο****ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

6.1 Επιλογή είδους πειραματόζωου	79
6.2 Πειραματικό μοντέλο	80
6.2.1 Χορήγηση αυξητικής ορμόνης	81
6.2.2 Αναισθησία	81
6.2.3 Πρόκληση εμφράγματος του μυοκαρδίου	81
6.2.4 Εμφύτευση συστήματος Holter	83
6.2.5 Ανάλυση αρρυθμιών	84
6.2.6 Μέτρηση καρδιακής συχνότητας	85
6.2.7 Μέτρηση μονοφασικού δυναμικού ενεργείας	86
6.2.7.1 Τεχνική	86
6.2.7.2 Συσχέτιση ΜΔΕ και ΔΜΔΕ	90
6.2.8 Μέτρηση μεγέθους εμφράγματος	93
6.3 Στατιστική ανάλυση	94



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7°**ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

7.1 Θνητότητα	96
7.2 Μέγεθος εμφράγματος	99
7.3 Καρδιακή συχνότητα	100
7.4 Μονοφασικό δυναμικό ενεργείας	101
7.5 Κοιλιακές αρρυθμίες	103

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8°**ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

109

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9°**ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

114

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

116

ABSTRACT

120

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

124

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

153



ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

<i>AIDS</i>	<i>acquired immune deficiency syndrome</i>
<i>ALS</i>	<i>acid-labile subunit</i>
<i>AMI</i>	<i>acute myocardial infarction</i>
<i>AMP</i>	<i>amplitude of action potential</i>
<i>AMP</i>	<i>adenosine monophosphate</i>
<i>ANGII</i>	<i>angiotensin II</i>
<i>ANP</i>	<i>atrial natriuretic peptide</i>
<i>AO</i>	<i>αυξητική ορμόνη</i>
<i>APD25,50,75</i>	<i>action potential duration at 25%, 50%, 75% of repolarization</i>
<i>APD30,60,90</i>	<i>action potential duration at 30%, 60%, 90% of repolarization</i>
<i>ATP</i>	<i>adenosine 5'-triphosphate</i>
<i>BECAIT</i>	<i>BEzafibrate Coronary Atherosclerosis Intervention Trial</i>
<i>bFGF</i>	<i>Basic fibroblast growth factor</i>
<i>BNP</i>	<i>brain natriuretic peptide</i>
<i>bpm</i>	<i>beats per minute</i>
<i>Ccell</i>	<i>cell capacitance</i>
<i>cDNA</i>	<i>cyclic DNA</i>
<i>CK-MB</i>	<i>creatine kinase-MB</i>
<i>CREB</i>	<i>cAMP response element-binding protein</i>
<i>E/A</i>	<i>ratio of peak early diastolic filling velocity / peak filling velocity at atrial contraction</i>
<i>EDV</i>	<i>end diastolic volume</i>



II

<i>EGF</i>	<i>epidermal growth factor</i>
<i>eNOS</i>	<i>endothelial nitric oxide synthase</i>
<i>ET-1</i>	<i>endothelin-1</i>
<i>FFA</i>	<i>free fatty acids</i>
<i>GH</i>	<i>growth hormone</i>
<i>GHR</i>	<i>growth hormone receptor</i>
<i>GHRH</i>	<i>growth hormone releasing hormone</i>
<i>GHRP-6</i>	<i>growth hormone releasing peptide</i>
<i>GHS</i>	<i>growth hormone secretagogue</i>
<i>GHSR</i>	<i>growth hormone secretagogue receptor</i>
<i>HDL</i>	<i>high-density lipoprotein</i>
<i>HGF</i>	<i>hepatocyte growth factor</i>
<i>IGFBPs</i>	<i>IGF-binding proteins</i>
<i>IGF-I</i>	<i>insulin-like growth factor</i>
I_{kl}	<i>inward rectifier K^+ current, responsible for the final rapid repolarization and the maintenance of the resting potential</i>
<i>IL</i>	<i>interleukin</i>
<i>IRS-1,-2</i>	<i>insulin receptor substrate</i>
I_{to}	<i>transient outward K^+ current, responsible for the rapid initial repolarization process from the crest of the action potential</i>
<i>IVRT</i>	<i>isovolumetric relaxation time</i>
<i>JAK2</i>	<i>Janus kinase 2</i>
<i>Kd</i>	<i>kilodaltons</i>
<i>LCAC</i>	<i>long chain acylcarnitines</i>
<i>LDL</i>	<i>low-density lipoprotein</i>



III

<i>LPC</i>	<i>lysophosphatidylcholine</i>
<i>LV</i>	<i>left ventricular</i>
<i>MAP</i>	<i>monophasic action potential</i>
<i>MAPK</i>	<i>mitogen-activated protein kinase</i>
<i>mRNA</i>	<i>messenger RNA</i>
<i>NA</i>	<i>noradrenaline</i>
<i>NGF</i>	<i>nerve growth factor</i>
<i>NO</i>	<i>nitric oxide</i>
<i>PCr</i>	<i>phosphocreatine</i>
<i>PDGF</i>	<i>platelet-derived growth factor</i>
<i>PI-3</i>	<i>phosphatidylinositol 3</i>
<i>PRL</i>	<i>prolactin</i>
<i>rhGH</i>	<i>recombinant human growth hormone</i>
<i>R_{in}</i>	<i>input resistance at resting membrane potential</i>
<i>RMP</i>	<i>resting membrane potential</i>
<i>RT-PCR</i>	<i>reverse transcriptase polymerase chain reaction</i>
<i>SD</i>	<i>standard deviation</i>
<i>SE</i>	<i>standard error</i>
<i>SEM</i>	<i>standard error of the mean</i>
<i>SHP₂</i>	<i>protein tyrosine phosphatase</i>
<i>SOCS</i>	<i>suppressors of cytokine signaling</i>
<i>SPI</i>	<i>serin protein inhibitors</i>
<i>SS</i>	<i>somatostatin</i>
<i>STAT</i>	<i>signal transducers and activators of transcription</i>
<i>TAP</i>	<i>transmembrane action potential</i>



IV

<i>TGF</i>	<i>transforming growth factor</i>
<i>TNF</i>	<i>tumor necrosis factor</i>
<i>TNFR</i>	<i>tumor necrosis factor receptor</i>
<i>TTC</i>	<i>triphenyltetrazolium chloride</i>
<i>VEGF</i>	<i>vascular endothelial growth factor</i>
<i>VF</i>	<i>ventricular fibrillation</i>
<i>VSMCs</i>	<i>vascular smooth muscle cells</i>
<i>VT</i>	<i>ventricular tachycardia</i>
<i>WT</i>	<i>wall thickness</i>



$[K^+]_o$	εξωκυττάριο κάλιο
$[Na^+]_i$	ενδοκυττάριο νάτριο
ΑΑΠ	απόλυτη ανερέθιστη περίοδος
ΔΜΔΕ	διαμεμβρανικό δυναμικό ενεργείας
ΔΔΕ	διάρκεια του δυναμικού ενεργείας
ΔΕ	δυναμικό ενεργείας
ΕΜ	έμφραγμα του μυοκαρδίου
ΚΑ	καρδιακή ανεπάρκεια
ΚΛΟΑ	κατά λεπτόν όγκος αίματος
Μ.Β.	μοριακό βάρος
ΜΔΕ	μονοφασικό δυναμικό ενεργείας
ΜΦ	μονοκύτταρα
ΝΠΥ	νευροπεπτίδιο Υ
ΟΕΜ	οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου
ΟΝΑ	οξεία νεφρική ανεπάρκεια
ΠΑΣΑ	περίδεση της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας
ΣΝ	στεφανιαία νόσος
Φ1	πρώτη αρρυθμιογόνος φάση μετά το ΕΜ
Φ2	δεύτερη αρρυθμιογόνος φάση μετά το ΕΜ
ΦΟ	φυσιολογικός ορός

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

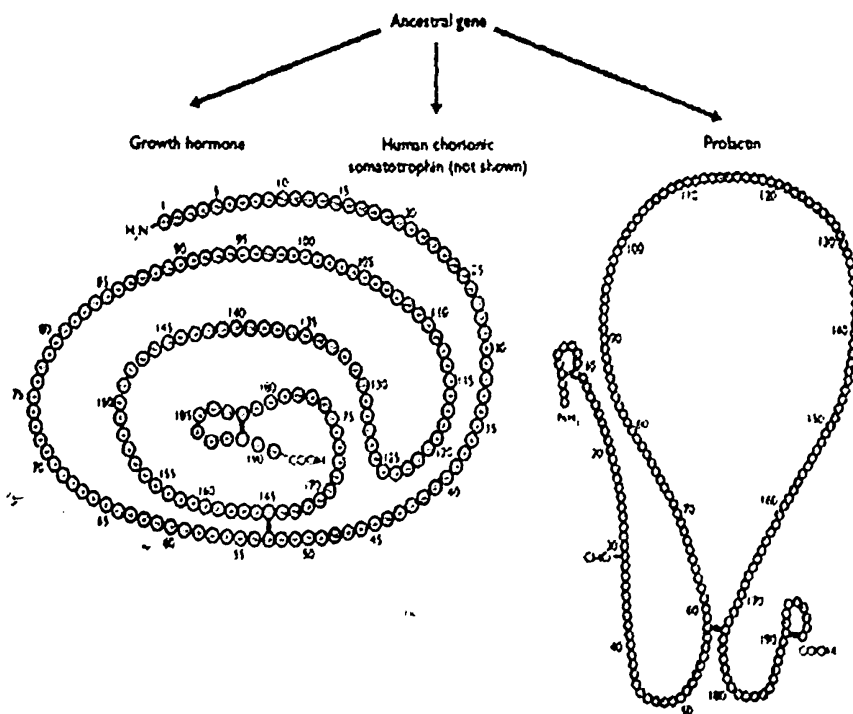


ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο

ΑΞΟΝΑΣ ΑΥΞΗΤΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ

1.1. ΓΕΝΙΚΑ

Η αυξητική ορμόνη (ΑΟ, growth hormone-GH) είναι μια πολυπεπτιδική ορμόνη, η οποία ονομάζεται και σωματοτροπίνη. Η χημική δομή της απεικονίζεται στην Εικ.1. Απομονώθηκε αρχικά το 1956 και η δομή της αναγνωρίστηκε το 1972. Το 1985 έγινε εφικτή για θεραπευτικούς σκοπούς η παραγωγή βιοσυνθετικής ανθρώπινης αυξητικής ορμόνης με τη μέθοδο του ανασυνδυασμένου DNA, η οποία αντικατέστησε την από την ανθρώπινη υπόφυση προερχόμενη ορμόνη.



Εικ.1 Μοριακή δομή της αυξητικής ορμόνης και της προλακτίνης



Τα υπεύθυνα για την αυξητική ορμόνη γονίδια εδράζονται στην q22-24 περιοχή του χρωμοσώματος 17, και σχετίζονται στενά με τα ανάλογα γονίδια για τη γαλακτογόνο πλακουντιακή ορμόνη. Αυτές οι δύο ορμόνες μαζί με την προλακτίνη αποτελούν μία ομάδα ομόλογων πρωτεϊνών με αυξητική και γαλακτοπαραγωγό δράση. Τα μόριά τους παρουσιάζουν μεγάλες ομοιότητες, ενώ τα cDNA και τα mRNA τους διαφέρουν τόσο λίγο, ώστε να εικάζεται ότι προέρχονται από ένα κοινό προγονικό γονίδιο (Εικ.1) [1].

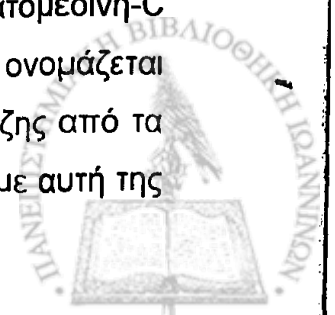
Η ΑΟ είναι μια πρωτεΐνη με 191 αμινοξέα και μοριακό βάρος (M.B.) γύρω στα 22000 daltons (το 90% του μορίου που βρίσκεται στην περιφέρεια έχει M.B. 22 kd, ενώ το 10% 20 kd). Η δομή της εμπεριέχει τέσσερις έλικες, απαραίτητες για τη σύνδεσή της με τον υποδοχέα της, οι οποίες αναδιπλούμενες με δισουλφιδικούς δεσμούς σχηματίζουν δύο αγκύλες.

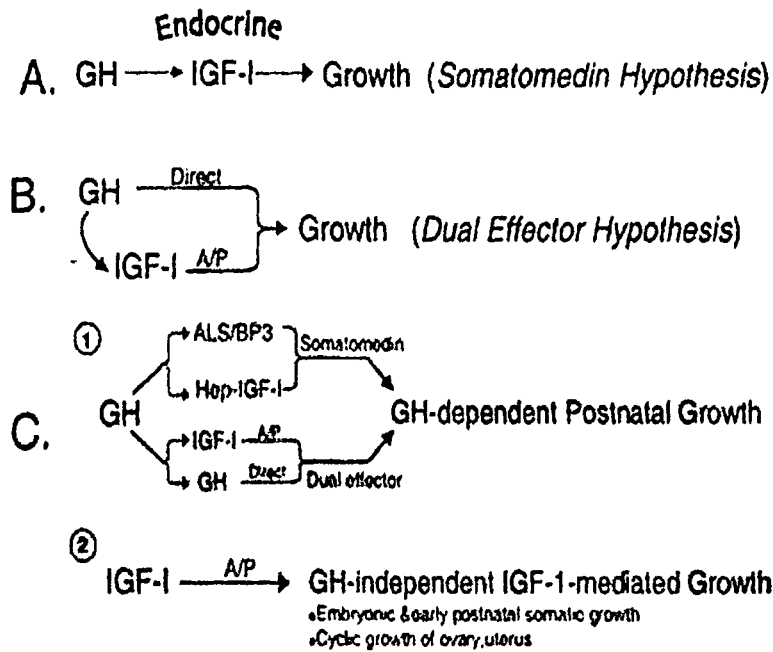
1.2. ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΑΥΞΗΤΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ

Η αυξητική ορμόνη είναι μια αναβολική ορμόνη, η οποία συντίθεται και εκκρίνεται από τα σωματοτροφικά κύτταρα του προσθίου λοβού της υπόφυσης, τα οποία καταλαμβάνουν το 50 % της αδenoϋπόφυσης, συνήθως βρίσκονται στα πλάγια τμήματα αυτής, στα οποία βρίσκεται αποθηκευμένη μεγάλη ποσότητα ορμόνης, ίση με το 10 % του αποξηραμένου βάρους του αδένου [2]. Η μέση ημερήσια παραγωγή ΑΟ κυμαίνεται γύρω στο 0,5 mg. Θεωρείται η πιο ισχυρή αναβολική ουσία στο σώμα, τουλάχιστον στις γυναίκες, όπου λείπει η έκκριση της τεστοστερόνης.

1.2.1. ΤΡΟΠΟΣ ΔΡΑΣΗΣ

Οι δράσεις της αυξητικής ορμόνης στον ανθρώπινο οργανισμό πραγματοποιούνται είτε μέσω άμεσης επίδρασης της εν λόγω ορμόνης στα κύτταρα-στόχους, είτε μέσω διαμεσολαβητών, ο κυριότερος των οποίων είναι γνωστός και ως ισουλινόμορφος αυξητικός παράγοντας-1 ή σωματομεδίνη-C (insulin-like growth factor-1-IGF-1, somatomedin C) [3]. Ο IGF-1 ονομάζεται έτσι εξαιτίας της ικανότητάς του να διεγείρει την πρόσληψη γλυκόζης από τα λιπώδη και μυϊκά κύτταρα, ενώ η χημική του δομή είναι παρόμοια με αυτή της ινσουλίνης.





Εικ.2 Τα διάφορα στάδια εξέλιξης της υπόθεσης της σωματομεδίνης. Αρχικά πιστευόταν ότι η σωματική ανάπτυξη ρυθμιζόταν από την από την ΑΟ ρυθμιζόμενη ηπατική παραγωγή IGF-1, ο οποίος δρούσε έπειτα στους περιφερικούς ιστούς με ενδοκρινικό τρόπο (A). Η θεωρία του διπλού δραστικού μορίου πρότεινε τόσο την απευθείας επίδραση της ΑΟ στους ιστούς, όσο και την πρόκληση τοπικής παραγωγής IGF-1 προς αυτοκρινή και παρακρινή δράση (B). Πρόσφατα δεδομένα δείχνουν ότι η κατάσταση είναι ακόμα πιο περίπλοκη. Φαίνεται ότι υπεύθυνοι για την εξωμήτριο ανάπτυξη είναι τόσο ο ενδοκρινής όσο και ο αυτοκρινής/παρακρινής τρόπος δράσης (C1), ενώ ο IGF-1 έχει επίδραση στην ενδομήτριο ανάπτυξη και την αναπαραγωγική λειτουργία ανεξάρτητη από την ΑΟ.

Αρχικά πιστευόταν ότι η επίδραση της αυξητικής ορμόνης στη σωματική ανάπτυξη ήταν μια διαδικασία η οποία διατελείτο αποκλειστικά μέσω της παραγωγής IGF-1 από το ήπαρ, κατόπιν διεγέρσεως από την



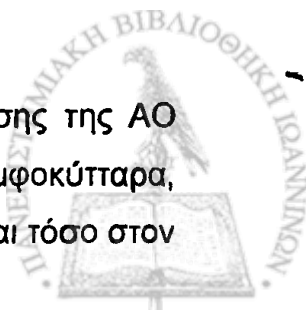
κυκλοφορούσα ΑΟ (υπόθεση σωματομεδίνης-ενδοκρινική δράση). Με τη διαπίστωση ότι ο IGF-1 παράγεται αν όχι σε όλους, στους περισσότερους ιστούς [4, 5], η παραπάνω υπόθεση αναθεωρήθηκε, και σήμερα πιστεύεται ότι η ΑΟ δύναται να δρα και άμεσα στους ιστούς, ενώ ο IGF-1 δρα με αυτοκρινικό-παρακρινικό τρόπο, και κατά περίπτωση ανεξάρτητα από την ΑΟ (Εικ.2) [3].

Πιν.1 Τοπικοί διαμεσολαβητές της ΑΟ

Ιστός	Διαμεσολαβητής
ΗΠΑΡ	Ηπατοκυτταρικός αυξητικός παράγων, φωσφορυλιωμένο ErbB-2 μέσω του JAK2
Χονδροκύτταρο	bFGF
Νεφροί	EGF
β-κύτταρα παγκρέατος	NGF υποδοχείς
	Προλιποκυτταρικός παράγων-1/πρωτεΐνη-δ
Στρωματικά κύτταρα θύμου, θυμοκύτταρα	IL-1α, IL-1β
Οστεοβλάστες	IL-6
Ινοβλάστες	Οστεομορφογεννητικές πρωτεΐνες 2 και 4, φωσφορυλιωμένο ErbB-2 μέσω του MAPK
Μήτρα, μαστικός αδένας, ήπαρ	Υποδοχέας οιστρογόνου
Πρώιμα λιποκύτταρα	Προλιποκυτταρικός παράγων-1/πρωτεΐνη-δ

Η ΑΟ προάγει τη σύνθεση πολλών αυξητικών παραγόντων σε τοπικό επίπεδο, εκτός του IGF-1. bFGF, Basic fibroblast growth factor; IL, interleukin; NGF, nerve growth factor; MAPK, mitogen-activated protein kinase.

Έχουν αναφερθεί επίσης διάφορα πιθανά σημεία σύνθεσης της ΑΟ εκτός της υπόφυσης, όπως στον πλάγιο υποθάλαμο [6], στα λεμφοκύτταρα, στα θυμοκύτταρα [7], στα ουδετερόφιλα [8], στον πλακούντα [9], και τόσο στον



φυσιολογικό, όσο και στον νεοπλασματικό μαστικό ιστό [10]. Φαίνεται ότι η ΑΟ μπορεί να έχει τοπικές παρακρινικές/αυτοκρινικές δράσεις, οι οποίες μπορεί να είναι διακριτές ή /και συμπληρωματικές με τις κλασικές δράσεις που πραγματοποιούνται μέσω του κυκλοφορούντος IGF-1. Αυτές οι τοπικές παρακρινικές/αυτοκρινικές δράσεις μπορεί να πραγματοποιούνται μέσω της τοπικής παραγωγής IGF-1 ή μέσω άλλων επιπρόσθετων παραγόντων (Πιν.1) [11].

Πιν.2 Κυριότεροι παράγοντες που επιδρούν στην έκκριση της ΑΟ

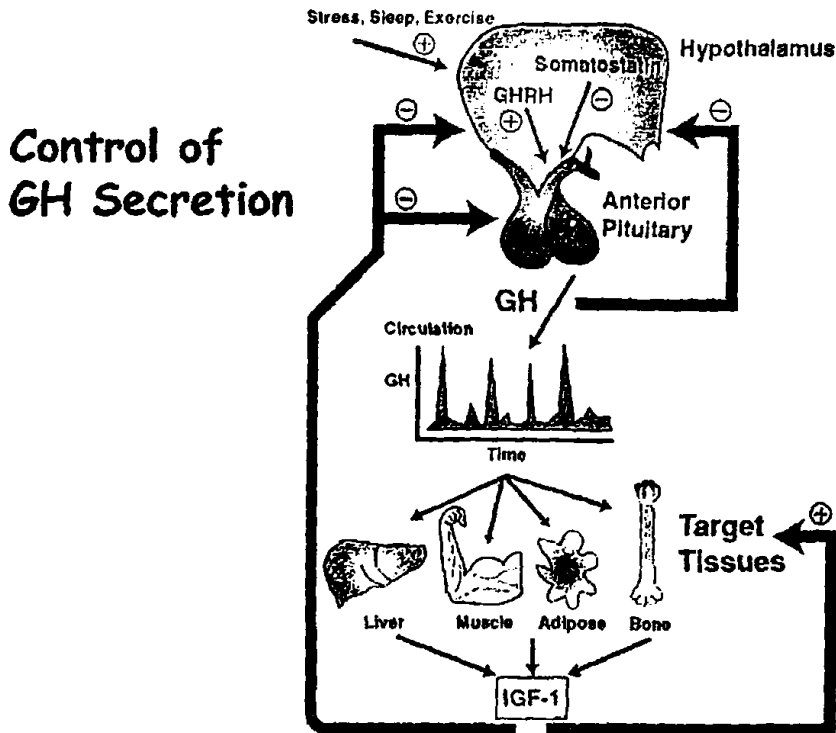
Διέγερση	Αναστολή
GHRH	Σωματοστατίνη
Υπογλυκαιμία	Υπεργλυκαιμία
Χαμηλά επίπεδα FFA	Υψηλά επίπεδα FFA
Υψηλά επίπεδα αμινοξέων	
Νηστεία	
Ύπνος	IGFs
Άσκηση	Γήρας
Stress	
Ήβη	Αυξητική ορμόνη
Οιστρογόνα	Προγεστερόνη
Ανδρογόνα	Γλυκοκορτικοειδή
A-αδρενεργικοί αγωνιστές	B-αδρενεργικοί αγωνιστές
Σεροτονίνη	Ανταγωνιστές σεροτονίνης
Αγωνιστές ντοπαμίνης	Ανταγωνιστές ντοπαμίνης

1.2.2. ΡΥΘΜΙΣΗ ΕΚΚΡΙΣΗΣ

Η σύνθεση και απελευθέρωση της ΑΟ από τον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης βρίσκεται υπό τον έλεγχο τόσο του υποθαλάμου όσο και περιφερικών ερεθισμάτων (Πιν.2). Δύο υποθαλαμικοί παράγοντες είναι υπεύθυνοι, η εκλυτική ορμόνη για την αυξητική ορμόνη (growth hormone

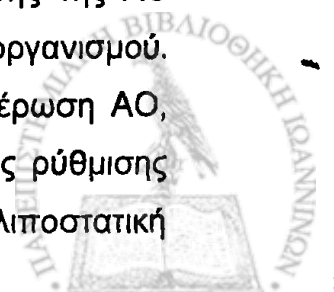


releasing hormone, GHRH) [12], και μια ανασταλτική ορμόνη, η σωματοστατίνη (somatostatin, SS) [13].



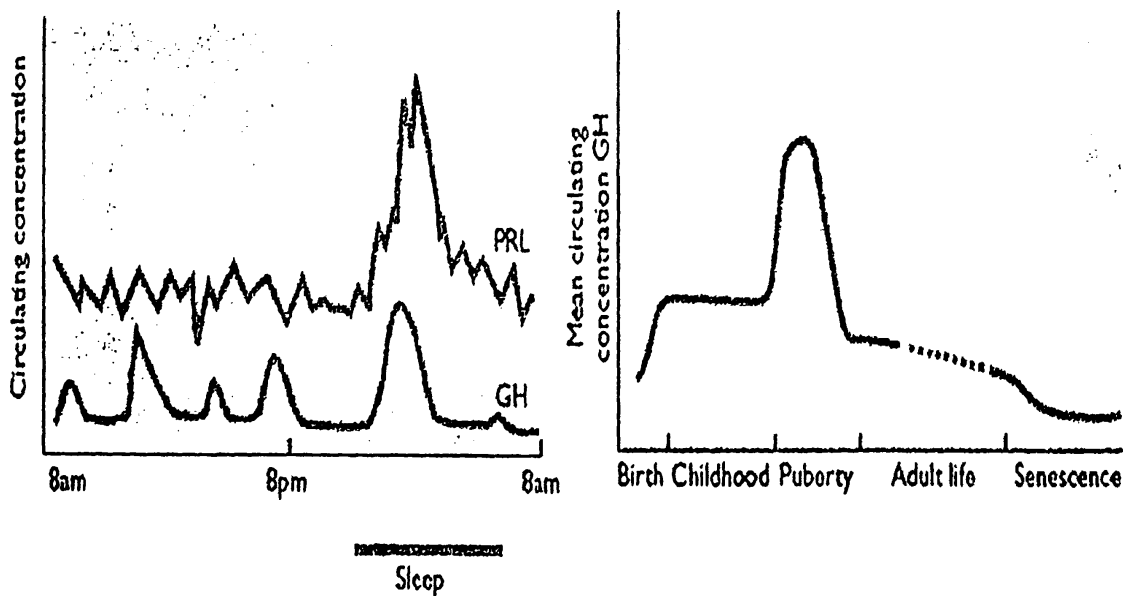
Εικ.3 Ρύθμιση της σύνθεσης και έκκρισης της αυξητικής ορμόνης. Οι υποθαλαμικές ορμόνες GHRH και σωματοστατίνη αυξάνουν και μειώνουν αντίστοιχα τα κυκλοφορούντα επίπεδα ΑΟ. Η ΑΟ συνδέεται με τον GHR στους περιφερικούς ιστούς όπως οι μύες, το ήπαρ, τα οστά, όπου αυξάνεται η έκκριση του IGF-1. Ο IGF-1 έχει και αυτός αυξητική δράση και μπορεί επίσης να μειώσει τα επίπεδα της ΑΟ μέσω αρνητικού feedback στο επίπεδο του υποθαλάμου ή της υπόφυσης.

Άλλοι παράγοντες που επιδρούν στη ρύθμιση της έκκρισης της ΑΟ από την υπόφυση σχετίζονται με τη μεταβολική κατάσταση του οργανισμού. Τα ελεύθερα λιπαρά οξέα αναστέλλουν απευθείας την απελευθέρωση ΑΟ, δράση η οποία συμπληρώνει έναν κύκλο αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης (feedback loop), καθώς η ΑΟ έχει λιπολυτική δράση [14]. Η λιποστατική



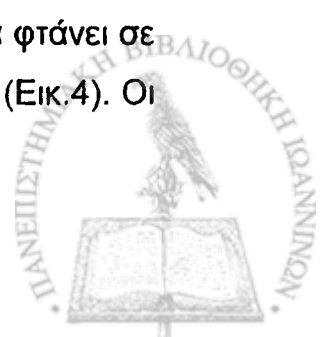
ορμόνη λεπτίνη διεγείρει την έκκριση της ΑΟ στο επίπεδο του υποθαλάμου, ρυθμίζοντας την GHRH και την SS [15]. Η δράση αυτή της λεπτίνης ενδέχεται να συμπεριλαμβάνει το νευροπεπτίδιο Υ (ΝΠΥ), καθώς η λεπτίνη αναστέλλει την έκφραση του ΝΠΥ και η έγχυση ΝΠΥ αναστέλλει την έκκριση της ΑΟ [16, 17] (Εικ.3).

Όπως όλες οι ορμόνες της υπόφυσης, η ΑΟ δεν εκκρίνεται κατά τρόπο σταθερό και συνεχή, αλλά με επεισοδιακές εκκριτικές αιχμές συγκεκριμένης ρυθμικότητας, η οποία καθορίζεται από/και αντιστοιχεί σε ανάλογες ώσεις του υποθαλάμου. Συγκεκριμένα, παρατηρούνται μικρές αιχμές την ημέρα και μεγάλες τις 3 πρώτες ώρες του ύπνου (Εικ.4) [1].



Εικ.4 Διαγραμματική απεικόνιση της ημερήσιας έκκρισης ΑΟ και PRL, και της μέσης ημερήσιας συγκέντρωσης ΑΟ με την αύξηση της ηλικίας.

Επίσης, η έκκριση της ΑΟ διαφέρει και με την ηλικία. Αυξάνει σταδιακά μετά τη γέννηση, φτάνει στο μέγιστο στην εφηβεία, και στη συνέχεια φτάνει σε μικρότερα και σταδιακά μειούμενα επίπεδα μέχρι το τέλος της ζωής (Εικ.4). Οι φυσιολογικές τιμές της ΑΟ είναι 0,5 με 10 μg/l.



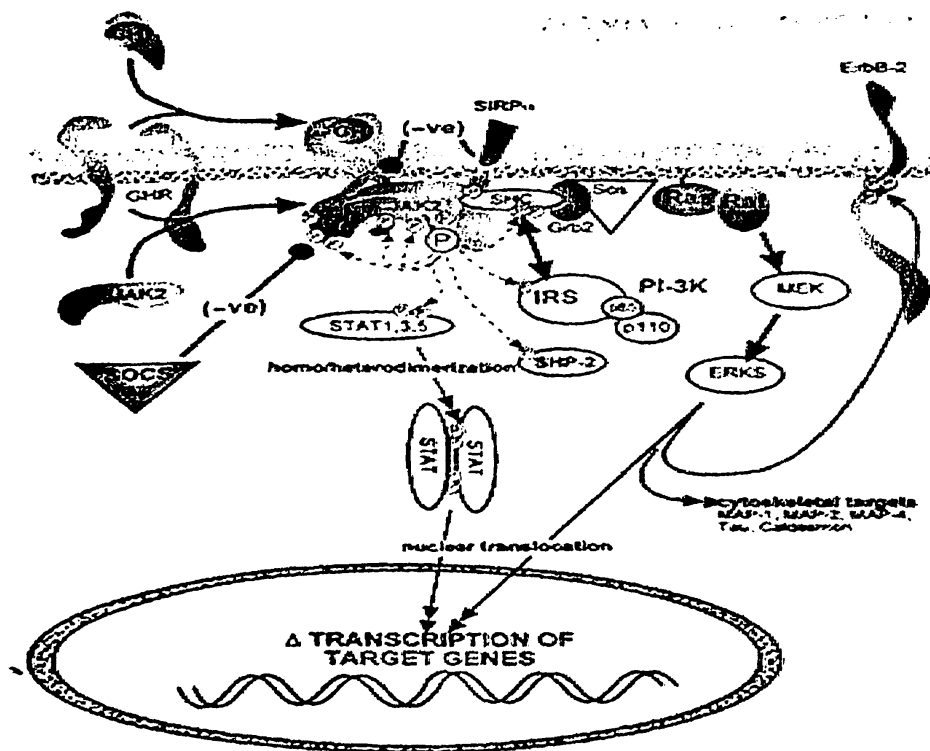
1.2.3. ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ

Οι δράσεις της ΑΟ πραγματοποιούνται με τη σύνδεση της ΑΟ με τον διαμεμβρανικό υποδοχέα της (growth hormone receptor GHR), ο οποίος βρίσκεται στα περισσότερα κύτταρα του οργανισμού. Συγκεκριμένα, ένα μόριο ΑΟ συνδέεται με δύο μόρια GHR προκαλώντας το διμερισμό τους, το πρώτο βήμα στην οδό δράσης της ΑΟ. Ο εν λόγω υποδοχέας ήταν ο πρώτος από την οικογένεια υποδοχέων κυτταροκίνης τύπου I που κλωνοποιήθηκε, και στην οποία οικογένεια ανήκουν ο υποδοχέας της προλακτίνης, της ερυθροποιητίνης, της λεπτίνης, των ιντερφερονών, και των ιντερλευκινών [18]. Όπως οι περισσότεροι υποδοχείς κυτταροκίνης, ο GHR χρησιμοποιεί το JAK-STAT μονοπάτι μετάδοσης σήματος [19] (Εικ.5).

Ο ενεργοποιημένος GHR αλληλεπιδρά με μια κινάση τυροσίνης, την JAK2, η οποία στη συνέχεια φωσφορυλιώνει τους STATs-1, -3, -5α, και -5β (μεταφορείς μηνύματος και ενεργοποιητές μεταγραφής) [19], οι οποίοι μεταφέρονται στον πυρήνα, όπου συνδέονται με ειδικές περιοχές του DNA και προκαλούν τη μεταγραφή συγκεκριμένων γονιδίων [20, 21]. Η ενεργοποίηση του GHR προκαλεί φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών IRS-1 και IRS-2 της υπομονάδας του ινσουλινικού υποδοχέα IRS (insulin receptor substrate) και σύνδεση αυτών με την φωσφατιδυλ-ινοσιτόλη-3-κινάση (PI-3 kinase) σε διάφορα κύτταρα [22-24]. Οι IRS πρωτεΐνες μεταφέρουν μηνύματα από τους υποδοχείς ινσουλίνης και IGF σε διάφορα ενδοκυττάρια μονοπάτια, και η ενεργοποίηση του υποδοχέα του IGF προκαλεί φωσφορυλίωση τους [25], αναδεικνύοντας την πιθανή «συνομιλία» (cross-talk) σε αυτό το επίπεδο μεταξύ IGF και ΑΟ.

Η ΑΟ έχει επίσης δειχθεί ότι προκαλεί είσοδο του εξωκυττάριου ασβεστίου μέσω των εξαρτωμένων από το δυναμικό L-τύπου καναλιών ασβεστίου [26]. Ακόμη, είναι υπεύθυνη για τον έλεγχο της έκφρασης των γονιδίων του IGF-1 και πολλών από τις δεσμευτικές πρωτεΐνες του IGF-1 (IGF-binding proteins, IGFBPs).



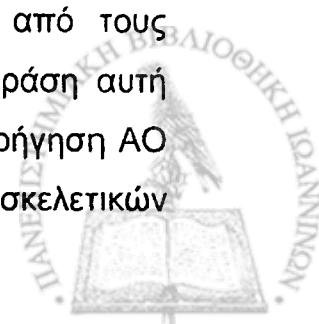


Εικ.5 Ενδοκυττάρειες οδοί μεταφοράς σήματος του υποδοχέα της ΑΟ. JAK, Janus kinase; STAT, signal transducers and activators of transcription; SOCS, suppressors of cytokine signaling; SHP2, protein tyrosine phosphatase; GHR, growth hormone receptor; IRS, insulin receptor substrate.

Το σημείο της «συνομιλίας» μεταξύ αυξητικής ορμόνης, IGF-1 και ινσουλίνης βρίσκεται στο IRS.

1.2.4. ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ

Οι φυσιολογικές δράσεις της ΑΟ είναι πλειοτροπικές και αφορούν πολλαπλά όργανα και συστήματα (Πιν.3). Η ΑΟ είναι πρωτίστως μία αναβολική ορμόνη, η οποία προάγει θετικό ισοζύγιο αζώτου και πρωτεϊνική σύνθεση στους μύες [27]. Αυξάνει την πρόσληψη αμινοξέων από τους σκελετικούς μύες, χωρίς όμως να είναι απολύτως σαφές αν η δράση αυτή είναι άμεση ή συντελείται μέσω του IGF-1 [28]. Η συστηματική χορήγηση ΑΟ διεγείρει την επιμήκη αύξηση των οστών και την ανάπτυξη των σκελετικών



μυών, ενώ η θεραπεία με IGF-1 αυξάνει το μέγεθος του λεμφικού ιστού (θύμου και σπληνός) και των νεφρών [29].

Η ενδομήτριος ανάπτυξη είναι ανεξάρτητη από την ΑΟ, καθώς τα νεογνά με συγγενή έλλειψη της υπόφυσης και της ΑΟ ή του GHR γεννιούνται με σχεδόν φυσιολογικό μέγεθος. Εντούτοις, η εξωμήτριος σωματική ανάπτυξη εξαρτάται από μια φυσιολογική και παλμική έκκριση ΑΟ [30]. Αυτή η εξάρτηση είναι κεφαλαιώδους σημασίας, ιδίως στην περίοδο της ήβης. Η ΑΟ αυξάνει τα επίπεδα τόσο του κυκλοφορούντος, όσο και του τοπικού IGF-1, με αποτέλεσμα τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων στην αυξητική ζώνη της επίφυσης των μακρών οστών, την ασβεστοποίηση και τη συγχώνευση σε μεταφυσιακό οστό [31].

Η ΑΟ έχει λιπολυτική δράση στο λιπώδη και μυϊκό ιστό, μέσω της αναστολής της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης, ενός ενζύμου που εμπλέκεται στη συσσώρευση λιπιδίων στα λιποκύτταρα [32]. Έτσι, η χορήγηση ΑΟ έχει σαν αποτέλεσμα τη μειωμένη εναπόθεση λίπους, καθώς και ελαφρά μείωση στα επίπεδα της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (low-density lipoprotein, LDL) και μικρή αύξηση της υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (high-density lipoprotein, HDL) [33].



Πιν.3 Βιολογικές δράσεις ΑΟ.

ΔΙΕΓΕΡΣΗ	ΑΝΑΣΤΟΛΗ
Επιμήκης οστική ανάπτυξη και ανακατασκευή οστού	Δράση ινσουλίνης
Πολλαπλασιασμός χονδροκυττάρων	Σύνθεση IGFBP-1
Πολλαπλασιασμός οστεοβλαστών και εναπόθεση οστού	Σύνθεση IGFBP-2
Πολλαπλασιασμός οστεοκλαστών και οστική απορρόφ.	
Σύνθεση κολλαγόνου τύπου I	
Ανάπτυξη σκελετικών μυών (ίνες, δύναμη)	
Αύξηση ήπατος	
Αποιωδίωση T_4 σε T_3	
Λιπόλυση	
Κετογένεση	
Γλυκονεογένεση	
Σύνθεση πρωτεϊνών	
Ισοζύγιο αζώτου	
Έκκριση γάλακτος	
Σύνθεση IGF-I	
Σύνθεση ALS	
Σύνθεση IGFBP-3	
Αναστολείς της πρωτεάσης της σερίνης (SPI) 2.1, 2.2	
Ανοσοτροποποίηση	
Πολλαπλασιασμός Β και Τ κυττάρων	
Δραστηριότητα φυσικών-φονέων-κυττάρων	
Δραστηριότητα μακροφάγων	
Δραστηριότητα ουδετερόφιλων	
Παραγωγή ανοσοσφαιρινών	
Παραγωγή κυττοκινών	



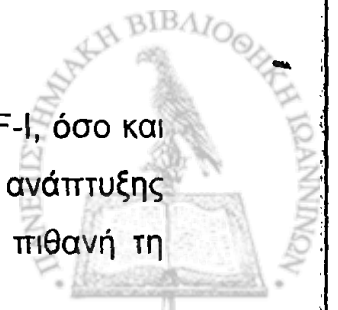
Η οξεία χορήγηση ΑΟ προκαλεί ένα προσωρινό ινσουλινόμορφο αποτέλεσμα στην πρόσληψη της γλυκόζης από τους ιστούς, ενώ η χρόνια οδηγεί σε ινσουλινο-αντίσταση, η οποία σχετίζεται με υπερινσουλαιμία, που οφείλεται πρωτίστως σε βλάβη στον καταρράκτη μετά τον υποδοχέα της ινσουλίνης [34]. Η πρόσκαιρη ινσουλινόμορφη δράση της ΑΟ στο μεταβολισμό των υδατανθράκων τόσο *in vivo*, όσο και *in vitro*, φαίνεται να είναι ανεξάρτητη από την ινσουλίνη και τον IGF-1, καθώς διαπιστώνεται και σε απομονωμένα ιστικά παρασκευάσματα και σε κυτταρικές καλλιέργειες [35]. Αν και ο ακριβής υπεύθυνος μηχανισμός δεν είναι πλήρως εξακριβωμένος, ο πιθανότερος είναι η φωσφορυλίωση του IRS-1 ή /και του IRS-2 [23]. Η συνεχιζόμενη δράση της ΑΟ προκαλεί τελικά υπεργλυκαιμία σε συνδυασμό με αυξημένη ηπατική νεογλυκογένεση και γλυκογονόλυση. Αυτές ίσως οφείλονται στην προκαλούμενη λιπόλυση και αύξηση των επιπέδων των ελεύθερων λιπαρών οξέων, τα οποία αναστέλλουν τη δράση της ινσουλίνης στους ιστούς στόχους.

1.3. ΙΝΣΟΥΛΙΝΟΜΟΡΦΟΙ ΑΥΞΗΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ (IGF-I, IGF-II, ΙΝΣΟΥΛΙΝΗ)

Οι IGF-I και IGF-II είναι σχετικά μικρά πεπτίδια (70 αμινοξέων), τα οποία μοιάζουν δομικά με την ινσουλίνη. Παίζουν σημαντικό ρόλο στην ενδομήτριο και εξωμήτριο ανάπτυξη, καθώς και στη διατήρηση των διαφοροποιημένων λειτουργιών πολλών εξειδικευμένων κυττάρων. Το πλήρες μόριο του IGF-I αποτελείται από 2 τμήματα "Α" και "Β", των οποίων οι αλληλουχίες των αμινοξέων είναι ομόλογες με αυτές των τμημάτων "Α" και "Β" της ινσουλίνης, και τα οποία συνδέονται μεταξύ τους με ένα μόριο-γέφυρα "C", το οποίο σε αντίθεση με το C_πεπτίδιο της ινσουλίνης διατηρείται κατά το σχηματισμό της πρωτεΐνης.

1.3.1. ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ

Τα αγγελιαφόρα RNA και τα πρωτεϊνικά μόρια τόσο του IGF-I, όσο και του IGF-II μπορούν να ανιχνευθούν σε κάθε ιστό με κάποιο βαθμό ανάπτυξης [36]. Η σύνθεσή τους από έναν μεγάλο αριθμό κυττάρων κάνει πιθανή τη



δράση τους με ενδοκρινή, παρακρινή ή αυτοκρινή τρόπο. Η μεταγραφή του σημαντικότερου IGF, του IGF-I φαίνεται ότι επηρεάζεται από την ΑΟ, την προσταγλαδίνη E2, την αγγειοτενσίνη II, την παραθορμόνη [37, 38] και τον πειραματικό διαβήτη.

1.3.2. ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ

Η δράση των IGFs στα κύτταρα-στόχους απαιτεί την αλληλεπίδρασή τους με ειδικούς υποδοχείς επιφανείας. Υπάρχουν 3 είδη υποδοχέων που φαίνεται ότι εμπλέκονται: ο υποδοχέας του IGF-I (τύπου I υποδοχέας IGF), ο οποίος εκφράζεται σε όλα τα κύτταρα με την εξαίρεση των ηπατοκυττάρων και των T λεμφοκυττάρων, ο IGF-II/6-φωσφορική μαννόζη υποδοχέας, και ο υποδοχέας ινσουλίνης [39]. Ο τύπου I και ο ινσουλινικός υποδοχέας έχουν δομικές ομοιότητες, ενώ υπάρχει διασταυρούμενη συνδεσιμότητα μεταξύ των 3 πρωτεϊνών και των υποδοχέων τους (Πιν.4).

Πιν.4 Σχετική συγγένεια των IGFs με τους υποδοχείς τους.

ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ	ΣΧΕΤΙΚΗ ΣΥΓΓΕΝΕΙΑ
IGF-I	IGF-I > IGF-II > ινσουλίνη
IGF-II	IGF-II >> IGF-I >> ινσουλίνη
Ινσουλίνης	ινσουλίνη >> IGF-I > IGF-II

1.3.3. IGF-ΣΥΝΔΕΟΥΣΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ (insulin-like growth factor binding proteins, IGFbps)

Οι IGFbps (1 έως 6) συνδέονται με τους IGF-I και IGF-II τόσο -ή και περισσότερο- ισχυρά όσο και ο υποδοχέας τους, αλλά δεν αλληλεπιδρούν με την ινσουλίνη. Αν και στην αρχή πιστευόταν ότι η μόνη τους δράση ήταν η μεταφορά των IGFs, σήμερα πιστεύεται ότι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της δραστηριότητας των IGFs στους διάφορους ιστούς.



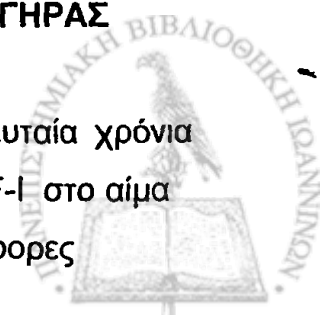
Η παραγωγή τους εξαρτάται από ένα πλήθος παραγόντων, οι σημαντικότεροι των οποίων είναι οι διαιτητικές συνήθειες, η ινσουλίνη και τα γλυκοκορτικοειδή (IGFBP-1), η ινσουλίνη (IGFBP-2), το ρετινοϊκό οξύ και ο IGF-1 (IGFBP-5). Η ρύθμιση της παραγωγής και της δραστικότητάς τους μπορεί να λάβει μέρος σε πολλαπλά επίπεδα, συμπεριλαμβανομένων της σύνθεσης, της διάσπασης και της σύνδεσής τους με τα κύτταρα. Έτσι οι IGFBPs στηρίζουν το φυσιολογικό τους ρόλο στην αλληλεπίδρασή τους με τους IGFs. Οι χρόνοι ημίσειας ζωής των τελευταίων (ιδίως του IGF-I) στην κυκλοφορία επηρεάζονται από τη συγχώνευσή τους σε ένα μακρομόριο που αποτελείται από IGF-I ή IGF-II, IGFBP-3, και μια ασταθή όξινη υπομονάδα ALS (acid-labile subunit). Με αυτόν τον τρόπο προλαμβάνεται η πιθανή υπογλυκαιμία που θα ελάμβανε χώρα στην περίπτωση περίσσειας ελεύθερου IGF-I και αλληλεπίδρασής του με τον υποδοχέα ινσουλίνης στο μυϊκό και λιπώδη ιστό. Επιπλέον, οι IGFBPs χρησιμεύουν ως κυκλοφορούσα αποθήκη IGFs, ενώ παράλληλα αναπτύσσουν και ανεξάρτητες δράσεις, προάγοντας ή αναστέλλοντας την τοπική δράση των IGFs.

1.3.4. ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ IGFs

Η πιο αναγνωρισμένη από τις δράσεις των IGFs είναι η ευοδωτική επίδρασή τους στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Προάγουν την διαφοροποίηση των κυττάρων και διεγείρουν εξειδικευμένες λειτουργίες σε διάφορα κύτταρα, ενώ αναστέλλουν τον κυτταρικό θάνατο [40]. Κεφαλαιώδους σημασίας θεωρείται η συνεισφορά τους στην ενδομήτριο ανάπτυξη, η οποία είναι ανεξάρτητη από την ΑΟ, ενώ ο IGF-I, που παράγεται στο ήπαρ κατά την εφηβεία υπό την επίδραση της ΑΟ, είναι ο σημαντικότερος διαμεσολαβητής για την περαιτέρω επιμήκη αύξηση του σώματος. Τα αποτελέσματα της χορήγησης IGF-I στον άνθρωπο φαίνονται στον πίνακα 5.

1.4. ΑΥΞΗΤΙΚΗ ΟΡΜΟΝΗ ΚΑΙ IGF-I ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΚΑΙ ΤΟ ΓΗΡΑΣ

Επιδημιολογικά στοιχεία που έχουν δημοσιευθεί τα τελευταία χρόνια καθιστούν πιθανή τη συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων ΑΟ και IGF-I στο αίμα και του κινδύνου για ανάπτυξη καρκίνου του μαστού [41-43]. Διάφορες



Πιν.5 Αποτελέσματα της χορήγησης IGF-I στον άνθρωπο.

Λειτουργία	Επίδραση της χορήγησης IGF-I
Μεταβολισμός γλυκόζης	↑ Πρόσληψη ↓ Ηπατική παραγωγή ↑ Ευαισθησία στην ινσουλίνη Υπογλυκαιμία (ιδίως ενδοφλεβίως)
Μεταβολισμός λίπους	↓ Κετονοσώματα ↓ Ελεύθερα λιπαρά οξέα ↓ Τριγλυκερίδια
Αναβολισμός πρωτεϊνών	↑ Σύνθεση πρωτεϊνών ↓ Αποβολή αζώτου ↑ Αναλογία βάρους οργάνου/σώματος, ιδίως του σπλήνα, θύμου, νεφρού, εντέρου ↑ Επούλωση πληγών
Νεφρική λειτουργία	↑ Ρυθμός σπειραματικής διήθησης ↑ Νεφρική αιμάτωση ↑ Ταχύτητα ανάρρωσης από ισχαιμική ONA
Ρυθμιστικές ορμόνες	↓ ΑΟ ↓ Γλουκαγόνο Κατεχολαμίνες
Γραμμική ανάπτυξη	Σε ασθενείς χωρίς υπόφυση και σε αντοχή σε ΑΟ
Ανεπιθύμητες ενέργειες	Διόγκωση παραωτίδων, κεφαλαλγία, περιφερικό οίδημα, ταχυκαρδία



μελέτες σε πειραματόζωα, ενώ υποστηρίζουν μια θετική ευοδωτική δράση των παραγόντων αυτών στη φυσιολογική ανάπτυξη του μαστικού αδένος [44, 45], και ιδίως για τον IGF-I στη διατήρηση της παραγωγής γάλακτος μετά την κύηση [45], έχουν παράλληλα αναδείξει πιθανή συσχέτιση μεταξύ τοπικής υπερέκφρασης των πρωτεϊνών αυτών και υπερπλασίας του αδένος ή αυξημένης συχνότητας καρκινογένεσης [46, 47]. Επιπλέον, η αναστολή της λειτουργικότητας του υποδοχέα του IGF-I βρέθηκε να καταστέλλει την ανάπτυξη των υποδορίων όγκων του μαστού σε ανοσοανεπαρκή ποντίκια [48]. Παρόμοια αναστολή της ανάπτυξης του όγκου βρέθηκε σε ποντίκια με μειωμένη δραστηριότητα του AO/ IGF-I άξονα, εξαιτίας μετάλλαξης του υποδοχέα της AO [49]. Ανάλογες μελέτες έχουν ενοχοποιήσει τον εν λόγω άξονα στον καρκίνο του προστάτη και του εντέρου-ορθού [50-54]. Έτσι λοιπόν, η ενεργοποίηση του άξονα AO/ IGF-I εμπεριέχει την πιθανότητα της αύξησης του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου σε διάφορους ιστούς.

Η μειωμένη δραστηριότητα του άξονα AO/ IGF-I οδηγεί σε αυξημένο μέσο όρο ζωής. Γονιδιακές παρατηρήσεις στη *C. Aenorhabditis Elegans* αναγνώρισαν συγκεκριμένες μεταλλάξεις, οι οποίες αυξάνουν την επιβίωση του σκώληκα [55]. Περαιτέρω ανάλυση των μεταλλάξεων αυτών αποκάλυψε ότι η μειωμένη δραστηριότητα του υποδοχέα ίνσουλίνης του IGF στα σκουλήκια ή η ελαττωμένη μετάδοση μηνυμάτων μέσω του ομολόγου της PI-3 κινάσης αυξάνουν την επιβίωση, όπως και η αυξημένη δραστηριότητα ενός γονιδίου που κωδικοποιεί τον μεταγραφικό παράγοντα *daf-16*, ο οποίος κανονικά αναστέλλεται από την πρωτεΐνη Akt, η οποία φωσφορυλιώνεται από την κινάση της PI-3 [56-58]. Στα ποντίκια, ίσως απροσδόκητα, αρκετές φυσικές ή μηχανικές μεταλλάξεις οι οποίες παρεμβαίνουν στον άξονα AO/ IGF-I αυξάνουν επίσης την επιβίωση, ενώ επιβραδύνουν σημαντικά τη σωματική ανάπτυξη και μειώνουν το σωματικό βάρος του ενήλικα [59]. Η απενεργοποίηση του υποδοχέα της AO οδηγεί σε μακροζωία [60], ενώ ετερόζυγα θηλυκά ποντίκια με έλλειψη του υποδοχέα του IGF-I ζουν 33% περισσότερο σε σχέση με τα υγιή, αλλά σε αντίθεση με τα υπόλοιπα μοντέλα δεν παρουσιάζουν καμία μείωση στο ρυθμό ανάπτυξης, το μέγεθος του σώματος ή τη γονιμότητα [61]. Στα ίδια πειράματα, οι ετερόζυγοι αρσενικοί ποντικοί δεν έζησαν περισσότερο σε σχέση με τους υγιείς [61]. Οι βιοχημικοί μηχανισμοί που είναι υπεύθυνοι για την προκληθείσα μακροζωία καθώς και

για τις παρατηρούμενες φυλετικές διαφορές δεν είναι γνωστοί. Πιθανά εμπλέκεται μία αυξημένη ανοχή στο οξειδωτικό στρες και ένας πιο χαμηλός μεταβολικός ρυθμός [61], καταστάσεις οι οποίες έχουν παρατηρηθεί σε μοντέλα τρωκτικών με θερμιδικό περιορισμό, στα οποία επίσης παρατηρείται μακροζωία [59].

1.5. ΥΠΕΡΕΚΚΡΙΣΗ ΑΥΞΗΤΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ-ΜΕΓΑΛΑΚΡΙΑ

Η υπερέκκριση της ΑΟ οδηγεί, ανάλογα με το χρόνο εμφάνισής της, είτε πολύ σπάνια στο γιγαντισμό (όταν ξεκινά πριν την ήβη), είτε στη μεγαλακρία (μετά την ήβη). Η μεγαλακρία περιγράφηκε για πρώτη φορά από το Γάλλο νευρολόγο Pierre Marie το 1886. Οφείλεται τις περισσότερες φορές σε αδένωμα της υπόφυσης που εκκρίνει ΑΟ, αν και σπάνια μπορεί να προκαλείται από υποθαλαμικό νεόπλασμα που εκκρίνει GHRH ή από έκτοπη έκκριση από καρκινοειδή όγκο (κυρίως του παγκρέατος ή των βρόγχων).

Η εξέλιξη της νόσου περνάει συνήθως από 3 στάδια. Στην αρχή παρατηρείται η ανάπτυξη του αδενώματος και η προοδευτική εγκατάσταση των συμπτωμάτων που οφείλονται στην υπερέκκριση της αυξητικής ορμόνης. Σε δεύτερο στάδιο, το αδένωμα πιέζει τον υγιή υποφυσιακό ιστό και τα γειτονικά μόρια, και προκαλεί ανεπάρκεια της υπόφυσης και πιεστικά φαινόμενα. Τελικά, η λειτουργική δραστηριότητα του αδενώματος μπορεί να διακοπεί λόγω εξάντλησης ή καταστροφής του από αιμορραγία ή κυστική εκφύλιση [62].

1.5.1. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Στο πρώτο στάδιο της ενεργού φάσης της νόσου, τα μεγάλα ποσά της ΑΟ που κυκλοφορούν στον οργανισμό του ενήλικα δρουν στα σημεία εκείνα που υπόκεινται σε περαιτέρω αύξηση και υπερτροφία, όπως τα οστά των άκρων, της κάτω γνάθου, το δέρμα, ο συνδετικός ιστός, ορισμένα μαλακά μόρια, το περίοστεο των πλατιών οστών και ορισμένα σπλάχνα (καρδιά, ήπαρ, έντερο), και δημιουργούν χαρακτηριστική μορφολογία.



Στο πρόσωπο, παρατηρείται υπερτροφία και προπέτεια της κάτω γνάθου, μεγέθυνση της μύτης, των χειλιών και των αυτιών, πάχυνση των υπεροφρύων τόξων, βαθιά ρυτίδωση του δέρματος και μεγάλη γλώσσα.

Οι παλάμες και τα άκρα πόδια είναι υπερτροφικά, παχιά και τετράγωνα, επειδή αυξάνει η εγκάρσια διάμετρος από τους υπερπλασθέντες και υπερτραφέντες ιστούς. Οι αλλοιώσεις δεν επεκτείνονται πιο πάνω από τους καρπούς ή τους τάρσους. Το δέρμα είναι παχύ, γεγονός το οποίο γίνεται αντιληπτό όταν αρθεί σε πτυχή.

Εκτός από τα ανωτέρω μορφολογικά χαρακτηριστικά, οι ασθενείς εμφανίζουν άφθονους ιδρώτες, άπνοια ύπνου και εντονότερη σωματική δραστηριότητα και δύναμη. Αν το αδένωμα σε αυτή τη φάση έχει μεγάλη ανάπτυξη, μπορεί να δημιουργήσει πιεστικά φαινόμενα, όπως κεφαλαλγίες και οπτικές διαταραχές. Οι κεφαλαλγίες είναι χαρακτηριστικές γιατί είναι ισχυρές, διαρκούν ώρες και δεν ανακουφίζονται με τα παυσίπονα. Η εντόπισή τους είναι συνήθως στο βάθος των κόγχων και στην περιοχή πάνω από τα φρύδια.

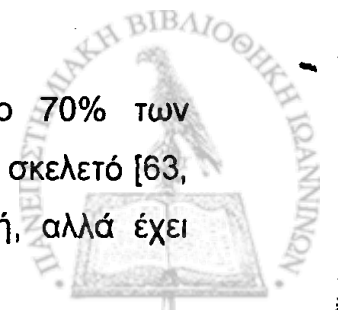
Η παραπάνω συμπτωματολογία διαρκεί μήνες ή έτη, και εμφανίζει περιόδους εξάρσεων και υφέσεων. Βαθμιαία όμως, εμφανίζονται τα συμπτώματα της υποφυσιακής ανεπάρκειας, με τη μορφή του δευτεροπαθούς υπογοναδισμού και υποθυρεοειδισμού, συχνά με τη συνύπαρξη βρογχοκήλης [2].

Παρατηρείται επίσης αμηνόρροια στις γυναίκες, έλλειψη γενετήσιας επιθυμίας στον άνδρα, πτώση των τριχών, ωχρότητα του δέρματος, μυϊκή αδυναμία και κόπωση. Χαρακτηριστικές είναι οι παραμορφώσεις του σκελετού και οι καρδιαγγειακές επιπλοκές της νόσου από τις οποίες κινδυνεύουν οι πάσχοντες.

Στην τελική φάση, ένα αδιάγνωστο αδένωμα μπορεί λόγω καταστροφής να γίνει ανενεργές, αλλά παραμένουν η υποφυσιακή ανεπάρκεια, οι μορφολογικές αλλοιώσεις και οι λειτουργικές βλάβες των οργάνων που προκλήθηκαν από την μακροχρόνια υπερέκκριση της ΑΟ.

1.5.2. ΕΠΙΠΛΟΚΕΣ

Μυοσκελετικές: η μεγαλακρική αρθροπάθεια συναντάται στο 70% των ασθενών και επηρεάζει τόσο τον αξονικό όσο και τον περιφερικό σκελετό [63, 64]. Η υποκείμενη παθοφυσιολογία δεν είναι πλήρως γνωστή, αλλά έχει



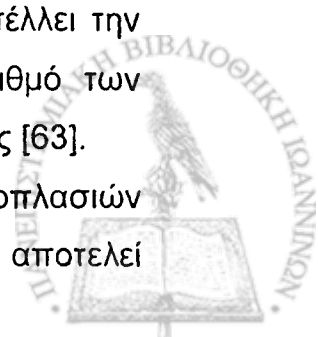
υποτεθεί πως η περίσσεια ΑΟ διεγείρει την τοπική παραγωγή IGF-1 προκαλώντας πάχυνση του χόνδρου, αλλαγές στην κανονική γεωμετρία της άρθρωσης και υπερκινητικότητα των αρθρώσεων. Ακτινολογικά, παρατηρείται στένωση του μεσάρθριου διαστήματος, οστεόφυτα και άλλα σημεία οστεοαρθρίτιδας. Επίσης, συχνό εύρημα είναι το συμπτωματικό σύνδρομο καρπιαίου σωλήνα, που απαντάται στο 60% των ασθενών, και πιστεύεται ότι οφείλεται σε οίδημα του μέσου νεύρου μες στον καρπιαίο σωλήνα, παρά σε εξωτερική πίεση του νεύρου [63, 65].

Καρδιαγγειακές: οι καρδιαγγειακές επιπλοκές της μεγαλακρίας είναι οι κυρίως υπεύθυνες για την αυξημένη θνησιμότητα των εν λόγω ασθενών [63, 66].

Υπέρταση παρατηρείται στο ένα τρίτο των ασθενών, με μερικές μελέτες να ανεβάζουν το ποσοστό στο 60% [67]. Οι υπεύθυνοι για την πρόκληση της υπέρτασης μηχανισμοί δεν είναι αποσαφηνισμένοι, αν και πειραματικές και κλινικές μελέτες ενοχοποιούν την κατακράτηση νατρίου, τον αυξημένο τόνο του συμπαθητικού συστήματος και απευθείας δράσεις αγγειακών αυξητικών παραγόντων [67]. Η προκαλούμενη μυοκαρδιοπάθεια στην μεγαλακρία χαρακτηρίζεται από αμφικοιλιακή συγκεντρική υπερτροφία, με πεπαχυσμένα κοιλιακά τοιχώματα αλλά φυσιολογικές διαστάσεις των καρδιακών κοιλοτήτων [63]. Η κοιλιακή υπερτροφία σχετίζεται με λειτουργικές επιπτώσεις (μειωμένο κλάσμα εξώθησης στην άσκηση), βαλβιδικές ανωμαλίες, και **αυξημένη συχνότητα αρρυθμιών** [68-71]. Η βαρύτητα και η συχνότητα των ανωμαλιών αυξάνονται με την ηλικία του ασθενούς και τη διάρκεια της νόσου [72, 73]. Άλλες επιπλοκές είναι η συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια και η στεφανιαία νόσος [66].

Μεταβολικές: η ΑΟ ανταγωνίζεται τη δράση της ινσουλίνης στο μεταβολισμό της γλυκόζης και των λιπιδίων. Έτσι, η πιο συχνή επιπλοκή της περίσσειας ΑΟ είναι ο σακχαρώδης διαβήτης, φτάνοντας το 19% με 56% στους ασθενείς με ενεργό νόσο, ενώ η ελαττωμένη ανοχή στη γλυκόζη απαντάται στο 46% [63, 74]. Παρατηρείται αντίσταση στη δράση της ινσουλίνης εξαιτίας της επίδρασης της περίσσειας της ΑΟ στην ικανότητα αυτής να αναστέλλει την νεογλυκογένεση, στην περιφερική πρόσληψη γλυκόζης, στον αριθμό των υποδοχέων ινσουλίνης και στη συγγένεια της ινσουλίνης προς αυτούς [63].

Νεοπλασματικές: η συσχέτιση μεταξύ του άξονα ΑΟ/ IGF-I και νεοπλασιών όπως ο καρκίνος του προστάτη, του μαστού και του εντέρου αποτελεί



αντικείμενο βασικών και κλινικών ερευνών για αρκετά χρόνια [75]. Μελέτες στο παρελθόν έχουν συνδέσει την ακρομεγαλία με την εμφάνιση αυξημένης συχνότητας καρκίνου [50], και ιδίως του εντέρου [53, 54], ενώ νεότερα δεδομένα δείχνουν ότι η συνολική επίπτωση του καρκίνου στην μεγαλακρία και η εξαιτίας αυτού θνητότητα δεν βρίσκονται αυξημένες σε σχέση με τον υγιή πληθυσμό [76] (βλ. και 1.4).

1.5.3. ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Συνήθως η διάγνωση τίθεται με την κλινική εικόνα, αλλά σπάνια στα αρχικά στάδια της νόσου. Η επιβεβαίωση γίνεται με την εύρεση σταθερά αυξημένων επιπέδων ΑΟ και IGF-I στο αίμα, και συμπληρώνεται με τη δοκιμασία χορήγησης 75 γραμμαρίων γλυκόζης, η οποία δεν αναστέλλει κάτω από 1 μg/l τα υψηλά επίπεδα της ΑΟ. Η αξονική / μαγνητική τομογραφία, με την τελευταία να υπερέχει, αποκαλύπτει το μέγεθος και την ενδεχόμενη επέκταση του αδενώματος εκτός του τουρκικού επιπέδιου [2]. Οφθαλμολογική εξέταση απαιτείται για τη διερεύνηση οπτικών ελλειμμάτων (20%), ενώ χρειάζεται και έλεγχος των λοιπών υποφυσιακών ορμονών που μπορεί να έχουν επηρεαστεί (50%) [2].

1.5.4. ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η επίτευξη επιπέδων ΑΟ κάτω από 2-2,5 μg/l μειώνει σημαντικά τη θνητότητα. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται η χειρουργική εξαίρεση του όγκου, η ακτινοθεραπεία και η φαρμακοθεραπεία.

Η διασφηνοειδής χειρουργική αφαίρεση του αδενώματος παραμένει η θεραπεία εκλογής στους περισσότερους ασθενείς, με ποσοστά ύφεσης 55 με 70%.

Η ακτινοθεραπεία σήμερα ενδείκνυται εκεί όπου αποτυγχάνουν το χειρουργείο ή τα φάρμακα, καθώς προκαλεί συχνά υποφυσιακή ανεπάρκεια, αγγειακά επεισόδια και υποτροπές.

Η φαρμακοθεραπεία περιλαμβάνει τους αγωνιστές ντοπαμίνης βρωμοκρυπτίνη και καβεργολίνη, με αποτελεσματικότητα 20 και 46% αντιστοίχως, καθώς και τα ανάλογα της σωματοστατίνης οκτρεοτίδη, σαντοστατίνη και λανρεοτίδη με εξαιρετικά αποτελέσματα, ώστε συχνά να αποτελούν πρώτη επιλογή θεραπείας. Πιο πρόσφατα, χρησιμοποιούνται οι

ανταγωνιστές των υποδοχέων της ΑΟ. Η ουσία pegvisomant αναστέλλει το διμερισμό του υποδοχέα της ΑΟ, μειώνοντας τα επίπεδα του IGF-I σε περισσότερο από 90% των ασθενών.

1.6. ΕΛΛΕΙΨΗ ΑΥΞΗΤΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ

1.6.1. ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ

Στα παιδιά, η συχνότερη αιτία ανεπάρκειας ΑΟ είναι αδιευκρίνιστη, και ο προκαλούμενος νανισμός καλείται ιδιοπαθής. Πολύ συχνά είναι αναστρέψιμος και εκδηλώνεται με χαμηλό ανάστημα και καθυστερημένη για την ηλικία ανάπτυξη (λιγότερο από 3 cm το χρόνο). Αντιθέτως, στους ενήλικες συνήθως εμφανίζεται στα πλαίσια μιας γενικότερης υποφυσιακής ορμονικής ανεπάρκειας, με κυριότερο αίτιο κάποιο αδένωμα της υπόφυσης και/ή την χειρουργική εκτομή και ακτινοθεραπεία. Άλλα αίτια είναι οι όγκοι της υπόφυσης ή του υποθαλάμου, κρανιοφαρυγγιώματα, μεταστάσεις, κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις, σαρκοείδωση, χημειοθεραπεία, σύνδρομο Larop και Seehan.

1.6.2. ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΕΛΛΕΙΨΗΣ ΑΥΞΗΤΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ

Παρατηρείται μείωση της μυϊκής μάζας, μείωση του ολικού σωματικού βάρους, και αύξηση του σωματικού λίπους, κυρίως στα σπλάχνα [2]. Επίσης, οι ασθενείς εμφανίζουν μειωμένη οστική μάζα και αυξημένη προδιάθεση για οστεοπορωτικά κατάγματα. Βρίσκεται συσχέτιση με αρκετούς παράγοντες κινδύνου καρδιαγγειακής νόσου, όπως δυσλειτουργία του ενδοθηλίου, δυσλιπιδαιμία και ινσουλινοαντίσταση [77]. Ακόμη, αναφέρονται μειωμένη μάζα της αριστεράς κοιλίας, ελαττωματική συστολική λειτουργικότητα και απόκριση στη μέγιστη άσκηση [78]. Ψυχολογικές παράμετροι συνυπάρχουν στο σύνδρομο, όπως καταθλιπτική διάθεση, άγχος, έλλειψη ενέργειας και κοινωνική απομόνωση.

1.6.3. ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Στα παιδιά, η διάγνωση είναι εύκολη λόγω της εμφανούς καθυστέρησης στη σωματική ανάπτυξη. Αντιθέτως, στους ενήλικες αποτελεί



πρόκληση, καθώς κανένα από τα συμπτώματα δεν είναι παθογνωμικό. Η δοκιμασία εκλογής για την επιβεβαίωση της διάγνωσης είναι το τεστ ανοχής ινσουλίνης, με την εύρεση μέγιστης απάντησης της ΑΟ μικρότερης από 3 μg/l [79].

1.6.4. ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η χορήγηση ΑΟ προσφέρει ευεργετικά αποτελέσματα στο συνολικό μεταβολισμό, στο μεταβολισμό των οστών, στους καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου, στη μάζα της αριστεράς κοιλίας, στον όγκο παλμού και στην ποιότητα ζωής των ασθενών [78, 80]. Παρά τις δράσεις αυτές, δεν υπάρχουν έως σήμερα στοιχεία που να αποδεικνύουν τη θετική επίδραση της χορήγησης ΑΟ στη θνησιμότητα.

1.7. ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΑΥΞΗΤΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ

Με την τεχνολογία του ανασυνδυσασμένου DNA έχουν παραχθεί και χρησιμοποιούνται δύο μόρια ανθρώπινης αυξητικής ορμόνης.

Ενδείξεις: ανεπάρκεια ΑΟ (ενήλικες και παιδιά), παιδιά με ανοιχτές επιφύσεις και καθυστερημένη σωματική ανάπτυξη (χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, σ.Turner), καχεξία του σ.AIDS, υπερπαραγωγή γάλακτος (βοοειδή, βόειος ΑΟ).

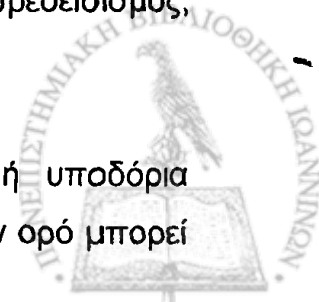
Αντενδείξεις: ενεργό νεόπλασμα, ενδοκρανιακοί όγκοι, σε περίπτωση χαμηλού αναστήματος και κλειστών επιφύσεων.

Ανεπιθύμητες ενέργειες: ερυθρότητα, κνησμός ή λιποατροφία στο σημείο της ένεσης, πρόσκαιρη και δόσο-εξαρτώμενη κατακράτηση υγρών και περιφερικό οίδημα, κεφαλαλγία, αρθραλγία, μυαλγίες, σπάνια καλοήθης ενδοκράνια υπέρταση. Παρά τη διαβητογόνο δράση της, οξεία χορήγηση υψηλών δόσεων έχει συνδεθεί με υπογλυκαιμία. Καρκινογένεση (υπό αμφισβήτηση).

Προσοχή στη χορήγηση: Σακχαρώδης διαβήτης, υποθυρεοειδισμός, καταβολικές καταστάσεις.

Τρόπος χορήγησης: ενδομυϊκώς, υποδορίως.

Φαρμακοκινητική: η βιοδιαθεσιμότητα μετά από ενδομυϊκή ή υποδόρια χορήγηση είναι μεταξύ 60 και 80%. Η μέγιστη συγκέντρωση στον ορό μπορεί



να μην επιτευχθεί για πολλές ώρες. Ο χρόνος ημιζωής μετά από ενδοφλέβια έγχυση είναι 20 με 30 λεπτά, αλλά μετά από ενδομυϊκή ή υποδόρια ένεση 3 με 5 ώρες. Μεταβολίζεται στο ήπαρ και τους νεφρούς, ενώ απεκκρίνεται στη χολή.

Δοσολογία: σε παιδιά με ανεπάρκεια ΑΟ: 25-35 $\mu\text{g}/\text{kg}$ sc. Σ. Turner και χρόνια νεφρική ανεπάρκεια: 45-50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ sc. Ενήλικες με έλλειψη, αρχικά 6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ sc κάθε μέρα. Στη συνέχεια μέχρι και 12 $\mu\text{g}/\text{kg}$ sc (25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ sc σε ασθενείς μέχρι και 35 ετών). Σε καχεξία του σ.ΑIDS 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ sc πριν τον ύπνο [81, 82].

1.8. ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΤΗΣ ΑΥΞΗΤΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ ΥΠΟ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ

- Αναστροφή της διαδικασίας της γήρανσης σε ηλικιωμένα άτομα.
- Απώλεια βάρους στην παχυσαρκία.
- Ινομυαλγία.
- Νόσος του Crohn και ελκώδης κολίτιδα.
- Ιδιοπαθούς αιτιολογίας χαμηλό ανάστημα.
- Αθλητές.

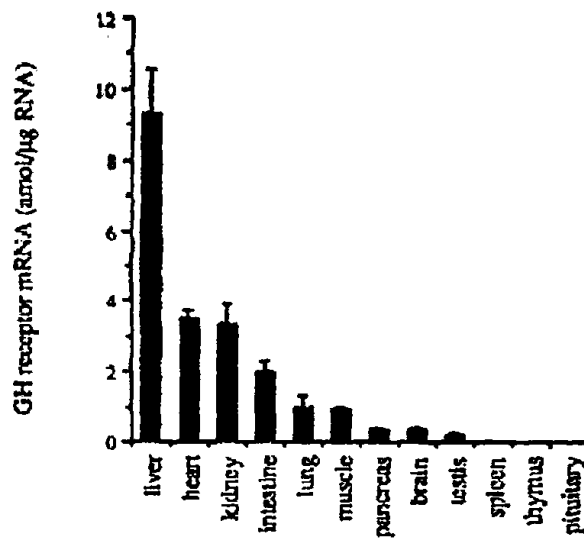


ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο

ΑΥΞΗΤΙΚΗ ΟΡΜΟΝΗ ΚΑΙ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

2.1. ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ

Το γονίδιο του υποδοχέα της αυξητικής ορμόνης εκφράζεται στο μυοκάρδιο σε μεγαλύτερο βαθμό από πολλούς άλλους ιστούς (Εικ.6) [83], και η χορήγηση ΑΟ σε επίμυες χωρίς υπόφυση αυξάνει το περιεχόμενο της καρδιάς σε IGF-I [84] και προκαλεί την έκφραση mRNA για τον IGF-I [85]. Επιπλέον, μυοκαρδιακά κύτταρα από επίμυες εκφράζουν υποδοχείς του IGF-I [86, 87] και ο IGF-I αυξάνει το μέγεθος μυοκαρδιακών κυττάρων σε καλλιέργειες [88]. Έτσι, οι απαραίτητες προϋποθέσεις για τον αυτοκρινή-παρακρινή έλεγχο του IGF-I από την ΑΟ στην καρδιά είναι παρούσες.



Εικ.6 Κατανομή του mRNA του υποδοχέα της αυξητικής ορμόνης στους διάφορους ιστούς επίμυος.



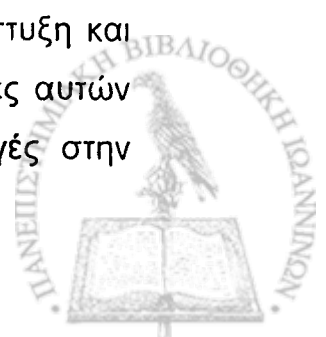
Ο IGF-I είναι ο κυρίαρχος, αλλά όχι ο μοναδικός διαμεσολαβητής των δράσεων της ΑΟ στην καρδιά. Η ΑΟ διεγείρει την παραγωγή του πρωτοογκογονιδίου c-myc σε πολλούς ιστούς [89] και του αιμοπεταλιακού αυξητικού παράγοντα στην καρδιά. Ο ρόλος αυτών και άλλων αυξητικών παραγόντων στην αύξηση του μυοκαρδιακού ιστού είναι ακόμη άγνωστος και αποτελεί αντικείμενο σύγχρονων ερευνών.

2.2. ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΣΥΣΠΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ

2.2.1. ΙΣΟΜΟΡΦΕΣ ΜΥΟΣΙΝΗΣ

Ενδογενής συσπαστικότητα του μυοκαρδίου ορίζεται η ικανότητα της μυοκαρδιακής ίνας να αναπτύσσει δύναμη ανεξαρτήτως από άλλες παραμέτρους (π.χ. συνθήκες φόρτισης). Μια από τις πιο σημαντικές παραμέτρους της ενδογενούς συσπαστικότητας είναι η «μέγιστη ταχύτητα βράχυνσης» (V_{max}), καθώς έχει δειχθεί ότι σχετίζεται με τη φύση της μυοσίνης των μυοϊνιδίων [90]. Σε διάφορους σκελετικούς και καρδιακούς μύες, έχουν διαπιστωθεί θετικές γραμμικές συσχετίσεις μεταξύ της ικανότητας της μυοσίνης να καταλύει την υδρόλυση της τριφωσφορικής αδενοσίνης (την αντίδραση δηλαδή που παρέχει την απαραίτητη για τη σύσπασση ενέργεια) και της V_{max} των αντιστοιχών μυών [91, 92].

Η μυοσίνη αποτελείται από ένα ζεύγος βαρέων αλύσεων, οι οποίες περιέχουν μια ενζυματική περιοχή, και από δύο ζεύγη ελαφρών αλύσεων, ο φυσιολογικός ρόλος των οποίων δεν είναι ακόμη αποσαφηνισμένος στο μυοκάρδιο [90]. Στο μυοκάρδιο των θηλαστικών, δύο είδη βαρέων αλύσεων (α και β) κωδικοποιούνται από διαφορετικά γονίδια [93]. Συνδυαζόμενες μεταξύ τους δημιουργούν τρεις ισο-μυοσίνες: δύο ομοδιμερή, $V1$ (α, α) και $V3$ (β, β) με υψηλή και χαμηλή δραστηριότητα ΑΤΡάσης αντίστοιχα, και ένα ετεροδιμερές $V2$ (α, β) με ενδιάμεση δραστηριότητα [94, 95]. Σε διάφορες φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις, όπως η σωματική ανάπτυξη και ορμονικές ή χρόνιες αιμοδυναμικές μεταβολές, οι σχετικές αναλογίες αυτών των ισομυοσινών μεταβάλλονται παράλληλα με αντίστοιχες αλλαγές στην έκφραση των υπεύθυνων για αυτές γονιδίων [96, 97].



2.2.2. ΑΥΞΗΤΙΚΗ ΟΡΜΟΝΗ ΚΑΙ ΣΥΣΠΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΜΥΟΚΑΡΔΙΑΚΩΝ ΙΝΩΝ

Το μοντέλο της περίσσειας ΑΟ σε επίμυες εξαιτίας ενός τεχνητού όγκου που εκκρίνει ΑΟ προσφέρει σημαντικά πλεονεκτήματα στη μελέτη της επίδρασης της ΑΟ στην ενδογενή συσπαστικότητα του μυοκαρδίου [66]. Μελέτες με το προηγούμενο μοντέλο (όγκος που παράγει ΑΟ σε επίμυες), έχουν δείξει ότι η περίσσεια ΑΟ προκαλεί βελτιωμένη συσπαστική ικανότητα και σημαντική αύξηση στην ευαισθησία των πρωτεϊνών σύσπασης στο ασβέστιο [98, 99]. Ακόμη, τα υψηλά επίπεδα ΑΟ προκαλούν παράταση του δυναμικού ενεργείας [100], η οποία με τη σειρά της μπορεί να διευκολύνει την είσοδο ασβεστίου μέσω των διαύλων ασβεστίου, μηχανισμός ο οποίος εν μέρει εξηγεί και την παρατηρούμενη αυξημένη συσπαστικότητα (Πιν.6).

Πιν.6 Σύγκριση των χαρακτηριστικών της κυτταρικής μεμβράνης και των δυναμικών ενεργείας μυοκαρδιακών κυττάρων από τη δεξιά κοιλία επιμύων φυσιολογικών και με όγκο που παράγει αυξητική ορμόνη.

	N	C_{cell} , pF	R_{in} , mΩ	RMP, mV	AMP, mV	APD ₂₅ , ms	APD ₅₀ , ms	APD ₇₅ , ms
Control	14	130±43	66±35	73±3	98±6	3.3±0.8	6.6±1.5	13.1±3.6
Όγκος	10	212±69*	44±27	72±2	102±9	12±8*	23±14*	39±23*

C_{cell} , cell capacitance. R_{in} , input resistance at resting membrane potential (RMP). AMP, amplitude of action potential. APD₂₅, APD₅₀ και APD₇₅, action potential duration at 25, 50, and 75 % of repolarization.

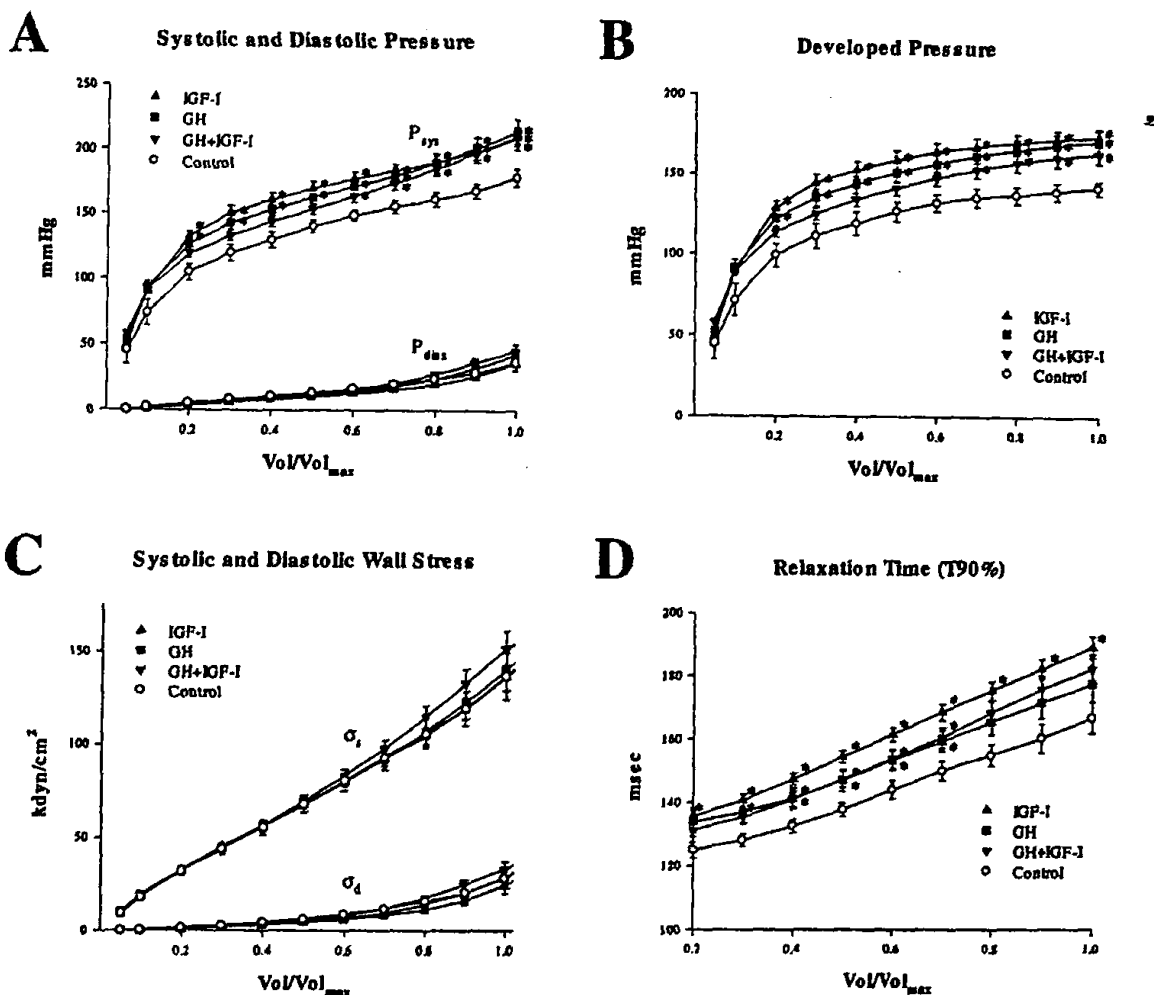
* $P < 0.01$ σε σχέση με τα Control.



Με τη χρήση του ίδιου πάλι μοντέλου, έχει διαπιστωθεί ότι το πλεόνασμα ΑΟ επιδρά στον φαινότυπο των καρδιακών πρωτεϊνών σύσπασης. Μερικές από αυτές βρίσκονται σε πολλαπλές ισομορφές, οι οποίες ενδέχεται να υποστούν αλλαγές κατά την εξωμήτριο ανάπτυξη και σε αντίδραση σε εξωτερικά ερεθίσματα. Η εξειδικευμένη δράση της περίσσειας ΑΟ έγκειται στο ότι προκαλεί μια μετατροπή του φαινότυπου της μυοσίνης στην ισομορφή V3, η οποία εμφανίζει χαμηλή δραστηριότητα ΑΤΡάσης [98, 99]. Έτσι, προκαλείται ένα μοναδικό πρότυπο μυοκαρδιακής απάντησης, με ταυτόχρονη βελτίωση τόσο στη δύναμη, όσο και στην οικονομία της σύσπασης [98]. Με άλλα λόγια, **το μυοκάρδιο λειτουργεί με χαμηλότερο ενεργειακό κόστος**. Αυτό έρχεται σε αντίθεση με άλλες μορφές καρδιακής υπερτροφίας, όπως παράδειγμα αυτή που συμβαίνει σε καταστάσεις αυξημένου μεταφορτίου, όπου συμβαίνει φαινο-μετατροπή σε V3 ισομορφή, αλλά συνδυάζεται με ελαττωμένη συσπαστικότητα [101, 102].

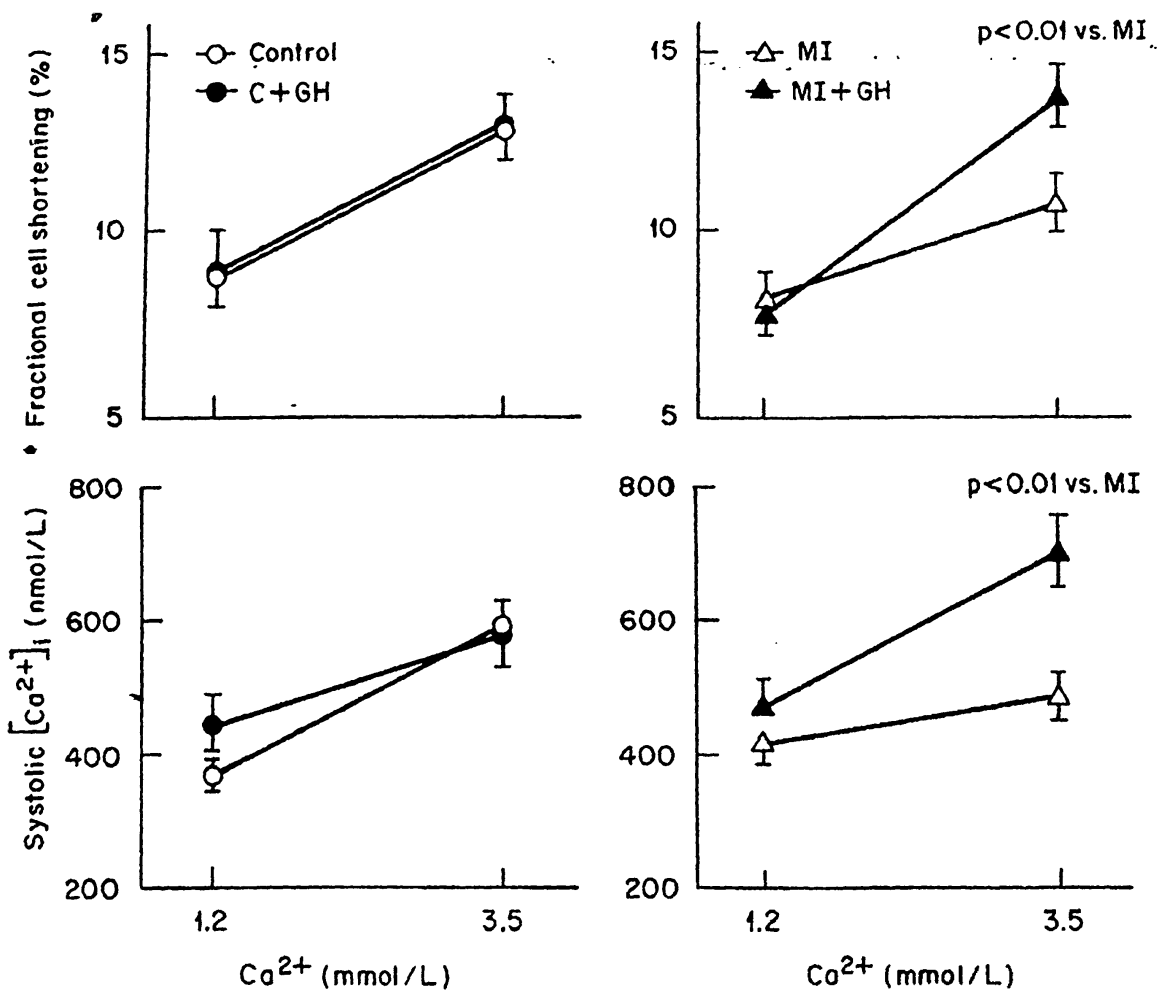
Σε ένα άλλο μοντέλο, όπου χρησιμοποιήθηκαν επίμυες στους οποίους χορηγήθηκε ΑΟ, IGF-I ή και τα δύο για τέσσερις εβδομάδες, διαπιστώθηκε επίσης αυξημένη συσπαστικότητα [103] (Εικ.7), χωρίς όμως εμφανείς διαφορές στην ευαισθησία της μυοκαρδιακής ίνας στη συγκέντρωση ασβεστίου. Ακόμη, η χορήγηση ΑΟ για 2 εβδομάδες σε επίμυες με έμφραγμα του μυοκαρδίου, αποκατέστησε τη συσπαστικότητα του μυοκαρδίου, εμφανίζοντας αυξημένη βράχυνση της μυοκαρδιακής ίνας σε απάντηση προς την αυξανόμενη συγκέντρωση ασβεστίου, καθώς και αυξημένη ενδοκυττάρια συγκέντρωση ασβεστίου (Εικ.8) [104]. Και στα δύο παραπάνω μοντέλα οι μετρήσεις έγιναν σε απομονωμένη καρδιά *in vitro*.





Εικ.7 Επίδραση της χορήγησης ΑΟ ή /και IGF-I για 4 βδομάδες σε επίμυες, στη συσπαστικότητα της αριστεράς κοιλίας.

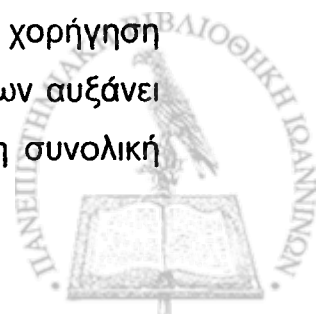




Εικ.8 Σχέση μεταξύ συγκέντρωσης ασβεστίου του διηθήματος και κλασματικής βράχυνσης του κυττάρου (πάνω), και σχέση μεταξύ της παραπάνω συγκέντρωσης και μέγιστης ενδοκυττάριας συγκέντρωσης ασβεστίου σε μυοκύτταρα από επίμυες χωρίς (Control) και με έμφραγμα του μυοκαρδίου (MI), χωρίς ή υπό (GH) αγωγή με ΑΟ.

2.2.3. IGF-1 ΚΑΙ ΣΥΣΠΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ ΜΥΟΚΑΡΔΙΑΚΩΝ ΙΝΩΝ

Παρομοίως, ποντίκια τα οποία υπερεκφράζουν IGF-1 παρουσιάζουν και αυτά αυξημένη ταχύτητα βράχυνσης της μυοκαρδιακής ίνας ως μέτρο της συσπαστικότητας της αριστεράς κοιλίας [105], ενώ η οξεία in vitro χορήγηση IGF-1 σε ολόκληρη την καρδιά ή σε θηλοειδείς μύες πειραματόζων αυξάνει την ευαισθησία των μυοκαρδιακών κυττάρων στο ασβέστιο και τη συνολική συσπαστικότητά τους [106].

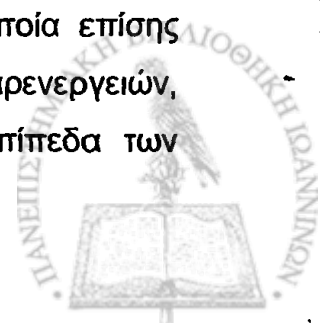


Πιν.7 Υπερηχοκαρδιογραφικές μετρήσεις από την καρδιά οχτώ υγιών εθελοντών, δύο με τέσσερις ώρες μετά τη χορήγηση φυσιολογικού ορού (control) ή IGF-I (60 µg/kg).

	Control	IGF-I	P value
ΜΚΔ (cm)	1.1 ± 0.05	1.0 ± 0.05	NS
Οπίσθιο τοίχωμα (cm)	1.0 ± 0.04	1.0 ± 0.04	NS
EDV (ml)	135.8 ± 11.27	128.9 ± 11.67	NS
Κλάσμα εξώθησης (%)	62.5 ± 2.0	68.1 ± 1.7	<0.05
Όγκος παλμού (ml)	80.1 ± 6.4	90.9 ± 6.6	<0.03
ΚΛΟΑ. (L/min)	5.7 ± 0.48	6.7 ± 0.53	<0.04
E /A	1.8 ± 0.14	1.5 ± 0.10	NS
IVRT (ms)	73.8 ± 4.40	70.4 ± 2.48	NS

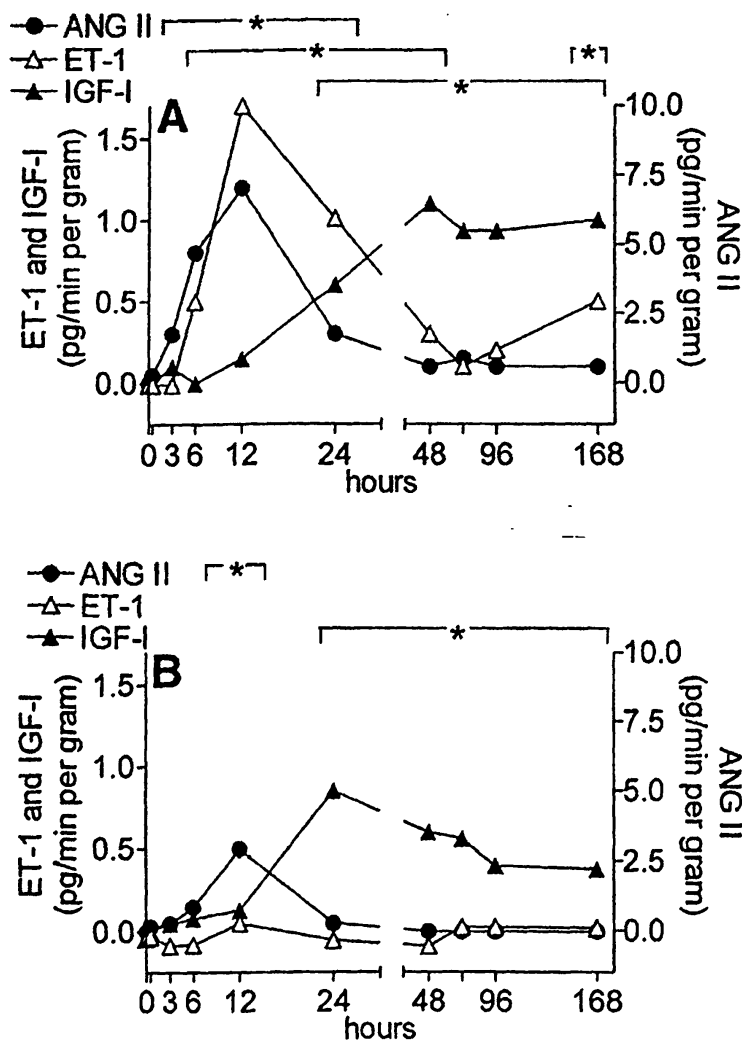
EDV, end-diastolic internal chamber volume; E/A, ratio of peak early diastolic filling velocity/ peak filling velocity at atrial contraction); IVRT, isovolumetric relaxation time, ΚΛΟΑ, κατά λεπτό όγκος αίματος. ΜΚΔ, μεσοκοιλιακό διάφραγμα.

Η θετική επίδραση του IGF-I στην ικανότητα σύσπασης του μυοκαρδίου έχει διαπιστωθεί και στον άνθρωπο. Η υποδόρια χορήγηση 60 µg/kg IGF-I σε μία μόνο δόση σε οχτώ υγιείς εθελοντές είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του κλάσματος εξώθησης και του όγκου παλμού, χωρίς να μεταβληθούν η συστηματική αρτηριακή πίεση ή η καρδιακή συχνότητα [107] (Πιν.7). Οι παραπάνω εθελοντές διερευνήθηκαν και κατά τη διάρκεια σωματικής ασκήσεως, για την ανάδειξη πιθανών παρενεργειών, χωρίς όμως να αναφερθούν ανωμαλίες τόσο στο ηλεκτροκαρδιογράφημα, όσο και από τους εθελοντές με τη μορφή συμπτωμάτων. Παρόμοια αποτελέσματα διαπιστώθηκαν και με τη μικρότερη δόση των 20 µg/kg, η οποία επίσης αποδείχθηκε ασφαλής από πλευρά καρδιαγγειακών παρενεργειών, διατηρώντας σταθερή την αρτηριακή πίεση, καθώς και τα επίπεδα των κυκλοφορικών κατεχολαμινών [108].



2.3. ΥΠΕΡΤΡΟΦΙΑ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ

Η επίδραση της αυξητικής ορμόνης και του IGF-I στις διαστάσεις της μυοκαρδιακής ίνας, ή /και το πάχος των καρδιακών κοιλοτήτων έχει αποτελέσει αντικείμενο αρκετών μελετών. Καταρχήν, ο IGF-I αποτελεί έναν



Εικ.9 Καρδιακό περιεχόμενο σε αγγειοτενσίνη 2 (ANG II), ενδοθηλίνη-1 (ET-1) και IGF-I σε χοίρους με περίδεση της αορτής (A) και αορτο-φλεβική αναστόμωση (B).

* $P < 0.05$ σε σχέση με το χρόνο μηδέν και τα ζώα που δεν χειρουργήθηκαν.



από τους καρδιακούς αυξητικούς παράγοντες που κινητοποιούνται στα πρώτα στάδια διαφόρων παθολογικών καταστάσεων που οδηγούν σε υπερτροφία του μυοκαρδίου. Έχει διαπιστωθεί ότι σε καταστάσεις είτε αυξημένου όγκου (όπως η δημιουργία αορτο-φλεβικής επικοινωνίας), είτε αυξημένης πίεσης (όπως η περίδεση της αορτής), το καρδιακό περιεχόμενο σε IGF-I, καθώς και το υπεύθυνο για αυτόν mRNA αυξάνονται από πολύ νωρίς, τόσο σε πειραματόζωα [109-111], όσο και στον άνθρωπο [112] (Εικ.9).

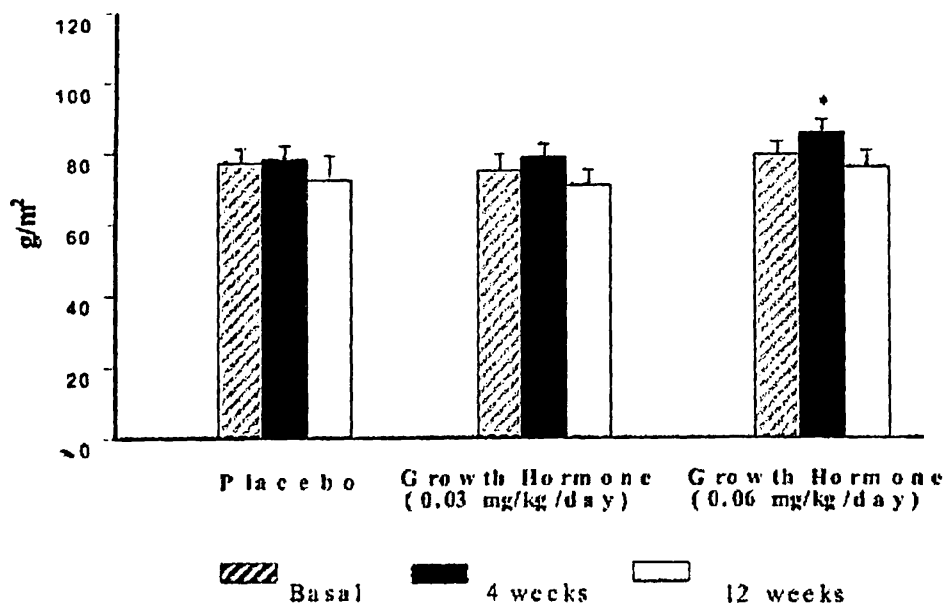
Έχει αποδειχθεί επίσης, ότι η προσθήκη είτε αυξητικής ορμόνης [113], είτε IGF-I [88] [114] σε καλλιέργειες μυοκαρδιακών κυττάρων προκαλεί σημαντική αύξηση του μεγέθους τους, και μάλιστα, η δράση της αυξητικής ορμόνης ενδέχεται να είναι ανεξάρτητη από αυτή του IGF-I [113]. Η υπερτροφική επίδραση του IGF-I σε καλλιέργειες ώριμων μυοκαρδιακών κυττάρων επιμύων φαίνεται ότι εξαρτάται από τον τύπου L δίαυλο ασβεστίου, ενώ αναστέλλεται από την IGFBP-3 [115].

Σε πειραματόζωα, η χορήγηση είτε αυξητικής ορμόνης, είτε IGF-I, είτε συνδυασμού των δύο προκάλεσε σημαντική καρδιακή υπερτροφία. Το αποτέλεσμα ήταν ορατό μετά από δύο εβδομάδες θεραπείας σε ποντίκια [116], και μετά από τέσσερις εβδομάδες σε επίμυες, με μετρήσεις που έγιναν με ιστοπαθολογικές [103] ή υπερηχογραφικές [117] μεθόδους.

Υπερηχογραφικές επίσης μελέτες έχουν αναδείξει ανάλογη επίδραση της αυξητικής ορμόνης και στον άνθρωπο. Σε ασθενείς με έλλειψη ΑΟ, οι οποίοι χαρακτηρίζονται από μειωμένη μάζα αριστεράς κοιλίας και καρδιακές επιδόσεις, η χορήγηση υποδορίως 0.5 μονάδων ανά κιλό ανά εβδομάδα ΑΟ για έξι μήνες είχε ως αποτέλεσμα τη σημαντική αύξηση της μυοκαρδιακής μάζας, του όγκου παλμού, της μέγιστης ικανότητας κόπωσης και του κατά λεπτό όγκου αίματος [118]. Επιπλέον, σε υγιείς νέους εθελοντές, η χορήγηση υποδορίως πολύ υψηλών δόσεων αυξητικής ορμόνης (0.06 mg/kg·24h, παραπλήσιων με αυτές που χρησιμοποιούν για βελτίωση των επιδόσεών τους οι αθλητές [119]) για τέσσερις εβδομάδες, προκάλεσε τη σημαντική αύξηση της μυοκαρδιακής μάζας και του καρδιακού δείκτη, ενώ παράλληλα μείωσε την περιφερική αγγειακή αντίσταση (υπολογιζόμενη ως εξής: μέση αορτική πίεση / κατά λεπτό όγκος αίματος X 80) [120] (Εικ.10).



LV mass index

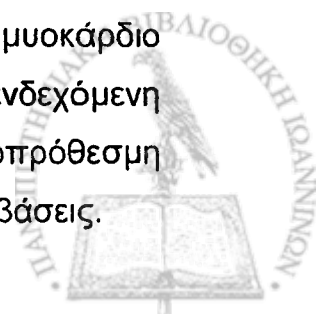


* $p < 0.05$ vs baseline

Εικ.10 Μεταβολές στη μάζα της αριστεράς κοιλίας υγιών εθελοντών, μετά από τη χορήγηση υψηλών δόσεων ΑΟ για 4 εβδομάδες και την ακόλουθο διακοπή της.

2.4. ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ

Λαμβάνοντας υπόψη τις θετικές επιδράσεις της αυξητικής ορμόνης και του ινσουλινομορφου παράγοντα-1 στη συσπαστικότητα των μυοκαρδιακών κυττάρων, αλλά και την προκαλούμενη από αυτούς υπερτροφία του μυοκαρδίου, λογική φαίνεται η χρησιμοποίηση των ουσιών αυτών στην καρδιακή ανεπάρκεια. Στις συνθήκες αυτές, όπου το ανεπαρκές μυοκάρδιο αδυνατεί να λειτουργήσει ικανοποιητικά σαν αντλία, η ενδεχόμενη βραχυπρόθεσμη αύξηση της δύναμης της συστολής και η μακροπρόθεσμη πρόκληση υπερτροφίας του μυοκαρδίου φαντάζουν ιδανικές παρεμβάσεις.



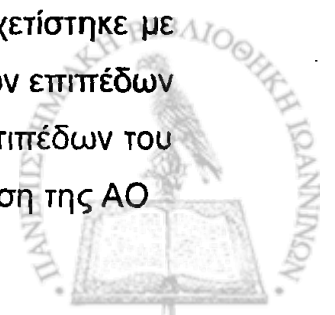
2.4.1. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΕΛΛΕΙΨΗ ΑΥΞΗΤΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ

Η σχέση μεταξύ άξονα ΑΟ / IGF-I και καρδιακής ανεπάρκειας αποτελεί αντικείμενο εντατικής έρευνας τα τελευταία χρόνια. Καταρχήν, η χορήγηση αυξητικής ορμόνης σε ενήλικες με ανεπάρκεια ΑΟ συνοδεύεται από αύξηση στη μάζα της αριστεράς κοιλίας [121, 122], βελτίωση της λειτουργικότητας αυτής [123], μείωση της διαστολικής αρτηριακής πίεσης [123] και άνοδο της μέγιστης ικανότητας για κόπωση [124, 125]. Πρόσθετα πλεονεκτήματα από τη θεραπεία υποκατάστασης με ΑΟ είναι η ανάπτυξη ενός ευνοϊκού λιπιδαιμικού προφίλ [126, 127] και μια γενικότερη αίσθηση ευεξίας [128]. Ακόμη, οι περιφερικές αγγειοδιασταλτικές ιδιότητες της αυξητικής ορμόνης, μέσω της αυξημένης παραγωγής ΝΟ, μπορεί να συνεισφέρουν στην βελτιωμένη καρδιακή λειτουργικότητα που επιτυγχάνεται [118].

2.4.2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ

Οι αρχικές μελέτες που διερεύνησαν την επίδραση της πρώιμης χορήγησης ΑΟ στην αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου (ΕΜ) σε επίμυες ανέφεραν μείωση των κοιλιακών ανευρυσμάτων 25 ημέρες μετά το ΕΜ [129] (Πιν.8). Η θετική αυτή επίδραση αποδόθηκε στη διατήρηση του δικτύου κολλαγόνου. Μετέπειτα μελέτες επιβεβαίωσαν την ευοδωτική επίδραση της πρώιμης χορήγησης ΑΟ στην λειτουργικότητα και αντιδραστική υπερτροφία της αριστεράς κοιλίας, μετά από περίδεση της αριστεράς στεφανιαίας αρτηρίας (ΠΑΣΑ) σε επίμυες [130, 131] ή ταχείας βηματοδότησης σε χοίρους [132].

Σε ένα διαφορετικό πειραματικό μοντέλο με μεγαλύτερο αριθμό πειραματοζώων, η χορήγηση ανασυνδυσασμένης βόειου αυξητικής ορμόνης προκάλεσε μια δοσοεξαρτώμενη καρδιακή υπερτροφία μετά από ΕΜ, η οποία σχετιζόταν με αυξημένα επίπεδα καρδιακού IGF-I [133]. Αντιθέτως, η πρώιμη θεραπεία με ΑΟ ξεκινώντας τρεις ημέρες μετά το ΕΜ, βελτίωσε την αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας χωρίς να προκαλέσει υπερτροφία στους επίμυες που είχαν υποστεί μεγάλο ΕΜ, δράση η οποία σχετίστηκε με βελτίωση της ενεργειακής κατάστασης του μυοκαρδίου, μείωση των επιπέδων των κατεχολαμινών του μυοκαρδίου και του πλάσματος και των επιπέδων του εγκεφαλικού νατριουρητικού πεπτιδίου [134]. Ακόμη, η υπερέκφραση της ΑΟ



Πιν.8(α) Μελέτες της αυξητικής ορμόνης και/ή του IGF-I στην πειραματική καρδιακή ανεπάρκεια [135].

Συγγραφέας, χρονολογία	Είδος	Μοντέλο	Ουσία	Δόση, διάρκεια, έναρξη θεραπείας	Κύρια αποτελέσματα
Πρώμη χορήγηση αυξητικής ορμόνης					
Castagnino 1990 [129]	SD επίμυες	ΠΑΣΑ*	rhGH	0.5 U (0.17 mg)** /kg/μέρα X 3 μέρες, την ημέρα του EM	Μείωση των κοιλιακών ανευρυσμάτων 25 μέρες μετά το έμφραγμα
Bollano 2001 [136]	SD επίμυες	ΠΑΣΑ	rhGH	2 mg/kg/μέρα X 9 ημέρες, 3 μέρες μετά	Καμία μεταβολή στα ανευρύσματα
Cittadini 1997 [130]	SD επίμυες	ΠΑΣΑ	rhGH	3 mg/kg/μέρα (2 ενέσεις) X 3 βδομάδες, 1 ημέρα μετά το EM	Υπερτροφία μυοκαρδιακών κυττάρων
Grimm 1998 [131]	Wistar επίμυες	ΠΑΣΑ	rhGH	2 U (0.67 mg/kg/μέρα X 4 βδομάδες μετά το EM	Βελτιωμένη καρδιακή λειτουργία και καλλίτερο remodelling
Matthews 2004 [133]	Πρόβατα	ΠΑΣΑ	rbGH	0.3-1 mg/kg/μέρα X 30 μέρες, μετά το EM	Υπερτροφία μυοκαρδιακών κυττάρων
Omerovic 2000 [134]	SD επίμυες	ΠΑΣΑ	rhGH	3 mg/kg/μέρα X 3 βδομάδες, 3 μέρες μετά	Καλύτερη ενεργειακή κατάσταση του μυοκαρδίου και καλλίτερο remodelling
Shen 1996 [137]	SD (θηλυκά)	Άμεσο μυοκαρδιακό τραύμα και ΠΑΣΑ	rhGH	3.2 mg/kg/μέρα X 4 μέρες, αμέσως μετά το EM	Κανένα ευεργετικό αποτέλεσμα
Pagel 2002 [138]	Wistar επίμυες	Ενδονορρική αορτοφλεβική επικοινωνία	rhGH	2 mg/kg/μέρα X 4 βδομάδες, 1 μέρα μετά το EM	Καμία βελτίωση της καρδιακής βελτίωση της νεφρικής λειτουργίας

* Συντηρήσεις: SD_ Sprague Dawley, rh/rb/rhr/rp GH_ ανασυνδυασμένη ανθρώπινη/ βόειος/ χοίρειος αυξητική ορμόνη, rhIGF-I_ ανασυνδυασμένος IGF-I, ΚΑΙΟΑ_ κατά λεπτόν όγκος αίματος, SVR_ συστηματική αγγειακή αντίσταση, ΠΑΣΑ_ περίδεση αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας.

Πιν.8(β) Μελέτες της αυξητικής ορμόνης και/ή του IGF-I στην πειραματική καρδιακή ανεπάρκεια [135].

Συγγραφέας, χρονολογία	Είδος	Μοντέλο	Ουσία	Δόση, διάρκεια, έναρξη θεραπείας	Κύρια αποτελέσματα
Πρώιμη χορήγηση IGF-I και/ή αυξητικής ορμόνης					
Duett 1995 [139]	SD επίμνες (θηλυκά)	ΠΑΣΑ	rhIGF-I	3 mg/kg/μέρα X 14 μέρες, 2 μέρες μετά το EM	Κολιακή υπερτροφία
Jin 2002 [140]	SD επίμνες	ΠΑΣΑ	rhIGF-I rhGH	2 mg/kg/μέρα το καθένα X 14 μέρες, 20 λεπτά μετά το EM	Μειωμένο μέγεθος εμφράγματος, βελτιωμένη επιβίωση
Όψιμη χορήγηση αυξητικής ορμόνης και/ή IGF-I					
Yang 1995 [141]	SD επίμνες	ΠΑΣΑ	rhGH	2 mg/kg/μέρα X 15 μέρες, 4 εβδομάδες μετά	Βελτιωμένη λειτουργία, ↓SVR
Tivesten 2001 [142]	SD επίμνες	ΠΑΣΑ	rhGH	1.1 mg/kg/μέρα X 4 εβδομάδες ή, 3 mg/kg/μέρα, 4 εβδομάδες μετά EM	Βελτιωμένη συστολική λειτουργία, ↓SVR
Isgaard 1997 [143]	SD επίμνες	ΠΑΣΑ	rhGH	1 mg/kg/μέρα X 1 εβδομάδα, 6 βδομ. μετά	Βελτιωμένη συστολική λειτουργία
Duett 1996 [144]	SD (θηλυκά)	ΠΑΣΑ	rhGH	0.2 mg/kg/μέρα και 3 mg/kg/μέρα, 4 εβδομάδες μετά	↓SVR, αυξημένος ΚΛΟΑ
Tajima 1999 [104]	SD επίμνες (αρσενικά)	ΠΑΣΑ	rhGH	3.5 mg/kg/μέρα X 14 μέρες, 6 εβδομάδες μετά	Βελτιωμένη συσπαστικότητα
Shen 1998 [145]	Mongrel σκύλοι	Ταχεία βηματοδότηση	rhGH	0.06 mg/kg/μέρα X 4 εβδομάδες, την 7 ^η μέρα της βηματοδότησης	Κανένα ευεργετικό αποτέλεσμα

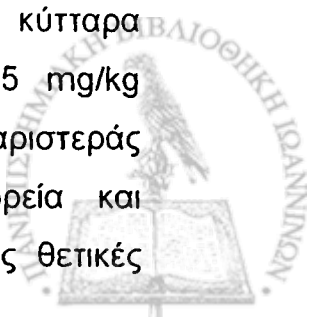
* Συντμήσεις: SD_ Sprague Dawley, rh/b/r/r/r GH_ ανασυνδυασμένη ανθρώπινη/ βόειος/ επίμνος/ χοίρειος αυξητική ορμόνη, rhIGF-I_ ανασυνδυασμένος IGF-I, ΚΛΟΑ_ κατά λεπτόν όγκος αίματος, SVR_ συστηματική αγγειακή αντίσταση, ΠΑΣΑ_ περίεση αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας.

σε επίμυες, κατόπιν ενδοκαρδιακής έγχυσης αδενοϊού που κωδικοποιεί την ΑΟ ταυτόχρονα με την πρόκληση εμφράγματος, είχε θετική επίδραση στη συσπαστικότητα του κοιλιακού μυοκαρδίου, αύξησε το πάχος των κοιλιακών τοιχωμάτων και το μέγεθος των μυοϊνιδίων, ενώ ανέστειλε τη διάταση της αριστεράς κοιλίας και επακόλουθο ΚΑ [146].

Ευνοϊκά αποτελέσματα έχουν επίσης αναφερθεί από την πρώιμη χορήγηση μετά το ΕΜ ΑΟ σε συνδυασμό με IGF-I (Πιν.8).

Τα αποτελέσματα της όψιμης (4 με 6 εβδομάδες μετά την ΠΑΣΑ) χορήγησης ΑΟ ή /και IGF-I στην καρδιακή λειτουργία μετά από ΕΜ έχουν επίσης μελετηθεί (Πιν.8). Χορήγηση 2 mg/kg ημερησίως ΑΟ, ξεκινώντας 4 εβδομάδες μετά την πρόκληση του εμφράγματος απέτρεψε τη μείωση του καρδιακού δείκτη που παρατηρήθηκε στους επίμυες που δεν έλαβαν αγωγή, παρά τα συγκρίσιμα προκληθέντα μεγέθη εμφράγματος [141]. Στο ίδιο πείραμα, οι επίμυες που έλαβαν αγωγή παρουσίασαν ελαττωμένη συστηματική αγγειακή αντίσταση και αυξημένες τιμές dp/dt , παράγοντες οι οποίοι ενδέχεται να επέδρασαν στο τελικό θετικό αποτέλεσμα. Ελαττωμένη συστηματική αγγειακή αντίσταση, πιθανά εξαιτίας αυξημένης παραγωγής NO, παρατηρήθηκε και μετά τη χορήγηση 1.1 mg/kg ΑΟ ή 3 mg/kg IGF-I, για 2 εβδομάδες, ξεκινώντας 4 εβδομάδες μετά την ΠΑΣΑ σε επίμυες [142]. Πρόσθετες μελέτες επιβεβαίωσαν ότι η ΑΟ χορηγούμενη όψιμα μετά το ΕΜ βελτιώνει τη συστολική λειτουργία χωρίς την ταυτόχρονη πρόκληση καρδιακής υπερτροφίας [143].

Συνδυασμένη χορήγηση 3 mg/kg IGF-I ημερησίως και 0.1 mg αυξητικής ορμόνης δις ημερησίως για τέσσερις εβδομάδες μετά την ΠΑΣΑ, αύξησε τον ΚΛΟΑ σε επίμυες, πιθανά εξαιτίας της μαζικής ελάττωσης της συστηματικής αγγειακής αντίστασης [144]. Εντούτοις, δεν παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση του καρδιακού δείκτη με τη συνδυασμένη χορήγηση ΑΟ/IGF-I, παρά μόνο σε επίμυες με μεγαλύτερα εμφράγματα. Η ευεργετική επίδραση της αυξητικής ορμόνης στην κοιλιακή συσπαστικότητα μετεμφραγματικά έχει επιβεβαιωθεί *in vitro*, όπου μυοκαρδιακά κύτταρα απομονωμένα από επίμυες οι οποίοι δέχθηκαν αγωγή με 3.5 mg/kg ημερησίως για 2 εβδομάδες, 4 εβδομάδες μετά την περίδεση της αριστεράς στεφανιαίας αρτηρίας, εμφάνισαν αυξημένη συσπαστική εφεδρεία και ενδοκυττάρια ρεύματα ασβεστίου [104]. Σε αντίθεση με αυτές τις θετικές

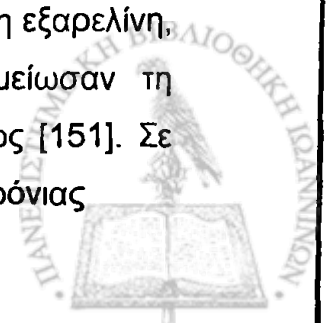


παρατηρήσεις, καμία θετική διαπίστωση δεν βρέθηκε μετά τη χορήγηση όψιμα χοίρειου αυξητικής ορμόνης (0.06 mg/kg για 3 εβδομάδες) σε σκύλους με καρδιακή ανεπάρκεια από υπερβηματοδότηση [145].

Αν και τα αντικρουόμενα αποτελέσματα της πρώιμης και όψιμης χορήγησης ΑΟ στην καρδιαγγειακή λειτουργία στις πειραματικές μελέτες μπορεί να πηγάζουν από τις ετερογενείς αιτίες της καρδιακής ανεπάρκειας, ρόλο φαίνεται να παίζουν και οι διαφορές στη δοσολογία και στη διάρκεια της θεραπείας. Ένας εμφανής περιορισμός των μελετών αυτών είναι η πολύ μικρή διάρκειά τους. Ένας λόγος για αυτό είναι η χρησιμοποίηση ανασυνδυασμένης ανθρώπινης αυξητικής ορμόνης σε επίμυες και η προκαλούμενη παραγωγή αντι-ΑΟ αντισωμάτων. Έτσι, οι μακροπρόθεσμες συνέπειες, είτε θετικές είτε αρνητικές, παραμένουν ουσιαστικά άγνωστες σε αυτά μοντέλα.

2.4.3. ΟΥΣΙΕΣ ΔΙΕΓΓΕΙΡΟΥΣΕΣ ΤΗΝ ΕΚΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΑΥΞΗΤΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ (GROWTH HORMONE SECRETAGOGUES, GHS) ΚΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ

Μια εναλλακτική μέθοδος για να αυξηθούν τα επίπεδα της αυξητικής ορμόνης στο αίμα, πιθανά με πιο φυσιολογικό τρόπο, είναι η χορήγηση των GHS [147], εκ των οποίων η γρελίνη είναι ο ενδογενής αντιπρόσωπος [148]. Η γρελίνη ασκεί τις νευροενδοκρινικές δράσεις της διεγείροντας 7 διαμεμβρανικούς υποδοχείς [148]. Όπως φαίνεται στον Πιν.9, η γρελίνη σε μοντέλο χρόνιας καρδιακής ανεπάρκειας σε επίμυες, βελτίωσε τη λειτουργία της αριστεράς κοιλίας και ανέστειλε την πρόοδο της δυσπροσαρμοστικής καρδιακής αναδιαμόρφωσης και της καρδιακής καχεξίας, στη δόση των 100 μg/kg δύο φορές ημερησίως για 3 εβδομάδες [149]. Αυτή η επίδραση αποδόθηκε τόσο σε ΑΟ/ IGF-I εξαρτώμενη όσο και ΑΟ ανεξάρτητη αγγειοδιαστολή. Σε ένα παρόμοιο πειραματικό μοντέλο, η εξαρελίνη, χορηγούμενη για 14 ημέρες στη δόση των 100 μg/kg ημερησίως, βελτίωσε την καρδιακή λειτουργία μέσω αύξησης του όγκου παλμού και μείωσης της ολικής περιφερικής αντίστασης [150]. Σε επιπλέον μελέτες, η γρελίνη και η εξαρελίνη, σε αντίθεση με το μη-πεπτιδικό MK-0677 GHS ανάλογο, μείωσαν τη μυοκαρδιακή ισχαιμική βλάβη στην απομονωμένη καρδιά επίμυος [151]. Σε σκύλους, στους οποίους έχει προκληθεί μυοκαρδιοπάθεια μέσω χρόνιας



Πιν.9 Μελέτες των GHS στην πειραματική καρδιακή ανεπάρκεια.

Συγγραφέας, χρονολογία	Είδος	Μοντέλο	Ουσία	Δόση, διάρκεια, έναρξη θεραπείας	Κύρια αποτελέσματα
Nagaya, 2001 [149]	Wistar επίμυες	ΠΑΣΑ*	Γρελίνη	100 µg/kg X 3 βδομάδες, 4 βδομάδες μετά	Βελτιωμένη λειτουργία αριστεράς κοιλίας και remodeling
Tivesten, 2000 [150]	SD επίμυες	ΠΑΣΑ	rhGH εξαρελίνη	1.25 mg/kg για 5 ή 50 µg/kg X 14 μέρες, 4 βδομάδες μετά	Βελτιωμένη καρδιακή λειτουργία και μειωμένη ολική περιφερική αντίσταση
Frascarelli, 2003 [151]	Wistar επίμυες	Απομονωμένη λειτουργούσα καρδιά (ισχαιμική βλάβη)	MK-0677, εξαρελίνη, γρελίνη	1 µM, 1 µM (20 λεπτά διήθηση), 20 nM	Καρδιοπροστασία, τύποτα, καρδιοπροστασία
De Gennaro Colonna, 1997 [152]	SD επίμυες	Απομονωμένη λειτουργούσα καρδιά (ισχαιμική βλάβη)	Εξαρελίνη	80 µg/kg, από τη μέρα 25 έως την 40	Καρδιοπροστασία
Shen, 2003 [153]	Σκύλοι	ΠΑΣΑ βηματοδότηση	rhGH, GHRP-6 και βηματοδότηση	0.06 mg/kg ημερησίως, 0.2 mg/kg ημερησίως X 3 βδομάδες, 7 μέρες μετά τη βηματοδότηση	Τύποτα, βελτιωμένη καρδιακή λειτουργία

* Σημειώσεις: SD_ Sprague Dawley, rh/rb/hr GH_ ανασυνδυασμένη ανθρώπινη/ βόειος/ χοίρειος αυξητική ορμόνη, ΠΑΣΑ_ περρίδση αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας, GHS_ growth hormone secretagogue

βηματοδότησης, και οι οποίοι υπόκεινται σε οξεία ισχαιμία με προσωρινή απόφραξη στεφανιαίας αρτηρίας, το πεπτιδίο απελευθέρωσης αυξητικής ορμόνης GHRP-6, στη δόση των 0.2 mg/kg για 3 βδομάδες, βελτίωσε το δείκτη επιβίωσης, χωρίς να επηρεάσει –σε αντίθεση με την αυξητική ορμόνη– τις αιμοδυναμικές παραμέτρους, υποδεικνύοντας ότι αυτή η δράση πραγματοποιείται μέσω των υποδοχέων των GHS, παρά μέσω του άξονα της ΑΟ [153].

Συμπερασματικά, οι GHS ασκούν ευεργετική επίδραση στην καρδιαγγειακή λειτουργία σε πειραματικά μοντέλα ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και καρδιακής ανεπάρκειας. Οι υπεύθυνοι μηχανισμοί είναι τουλάχιστον εν μέρει ανεξάρτητοι από την αύξηση της στάθμης της αυξητικής ορμόνης.

2.4.4. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ

Η θετική ινότροπος δράση του IGF-I στο ανθρώπινο μυοκάρδιο έχει διαπιστωθεί *in vitro*. Η προσθήκη IGF-I σε απομονωμένα μυοκαρδιακά κύτταρα προερχόμενα από καρδιές ασθενών με καρδιακή ανεπάρκεια τελικού σταδίου, και οι οποίοι υπεβλήθησαν σε μεταμόσχευση, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της συσπαστικότητάς των μυοκαρδιακών ινών, μέσω αύξησης του ενδοκυττάριου και σαρκοπλασματικού ασβεστίου,“ διεγείροντας τους διαύλους Ca^{2+} τύπου L [154]. Εντούτοις, η εν λόγω αύξηση ήταν σημαντικά μικρότερη σε σχέση με την παρατηρούμενη μετά από προσθήκη ισοπροτενερόλης και επίτευξης ανάλογης ινότροπης απάντησης, γεγονός το οποίο σχετίζεται με την ανεξάρτητη από το cAMP δράση του IGF-I [154].

Κλινικές μελέτες σε ασθενείς με ανεπάρκεια αυξητικής ορμόνης, έδειξαν ότι ασθενείς με είτε ισχαιμική είτε μη-ισχαιμική μυοκαρδιοπάθεια μπορεί να ωφεληθούν από θεραπεία με αυξητική ορμόνη, κυρίως λόγω ανάσχεσης της δυσπροσαρμοστικής αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας και της απώλειας μυοκαρδιακών κυττάρων [155]. Εντούτοις, κλινικές έρευνες σε ασθενείς με διαφορετικής αιτιολογίας καρδιακή ανεπάρκεια οδήγησαν σε αντικρουόμενα συμπεράσματα. Στις μη ισχαιμικές μορφές καρδιακής ανεπάρκειας, όπως η ιδιοπαθής διατατική μυοκαρδιοπάθεια, παρατηρείται σφαιρική παρά εντοπισμένη δυσλειτουργία του κοιλιακού μυοκαρδίου [156]. Οι έρευνες που μελετούν την επίδραση της αυξητικής ορμόνης ή των GHS στην καρδιακή ανεπάρκεια συνοψίζονται στον Πίνακα 10. Η πρώτη μη

Πιν.10(α) Αυξητική ορμόνη και GHS σε ασθενείς με ΚΑ διαφόρων αιτιών.

Συγγραφέας, χρονολογία	Αιτιολογία	Μελέτη, αριθμός ασθενών	Ουσία	Δόση, διάρκεια χορήγησης	Κύρια αποτελέσματα
Θεραπεία με αυξητική ορμόνη					
Fazio, 1996 [158]	ΔΜ	Μη τυχαιοποιημένη, χωρίς control, 7	rhGH	0.15 με 0.2 U/kg/βδομάδα X 3 μήνες	Μειωμένες διαστάσεις LV, βελτιωμένη αιμοδυναμική και κλινική κατάσταση
Osterziel, 1998 [159]	ΔΜ	Τυχαιοποιημένη, placebo-controlled, 50	rhGH	0.5 με 2 U/μέρα X12 βδομάδες	Αύξηση μάζας LV χωρίς κλινικό όφελος
Petro, 2001 [160]	ΔΜ	Τυχαιοποιημένη, placebo-controlled, 50	rhGH	0.5 με 2 U/μέρα X12 βδομάδες	Αυξημένο LVEF (αν IGF-I>80 pg/ml)
Jose, 1999 [161]	ΔΜ	Μη τυχαιοποιημένη, χωρίς control, 6	rhGH	2 U μέρα παρά μέρα για 6 μήνες	Αύξηση πάχους τοιχωμάτων και βελτιωμένη κλινική κατάσταση
Adamopoulos, 2003 [162]	ΔΜ	Τυχαιοποιημένη, διασταυρούμενη 12	rhGH	4 U μέρα παρά μέρα για 12 βδομάδες	Μείωση προφλεγμονωδών κυττοκινών και βελτιωμένη συσταστική λειτουργία
O'Driscoll, 1997 [163]	Ισχαμική, σοβαρή	Case reports, 2	rhGH	14 U /μέρα για 7 μέρες ή UX6 βδομάδες	Βελτιωμένη ανοχή στην κόπωση
Genth-Zotz, 1999 [164]	Ισχαμική, ήπια προς μέτρια	Μη τυχαιοποιημένη, χωρίς control, 7	rhGH	2 U/μέρα X 3 μήνες	Κλινική βελτίωση και καλύτερο remodeling
Spallafossa, 1999 [165]	Ισχαμική, NYHA II προς III	Placebo-controlled, 20	rhGH	0.006-0.002 U/kg X 6 μήνες	Βελτιωμένη ανοχή στην κόπωση, δηλητηριώδης σε σοβαρή ΚΑ
Van Thiel, 2004 [157]	Ισχαμική, LVEF<40%	Τυχαιοποιημένη, placebo-controlled, 11 ανά ομάδα	rhGH	0.5 με 2 U/μέρα X 26 βδομάδες	Κανένα όφελος

Συντμήσεις: NYHA_New York Heart Association, rhGH_ανθρώπινη ανασυνδυασμένη αυξητική ορμόνη, ΚΑ_καρδιακή ανεπάρκεια, LVEF_κλάσμα εξώθησης αριστεράς κοιλίας, 1 mg rhGH IRP 88/624= 3 U[157], ΔΜ διατακτική μυοκαρδιοπάθεια

βηματοδότησης, και οι οποίοι υπόκεινται σε οξεία ισχαιμία με προσωρινή απόφραξη στεφανιαίας αρτηρίας, το πεπτιδίο απελευθέρωσης αυξητικής ορμόνης GHRP-6, στη δόση των 0.2 mg/kg για 3 βδομάδες, βελτίωσε το δείκτη επιβίωσης, χωρίς να επηρεάσει –σε αντίθεση με την αυξητική ορμόνη– τις αιμοδυναμικές παραμέτρους, υποδεικνύοντας ότι αυτή η δράση πραγματοποιείται μέσω των υποδοχέων των GHS, παρά μέσω του άξονα της ΑΟ [153].

Συμπερασματικά, οι GHS ασκούν ευεργετική επίδραση στην καρδιαγγειακή λειτουργία σε πειραματικά μοντέλα ισχαιμίας-επαναιμάτωσης και καρδιακής ανεπάρκειας. Οι υπεύθυνοι μηχανισμοί είναι τουλάχιστον εν μέρει ανεξάρτητοι από την αύξηση της στάθμης της αυξητικής ορμόνης.

2.4.4. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ

Η θετική ινότροπος δράση του IGF-I στο ανθρώπινο μυοκάρδιο έχει διαπιστωθεί *in vitro*. Η προσθήκη IGF-I σε απομονωμένα μυοκαρδιακά κύτταρα προερχόμενα από καρδιές ασθενών με καρδιακή ανεπάρκεια τελικού σταδίου, και οι οποίοι υπεβλήθησαν σε μεταμόσχευση, είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της συσπαστικότητάς των μυοκαρδιακών ινών, μέσω αύξησης του ενδοκυττάριου και σαρκοπλασματικού ασβεστίου, διεγείροντας τους διαύλους Ca^{2+} τύπου L [154]. Εντούτοις, η εν λόγω αύξηση ήταν σημαντικά μικρότερη σε σχέση με την παρατηρούμενη μετά από προσθήκη ισοπροτενερόλης και επίτευξης ανάλογης ινότροπης απάντησης, γεγονός το οποίο σχετίζεται με την ανεξάρτητη από το cAMP δράση του IGF-I [154].

Κλινικές μελέτες σε ασθενείς με ανεπάρκεια αυξητικής ορμόνης, έδειξαν ότι ασθενείς με είτε ισχαιμική είτε μη-ισχαιμική μυοκαρδιοπάθεια μπορεί να ωφεληθούν από θεραπεία με αυξητική ορμόνη, κυρίως λόγω ανάσχεσης της δυσπροσαρμοστικής αναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας και της απώλειας μυοκαρδιακών κυττάρων [155]. Εντούτοις, κλινικές έρευνες σε ασθενείς με διαφορετικής αιτιολογίας καρδιακή ανεπάρκεια οδήγησαν σε αντικρουόμενα συμπεράσματα. Στις μη ισχαιμικές μορφές καρδιακής ανεπάρκειας, όπως η ιδιοπαθής διατατική μυοκαρδιοπάθεια, παρατηρείται σφαιρική παρά εντοπισμένη δυσλειτουργία του κοιλιακού μυοκαρδίου [156]. Οι έρευνες που μελετούν την επίδραση της αυξητικής ορμόνης ή των GHS στην καρδιακή ανεπάρκεια συνοψίζονται στον Πίνακα 10. Η πρώτη μη

Πιν.10(α) Αυξητική ορμόνη και GHS σε ασθενείς με ΚΑ διαφόρων αιτιών.

Συγγραφέας, χρονολογία	Αιτιολογία	Μελέτη, αριθμός ασθενών	Ουσία	Δόση, διάρκεια χορήγησης	Κύρια αποτελέσματα
Θεραπεία με αυξητική ορμόνη					
Fazio, 1996 [158]	ΔΜ	Μη τυχοποιημένη, χωρίς control, 7	rhGH	0.15 με 0.2 U/kg/βδομάδα X 3 μήνες	Μειωμένες διαστάσεις LV, βελτιωμένη αιμοδυναμική και κλινική κατάσταση
Osterziel, 1998 [159]	ΔΜ	Τυχοποιημένη, placebo-controlled, 50	rhGH	0.5 με 2 U/μέρα βδομάδες	Αύξηση μάζας LV χωρίς κλινικό όφελος
Petrot, 2001 [160]	ΔΜ	Τυχοποιημένη, placebo-controlled, 50	rhGH	0.5 με 2 U/μέρα βδομάδες	Αυξημένο LVEF (αν IGF-I>80 pg/ml)
Jose, 1999 [161]	ΔΜ	Μη τυχοποιημένη, χωρίς control, 6	rhGH	2 U μέρα παρά μέρα για 6 μήνες	Αύξηση πάχους τοιχωμάτων και βελτιωμένη κλινική κατάσταση
Adamopoulos, 2003 [162]	ΔΜ	Τυχοποιημένη, διασταυρούμενη 12	rhGH	4 U μέρα παρά μέρα για 12 βδομάδες	Μείωση προφλεγμονωδών κυττοκινών και βελτιωμένη συσταστική λειτουργία
O'Driscoll, 1997 [163]	Ισχαμική, σοβαρή	Case reports, 2	rhGH	14 U /μέρα για 7 μέρες ή UX6 βδομάδες	Βελτιωμένη ανοχή στην κόπωση
Gentz-Zotz, 1999 [164]	Ισχαμική, προς μέτριο	Μη τυχοποιημένη, χωρίς control, 7	rhGH	2 U/μέρα X 3 μήνες	Κλινική βελτίωση και καλύτερο remodeling
Spallafossa, 1999 [165]	Ισχαμική, II προς III	NYHA Placebo-controlled, 20	rhGH	0.006-0.002 U/kg μήνες	Βελτιωμένη ανοχή στην κόπωση, δηλητηριώδης σε σοβαρή ΚΑ
Van Thiel, 2004 [157]	Ισχαμική, LVEF<40%	Τυχοποιημένη, placebo-controlled, 11 ανά ομάδα	rhGH	0.5 με 2 U/μέρα X 26 βδομάδες	Κανένα όφελος

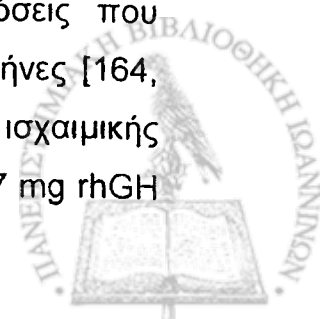
Συντμήσεις: NYHA, New York Heart Association, rhGH, ανθρώπινη ανασυνδρασμένη αυξητική ορμόνη, ΚΑ, καρδιακή ανεπάρκεια, LVEF, κλάσμα εξώθησης αριστεράς κοιλίας, 1 mg rhGH IRP 88/624= 3 U[157], ΔΜ διατατική μυοκαρδιοπάθεια

Πιν. 10(β) Αυξητική ορμόνη και GHS σε ασθενείς με ΚΑ διαφόρων αιτιών.

Συγγραφέας, χρονολογία	Αιτιολογία	Μελέτη, αριθμός ασθενών	Ουσία	Δόση, διάρκεια χορήγησης	Κύρια αποτελέσματα
Smit, 2001 [166]	Ισχαιμική, LVEF<40%	Τυχαιοποιημένη, placebo-controlled, 22	rhGH	0.5 με 2 U /ημέρα X 26 βδομάδες	Κανένα όφελος
Isgaard, 1998 [167]	Μικτή, NYHA II προς III	Τυχαιοποιημένη, placebo-controlled, 22	rhGH	0.1 με 0.25 U/kg /ημέρα X 3 μήνες	Κανένα όφελος
Acevedo, 2003 [168]	Μικτή, NYHA III	Τυχαιοποιημένη, placebo-controlled, 19	rhGH	0.035 U/kg /ημέρα X 8 βδομάδες	Κανένα όφελος
Napoli, 2002 [169]	Μικτή, NYHA II προς III	Τυχαιοποιημένη, placebo-controlled, 16	rhGH	4 U κάθε δεύτερη μέρα X 3 μήνες	Ομαλοποίηση δυσλειτουργίας ενδοθελίου
Θεραπεία με GHS					
Bisi, 1999 [170]	Έλλειψη ΑΟ	Placebo-controlled, 16	Εξαρελίνη	2 µg/kg bolus	Βραχυπρόθεσμη ινότροπη δράση
Imazio, 2002 [171]	Μικτή, NYHA II	Μη τυχαιοποιημένη, χωρίς control, 13	Εξαρελίνη	2 µg/kg bolus	Αύξηση LVEF μόνο στην ισχαιμική ΚΑ
Enomoto, 2003 [172]	Υγιείς εθελοντές	Τυχαιοποιημένη σειρά χορήγησης	Γρελίνη	0, 1, 5 και 10 µg/kg bolus	Βελτιωμένη καρδιακή λειτουργία, δοσοεξαρτώμενη απελευθέρωση ΑΟ
Nagaya, 2001 [173]	Μικτή, NYHA II προς III	Τυχαιοποιημένη, placebo-controlled, 12	Γρελίνη	0.1 µg/kg/λεπτό X 60 λεπτά	Μείωση μέσης αρτηριακής πίεσης και αυξημένος καρδιακός δείκτης και όγκος παλμού
Συνημίσεις: NYHA_New York Heart Association, rhGH_ανθρώπινη ανασυνδυασμένη αυξητική ορμόνη, ΚΑ_καρδιακή ανεπάρκεια, LVEF_κλάσμα εξώθησης αριστεράς κοιλίας, 1 mg rhGH IRP 88/624= 3 U[157], ΔΜ_διατακτική μυοκαρδιοπάθεια, ΑΟ_αυξητική ορμόνη, GHS_growth hormone secretagogues					

τυχαιοποιημένη μελέτη χορήγησης rhGH σε λίγους ασθενείς με ιδιοπαθή διατακτική μυοκαρδιοπάθεια, πραγματοποιήθηκε από τους Fazio και συν. το 1996 [158]. Η ως άνω θεραπεία οδήγησε σε αύξηση της μάζας της αριστεράς κοιλίας και του ΚΛΟΑ και σε μείωση της νευροορμονικής ενεργοποίησης, με αποτέλεσμα την αυξημένη ανοχή και το μειωμένο ενεργειακό κόστος για τους ασθενείς στην κόπωση [174]. Σε αντίθεση με τα προηγούμενα, σε μια μεγαλύτερη, τυχαιοποιημένη, με τη χρήση ομάδας placebo μελέτη, διαπιστώθηκε ότι η αυξητική ορμόνη, στη δόση των 0.67 mg/ημέρα για 3 μήνες, δεν ήταν ευεργετική για την καρδιακή λειτουργία ασθενών με ιδιοπαθή διατακτική μυοκαρδιοπάθεια, παρά την αύξηση της μάζας της αριστεράς κοιλίας και των επιπέδων του IGF-I [159]. Οι Perrot και συν. παρατήρησαν ότι τα αυξημένα επίπεδα του IGF-I πάνω από 80 ng/ml, σε απάντηση προς τη χορήγηση αυξητικής ορμόνης, οδηγούν σε βελτίωση του κλάσματος εξωθήσεως της αριστεράς κοιλίας [160]. Οι Jose και συν. διαπίστωσαν αύξηση της μάζας της αριστεράς κοιλίας και βελτιωμένη λειτουργικότητα αυτής μετά από 6 μήνες θεραπεία με 0.67 mg rhGH μέρα παρά μέρα [161]. Παρόμοια αποτελέσματα ανακοινώθηκαν και από τους Αδαμόπουλο και συν., οι οποίοι έδειξαν ότι η αυξητική ορμόνη, στη δόση των 1.33 mg μέρα παρά μέρα για 3 μήνες, προκάλεσε αύξηση στο πάχος των τοιχωμάτων του μυοκαρδίου και της συσπαστικής εφεδρείας, τα οποία σχετίζονταν με μειωμένο τελοσυστολικό όγκο και τοιχωματικό stress σε ασθενείς με ιδιοπαθή διατακτική μυοκαρδιοπάθεια [155]. Οι ίδιοι ερευνητές πρότειναν ότι οι πιθανές αντιφλεγμονώδεις και αντι-αποπτωτικές δράσεις της ΑΟ ενδέχεται να συμβάλλουν στην ανάσχεση της δυσπροσαρμοστικής αναδιαμόρφωσης του μυοκαρδίου στα τελικά στάδια της καρδιακής ανεπάρκειας [155].

Το ενδεχόμενο ευεργετικό αποτέλεσμα της αυξητικής ορμόνης σε ασθενείς με ισχαιμική καρδιακή ανεπάρκεια διαπιστώθηκε πρώτα σε απομονωμένες περιπτώσεις περιστατικών [163]. Μη τυχαιοποιημένες μελέτες με χαμηλό αριθμό ασθενών έδειξαν κλινική βελτίωση, με μειωμένο συστολικό τοιχωματικό stress και αυξημένη ανοχή στην κόπωση, σε δόσεις που κυμαίνονταν από 0.002 έως 0.67 mg/kg την ημέρα για 3 έως 6 μήνες [164, 165, 175]. Αντιθέτως, μια τυχαιοποιημένη μελέτη σε 22 ασθενείς με ισχαιμικής αιτιολογίας καρδιακή ανεπάρκεια, στους οποίους χορηγήθηκαν 0.77 mg rhGH



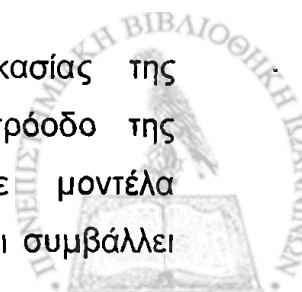
την ημέρα για 6 μήνες, δεν κατάφερε να δείξει σημαντική βελτίωση τόσο στη συστολική όσο και στη διαστολική λειτουργία [157, 166].

Κλινικές δοκιμές σε ασθενείς με μικτής αιτιολογίας καρδιακή ανεπάρκεια έδειξαν ότι η χορήγηση 0.03 mg/kg ανά βδομάδα, για μια βδομάδα και στη συνέχεια 0.08 mg/kg ανά βδομάδα για 3 μήνες αύξησε τα επίπεδα του IGF-I αλλά δε βελτίωσε την καρδιακή λειτουργία [167]. Σε συμφωνία με την προηγούμενη, μια άλλη κλινική δοκιμή με 0.012 mg/kg/μέρα rhGH για 8 βδομάδες επίσης απέτυχε να ανιχνεύσει τυχούσες ευεργετικές επιδράσεις στους ασθενείς [168]. Εντούτοις, οι Napoli και συν. παρατήρησαν βελτίωση της ενδοθηλιακής λειτουργίας σε 16 ασθενείς που έλαβαν 1.33 mg AO κάθε δεύτερη μέρα και για 3 μήνες [169]. Η οξεία ενδοφλέβια χορήγηση IGF-I σε ασθενείς με καρδιακή ανεπάρκεια μικτής αιτιολογίας προκάλεσε αύξηση του καρδιακού δείκτη και του όγκου παλμού, μείωση της αγγειακής αντίστασης και των επιπέδων της νορεπινεφρίνης στα ούρα [176].

Σε υγιείς εθελοντές και σε ασθενείς με έλλειψη AO, η οξεία χορήγηση εξαρελίνης (2 μg/kg) προκάλεσε μια βραχυπρόθεσμη αύξηση της συσπαστικότητας και του κλάσματος εξώθησης της αριστεράς κοιλίας, με μηχανισμό όμως ανεξάρτητο από την AO [170, 177]. Παρόμοια αποτελέσματα διαπιστώθηκαν σε ασθενείς με ισχαιμική αλλά όχι ιδιοπαθή διατακτική μυοκαρδιοπάθεια [171]. Μελέτες με τη γρελίνη έδειξαν βελτιωμένη καρδιακή λειτουργικότητα μετά από οξεία χορήγηση, αν και αυτό το αποτέλεσμα συσχετίστηκε με μια δόσοεξαρτώμενη αύξηση στα επίπεδα της AO [172]. Έγχυση μικρής διάρκειας σε υγιείς εθελοντές ή σε ασθενείς με ΚΑ διαφόρων αιτιών προκάλεσε μείωση στη μέση αρτηριακή πίεση και αύξηση του καρδιακού δείκτη και του όγκου παλμού, αποτελέσματα τα οποία ενδεχομένως σχετίζονται με ελάττωση της συστηματικής αγγειακής αντίστασης μέσω του υποδοχέα των GHS GHSR-1a που βρίσκεται στο αγγειακό δίκτυο [172, 173].

2.4.5. ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΜΥΟΚΑΡΔΙΑΚΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

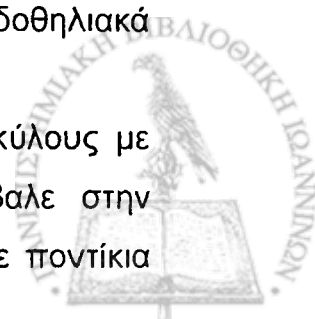
Απώλεια μυοκαρδιακών κυττάρων μέσω της διαδικασίας της απόπτωσης έχει δείχθει ότι λαμβάνει χώρα κατά την πρόοδο της μυοκαρδιοπάθειας και της καρδιακής ανεπάρκειας, σε μοντέλα πειραματοζώων και στον άνθρωπο, και είναι αναγνωρισμένο ότι συμβάλλει



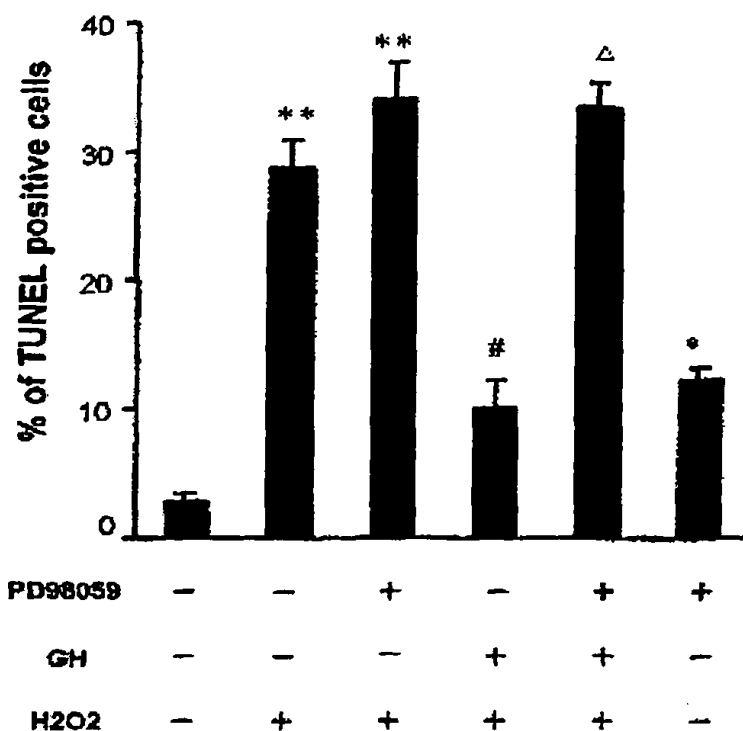
στην καρδιαγγειακή δυσλειτουργία και αναδιαμόρφωση [178, 179]. Η απόπτωση μπορεί να συμβάλλει στην απώλεια μυοκαρδιακών κυττάρων και την επακόλουθο διατάραξη της αρχιτεκτονικής που προηγείται της καρδιακής διάτασης [180], και ενδέχεται να παίζει ρόλο στη μετάβαση στην καρδιακή ανεπάρκεια [181]. Δύο ανεξάρτητα μονοπάτια μπορούν να θεωρηθούν υπεύθυνα για τη διαδικασία της απώλειας κυττάρων μέσω της απόπτωσης στο μυοκάρδιο. Το πρώτο περιλαμβάνει εξωτερικά στοιχεία, τα οποία συνδέονται με μια οικογένεια υποδοχέων, οι οποίοι είναι γνωστοί ως « υποδοχείς θανάτου», όπως ο Fas και ο TNFR1. Η εξειδικευμένη σύνδεση με αυτούς τους υποδοχείς οδηγεί στην ενεργοποίηση της κασπάσης 8, η οποία με τη σειρά της ενεργοποιεί την κασπάση 3. Ο σύνδεσμος του Fas καθώς και αντι-Fas αντισώματα διεγείρουν την απόπτωση σε καλλιέργειες κυττάρων [182], ενώ αύξηση του διαλυτού Fas και του αποπτωτικού μυοκαρδιακού κυτταρικού θανάτου έχουν αναφερθεί τόσο σε ασθενείς με ιδιοπαθή διατακτική μυοκαρδιοπάθεια [183], όσο και σε πειραματικά μοντέλα μυοκαρδιοπάθειας [184]. Το δεύτερο μονοπάτι διεγείρεται από την απελευθέρωση του κυτοχρώματος c από τα μιτοχόνδρια στο κυτταροπλασματικό δίκτυο. Συσσώρευση του κυτοχρώματος c συμβαίνει στην ισχαιμική και ιδιοπαθή διατακτική μυοκαρδιοπάθεια, οδηγώντας στην ενεργοποίηση της κασπάσης 3 [185].

Η αυξητική ορμόνη και ο IGF-I έχει δειχθεί ότι αναστέλλουν την απόπτωση σε μυοκαρδιακά κύτταρα επιμύων [184]. Οι ενεργοποιημένοι υποδοχείς του IGF-I στην κυτταρική μεμβράνη διεγείρουν παράγοντες όπως η κινάση PI3, οδηγώντας στη φωσφορυλίωση/ενεργοποίηση της Akt [186] και στη συσώρευση της φωσφορυλιωμένης Akt στον πυρήνα [187, 188]. Η φωσφορυλίωση της ενδοθηλιακής συνθετάσης μονοξειδίου του αζώτου eNOS, μιας πηγής καρδιοπροστατευτικού και αντι-αποπτωτικού μονοξειδίου του αζώτου (NO) από τις PI3/ Akt [189], μπορεί να αποτελεί έναν ακόμη μηχανισμό για την αντι-αποπτωτική δράση της αυξητικής ορμόνης. Η τελευταία έχει δειχθεί ότι προάγει την έκφραση του eNOS στα ενδοθηλιακά κύτταρα [190].

In vivo, ο IGF-I μείωσε την μυοκαρδιακή απόπτωση σε σκύλους με συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, το οποίο μπορεί να συνέβαλε στην αποκατάσταση του πάχους των τοιχωμάτων των κοιλιών [191]. Σε ποντίκια



που υπερεκφράζουν τον IGF-I, η προκαλούμενη από την αγγειοτενσίνη II μείωση της ενεργοποίησης της φωσφορυλιωμένης Akt και της κασπάσης 3



Εικ.11 Επίδραση της προσθήκης αυξητικής ορμόνης σε καλλιέργειες μυοκαρδιακών κυττάρων, στις οποίες ευοδώθηκε η διαδικασία της απόπτωσης με την προσθήκη H₂O₂. Σε μερικές σειρές κυττάρων είχε προστεθεί PD98059 (αναστολέας MEK) πριν την ΑΟ. Ο μέσος όρος του ποσοστού των κυττάρων που ήταν θετικά κατά TUNEL υπολογίστηκε από 4 διαφορετικά πειράματα. Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι ± S.D. *p < 0.05 και **p < 0.01 vs. χωρίς θεραπεία. #p < 0.05 vs. του δείγματος που περιείχε μόνο H₂O₂. *p < 0.01 vs. του δείγματος που περιείχε αυξητική ορμόνη και H₂O₂.

αναστέλεται [192]. Όσον αφορά στην αυξητική ορμόνη, η χορήγησή της σε επίμυες με ισχαιμική καρδιακή ανεπάρκεια, 1 μήνα μετά την πρόκληση



εμφράγματος και για 28 ημέρες, μείωσε τον δείκτη απόπτωσης κατά 50 % τον πρώτο μήνα και κατά 33% στους 13 μήνες [193], ενώ η προσθήκη αυτής στη θεραπεία ασθενών με ιδιοπαθή διατακτική μυοκαρδιοπάθεια και καρδιακή ανεπάρκεια οδήγησε σε ελάττωση διαφόρων παραγόντων απόπτωσης, όπως ο Fas και ο σύνδεσμος του [155]. Ακόμη, σε καλλιέργειες μυοκαρδιακών κυττάρων, η προσθήκη αυξητικής ορμόνης ανέστειλε την προκαλούμενη από το υπεροξειδίο του υδρογόνου διαδικασία της απόπτωσης (Εικ.11) [194].

• Τόσο η γρελίνη [195], όσο και η εξαρελίνη [196], ανέστειλαν την απόπτωση που προκαλείται από τους κυταροτοξικούς παράγοντες TNFα και δοξορουβικίνη, σε μυοκαρδιακά και κύτταρα H9c2. Αυτές οι δράσεις μπορεί να πραγματοποιούνται μέσω της ενεργοποίησης των μονοπατιών επιβίωσης ERK-1/2 και PI3k/Akt ή της βιοσύνθεσης αντιοξειδωτικών πρωτεϊνών, αφήνοντας ανοιχτό το ενδεχόμενο ότι η καρδιοπροστατευτική δράση των GHS μπορεί να εξηγηθεί, τουλάχιστον εν μέρει, από τις αντι-αποπτωτικές ιδιότητές τους.

Συμπερασματικά, ενώ έχουν παρατηρηθεί υποσχόμενα αποτελέσματα από τη χορήγηση AO/IGF-I σε πειραματικά μοντέλα καρδιακής ανεπάρκειας, το μοναδικό σημαντικά θετικό κλινικό αποτέλεσμα που διαπιστώνεται είναι η βελτίωση της καρδιαγγειακής λειτουργίας στις περιπτώσεις ανεπάρκειας αυξητικής ορμόνης. Η έλλειψη επιβεβαιωμένου θετικού αποτελέσματος από τη χορήγηση των ουσιών αυτών σε ανθρώπους με καρδιακή ανεπάρκεια μπορεί να οφείλεται στο στάδιο της ΚΑ που γίνεται η έναρξη της θεραπείας, στη χρησιμοποιούμενη δοσολογία ή στη διάρκεια της θεραπείας. Περαιτέρω έρευνες είναι απαραίτητες για την εξακρίβωση της δράσης του άξονα της AO στην καρδιακή ανεπάρκεια και την ενδεχόμενη θεραπευτική χορήγηση αυτής ή του IGF-I.

2.5. ΣΤΕΦΑΝΙΑΙΑ ΝΟΣΟΣ-ΑΓΓΕΙΑ

Είναι γνωστό ότι η έλλειψη είτε αυξητικής ορμόνης, είτε IGF-1 σχετίζεται με πρόωμη εμφάνιση αθηροσκλήρωσης και αυξημένη λόγω καρδιαγγειακής νόσου θνησιμότητα. Έως σήμερα, έχουν δημοσιευτεί 5 επιδημιολογικές μελέτες σε σχέση με τα επίπεδα του IGF-1 και τα συμβάματα

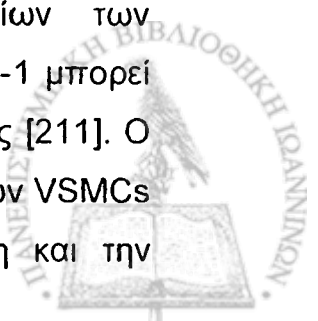


λόγω στεφανιαίας νόσου, και όλες αναφέρουν χαμηλότερα επίπεδα IGF-1 στα άτομα με κάποιο συμβάν, σε σχέση με τους υγιείς. Οι δύο ήταν αναλύσεις ρι οποίες πραγματοποιήθηκαν σε μεγάλες σειρές αντρών και γυναικών άνω των 55 ετών [197, 198]. Μεταξύ των συμμετεχόντων στη Rotterdam Elderly Study (n=218), τα επίπεδα του IGF-1 ήταν σημαντικά χαμηλότερα μεταξύ των ατόμων με σημεία και συμπτώματα στεφανιαίας νόσου (ΣΝ), όπως ηλεκτροκαρδιογραφικές ενδείξεις προηγηθέντος εμφράγματος μυοκαρδίου και στηθάγχης [198]. Οι Goodman-Gruen et al αναγνώρισαν τα άτομα με προηγούμενο ΕΜ μέσω του ΗΚΓ, την ανάμνηση της διάγνωσης του ΕΜ, ή θετικού Rose ερωτηματολογίου για σοβαρό πόνο στο στήθος. Μεταξύ των ανδρών, τα ολικά επίπεδα του IGF-1 ήταν σημαντικά χαμηλότερα σε αυτούς που είχαν υποστεί ΕΜ στο παρελθόν, ενώ ανάλογη συσχέτιση στις γυναίκες δεν παρατηρήθηκε. Παρομοίως, 2 νοσοκομειακές μελέτες ανέφεραν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα ολικού IGF-1 σε ασθενείς που εισήχθησαν με ΕΜ σε σχέση με υγιείς εθελοντές [199, 200]. Οι Reeves et al βρήκαν επίσης ότι η IGFBP-3 ήταν σημαντικά υψηλότερη στους ασθενείς με ΕΜ [200].

Η μοναδική μελέτη που συνδέει τα συμβάματα λόγω ΣΝ με τα επίπεδα του IGF-1 πριν και όχι μετά από την εμφάνισή τους πραγματοποιήθηκε στη Dan-MONICA σειρά μεσήλικων αντρών και γυναικών στη Δανία [201]. Μεταξύ των συμμετεχόντων χωρίς ιστορικό ΣΝ στην έναρξη, οι ερευνητές αναγνώρισαν 231 άτομα τα οποία στη διάρκεια 7,6 ετών (κατά μέσο όρο) παρακολούθησης νοσηλεύτηκαν ή απεβίωσαν με διάγνωση σχετική με ΣΝ (συμπεριλαμβανομένων του ΕΜ και της στηθάγχης), και 374 άτομα δίχως εμφάνιση ΣΝ. Τα άτομα τα οποία είχαν τόσο την IGFBP-3 στο ανώτερο τεταρτημόριο, όσο και τον IGF-1 στο κατώτερο στην αρχή της έρευνας, είχαν και το μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης επεισοδίου σχετιζόμενου με ΣΝ (σχετικός κίνδυνος, 4.07, διάστημα εμπιστοσύνης 1.48-11.22). Αυτά τα ευρήματα παρέμειναν μετά από προσαρμογή για γνωστούς καρδιαγγειακούς παράγοντες κινδύνου, όπως η παρουσία κλινικού σακχαρώδους διαβήτη στην έναρξη. Εντούτοις, δεν υπήρχαν πληροφορίες σχετικά με την ανοχή στη γλυκόζη ή την ανάπτυξη ΣΔ κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης. Ελαττωματική ανοχή στη γλυκόζη είναι πιο πιθανή να συμβεί στα άτομα με χαμηλά επίπεδα IGF-1, και αυτό αποτελεί έναν πιθανό μεσολαβητή στη συσχέτιση μεταξύ χαμηλού IGF-1 και καρδιαγγειακής νόσου [202].

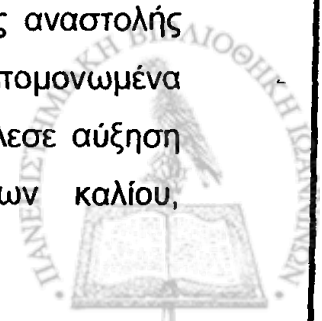
Αρκετές επιδημιολογικές μελέτες έχουν βρει συσχετίσεις μεταξύ χαμηλών επιπέδων IGF-1 και ΣΝ αναγνωρισμένης με στεφανιογραφία. Σε δύο μεγάλες αγγειογραφικές σειρές με 189 [203] και 122 [204] άτομα, οι ασθενείς με χαμηλότερα επίπεδα IGF-1 είχαν πιο σοβαρές στενώσεις, αν και πολυπαραγοντικές αναλύσεις έτειναν να εξαφανίσουν αυτή τη συσχέτιση. Μια μικρότερη αγγειογραφική σειρά δεν ανέδειξε καμία διαφορά των επιπέδων IGF-1 ή IGFBP-3 μεταξύ των ασθενών με συμπτωματική ΣΝ (n=15) και υγιών (n=20), πιθανά λόγω μικρού στατιστικού δείγματος [205]. Σε 81 νέους άνδρες (μέση ηλικία 42 έτη) με πρόσφατο ΕΜ, οι οποίοι συμμετείχαν στη μελέτη Bezafibrate Coronary Atherosclerosis Intervention Trial (BECAIT), το χαμηλότερο επίπεδο IGF-1 προέβλεπε μικρότερη αγγειογραφική πρόοδο των στεφανιαίων βλαβών. Αυτό το εύρημα έχει πιθανώς να κάνει με την προκαλούμενη μείωση των επιπέδων του IGF-1 στους ασθενείς που έλαβαν μπεζαφιμπράτη [206]. Άλλες μελέτες έχουν εξετάσει τον IGF-1 σε σχέση με την αθηροσκλήρωση των καρωτίδων, διαπιστωμένη αναίμακτα με τη χρήση B-mode υπερήχου. Στους συμμετέχοντες στη Rotterdam Elderly Study (n=218), τα χαμηλά επίπεδα IGF-1 σχετίστηκαν με την παρουσία καρωτιδικών πλακών και όχι με το πάχος του μέσου χιτώνα της καρωτιδικής αρτηρίας [198]. Σε μια άλλη σειρά μεγαλύτερων αντρών (n=403), τα χαμηλά επίπεδα IGF-1 σχετίζονταν με αυξημένο πάχος του μέσου χιτώνα της καρωτιδικής αρτηρίας αλλά όχι με αύξηση του αριθμού των εστιακών πλακών [207].

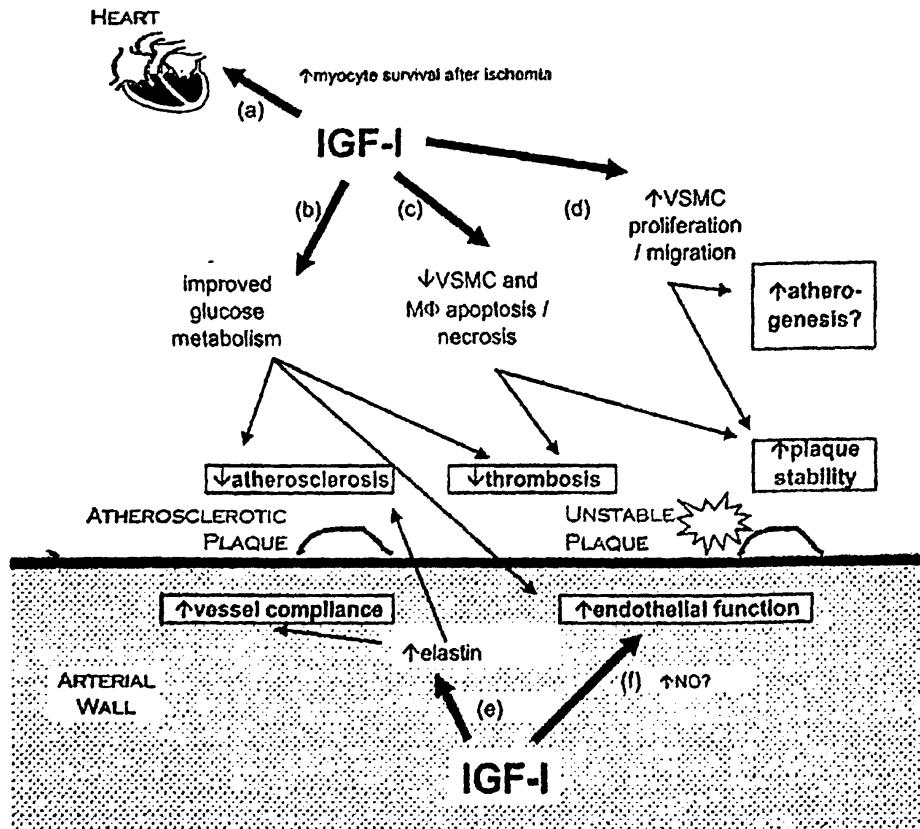
Αρκετές δράσεις του IGF-1 στην καρδιαγγειακή λειτουργία που έχουν αναγνωρισθεί θα μπορούσαν να εξηγήσουν την επιδημιολογική συσχέτιση μεταξύ χαμηλού IGF-1 και εμφάνισης ΣΝ (Εικ.12). Πειραματικά μοντέλα εμφράγματος υποδεικνύουν ότι ο IGF-1 μπορεί να δρα σαν παράγοντας επιβίωσης για τα μυοκαρδιακά κύτταρα που εκτίθενται σε ισχαιμική βλάβη, εν μέρει προάγοντας την πρόσληψη γλυκόζης από αυτά [208, 209]. Τα VSMCs στις αθηρωματικές πλάκες υφίστανται αυτόματη απόπτωση και ο IGF-1 μπορεί να την αναστείλει [191, 210]. Η ρήξη της πλάκας μπορεί να πυροδοτείται από την απόπτωση των κυτταρικών στοιχείων των αθηρωματικών βλαβών, και έτσι η αντιαποπτωτική δράση του IGF-1 μπορεί να προλαμβάνει το ΕΜ μειώνοντας τη συχνότητα ρήξης της πλάκας [211]. Ο IGF-1 επίσης προάγει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των VSMCs [212]. Παραδόξως, αυτό αναμένεται να συμβάλλει στην έναρξη και την



πρόοδο της αθηροσκληρυντικής διαδικασίας. Πειραματικές μελέτες δείχνουν ότι η αυξημένη σύνδεση του IGF-1 συμβάλλει στην υπερπλασία του έσω χιτώνα μετά από αγγειακό τραύμα [213], ενώ υπάρχουν κλινικές ενδείξεις ότι η αναστολή του IGF-1 και άλλων αυξητικών παραγόντων με ανάλογα της σωματοστατίνης μπορεί να μειώσει το ποσοστό επαναστένωσης μετά από αγγειοπλαστική [214, 215]. Εντούτοις, ο πολλαπλασιασμός των VSMCs μπορεί επίσης να έχει θετική επίδραση στη σύνθεση της πλάκας, καθώς οι πλάκες με αυξημένα VSMCs έχουν την τάση να είναι πιο σταθερές [216]. Ο IGF-1 προάγει την παραγωγή της εξωκυττάριας διάμεσης πρωτεΐνης ελαστίνης, η οποία μπορεί να διατηρήσει την αρτηριακή διατασιμότητα και να καθυστερήσει την αθηροσκληρυντική διαδικασία [217]. Ο IGF-1 και η αυξητική ορμόνη μπορεί να έχουν ευεργετικές επιδράσεις στην αρτηριακή ροή αίματος και στη λειτουργία του ενδοθηλίου [169, 218-220]. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα έχουν υψηλής συγγένειας θέσεις σύνδεσης IGF-1 και ο IGF-1 προάγει την παραγωγή NO τόσο από τα ενδοθηλιακά [221], όσο και από τα VSMCs [219]. Η αγωγή με αυξητική ορμόνη ασθενών με υποφυσιακή ανεπάρκεια βελτιώνει την ενδοθήλιο-εξαρτώμενη διάταση της βραχιόνιας αρτηρίας [218]. Σε υγιείς νεαρούς ενήλικες, η έγχυση IGF-1 σχετίζεται με 68% αύξηση στη ροή του αίματος στο αντιβράχιο σε σχέση με τη ροή που παρατηρείται μετά την έγχυση φυσιολογικού ορού [222].

Αδιευκρίνιστη παραμένει η επίδραση της χορήγησης αυξητικής ορμόνης ή IGF-1 στη στεφανιαία ροή. Η χρόνια χορήγηση (30 ημέρες) αυξητικής ορμόνης σε ηλικιωμένους επίμυες είχε σαν αποτέλεσμα την αύξηση της στεφανιαίας αιματικής ροής σε σχέση με επίμυες ίδιας ηλικίας που έλαβαν placebo [223]. Επιπλέον, η οξεία ενδοστεφανιαία χορήγηση αυξητικής ορμόνης σε παρασκευάσματα καρδιών από κουνέλια *in vitro* προκάλεσε αγγειοδιαστολή των στεφανιαίων αγγείων τόσο σε σταθερές συνθήκες, όσο και κατά τη διάρκεια ισχαιμίας επαναιμάτωσης [224]. Εντούτοις, η οξεία ενδοφλέβια χορήγηση αυξητικής ορμόνης σε αναισθητοποιημένους χοίρους προκάλεσε αγγειοσύσπασση του στεφανιαίου δικτύου, μέσω της αναστολής απελευθέρωσης NO [225, 226]. Τέλος, η προσθήκη IGF-1 σε απομονωμένα στεφανιαία αγγεία από χοίρους [227] και σκύλους [228] προκάλεσε αύξηση της διαμέτρου του αγγείου, μέσω ενεργοποίησης διαύλων καλίου, απελευθέρωσης NO και κυκλοξυγενάσης [228].





Εικ.12 Πιθανοί μηχανισμοί της επίδρασης του IGF-1 στη ΣΝ. α) αυξημένη επιβίωση των μυοκυττάρων μετά από ισχαιμική βλάβη β) βελτιωμένος μεταβολισμός γλυκόζης γ) αναστολή της απόπτωσης και νέκρωσης των VSMC και ΜΦ, προάγοντας τη σταθερότητα της πλάκας και μειώνοντας τη θρομβογένεση δ) προώθηση του πολλαπλασιασμού και της μετανάστευσης των VSMC, αυξάνοντας το περιεχόμενο της πλάκας σε VSMC και κατέπекταση τη σταθερότητά της, ενώ ταυτόχρονα μπορεί να συμβάλλει έτσι στην αθηρογένεση ε) αύξηση της αγγειακής ενδοτικότητας μέσω της διατήρησης του ελαστικού δικτύου του τοιχώματος, και ς) βελτίωση λειτουργίας του ενδοθηλίου. VSMC, λεία μυϊκά κύτταρα αγγείου, ΜΦ, μονοκύτταρα, NO, μονοξείδιο του αζώτου.



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο

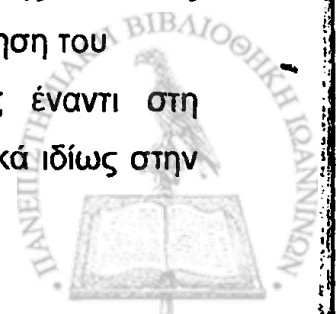
ΑΥΞΗΤΙΚΗ ΟΡΜΟΝΗ ΚΑΙ ΟΞΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ

3.1. ΚΙΝΗΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΑΞΟΝΑ ΑΥΞΗΤΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ/IGF-1 ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΟΞΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ

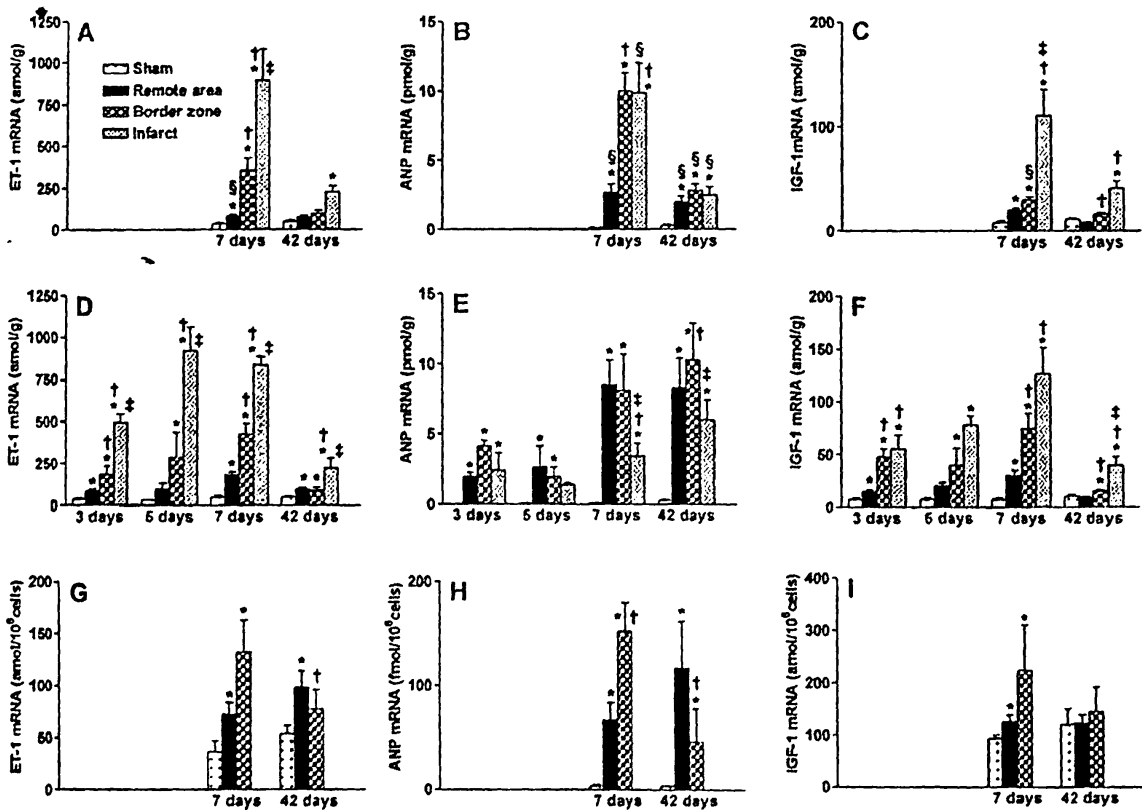
3.1.1. ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΖΩΑ

Η πρόκληση ισχαιμίας του μυοκαρδίου σε διάφορα πειραματικά μοντέλα έχει αναδείξει την πρόωμη κινητοποίηση του άξονα αυξητικής ορμόνης/ινσουλινόμορφου παράγοντα 1. Οι Reiss et al. διαπίστωσαν ότι στους επίμυες, μετά από απολίνωση της αριστεράς στεφανιαίας αρτηρίας προκαλείται αύξηση του αγγελιαφόρου RNA που είναι υπεύθυνο για τον IGF-1 και τον υποδοχέα του. Η αύξηση αυτή αφορά ζώντα μυοκαρδιακά κύτταρα και από τις δύο κοιλίες, απομονωμένα δύο ημέρες μετά την πρόκληση του εμφράγματος [229]. Επίσης σε επίμυες, το mRNA του IGF-1 και του υποδοχέα του αυξάνονται από την πρώτη μετεμφραγματική ημέρα και για επτά ημέρες, μετά από απολίνωση της αριστεράς στεφανιαίας αρτηρίας, ως επακόλουθο των αυξημένων συνθηκών φόρτισης της αριστεράς και δεξιάς κοιλίας [230].

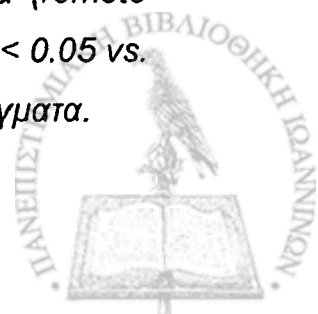
Μελετώντας περαιτέρω την τοπογραφία της εν λόγω κινητοποίησης, οι Matthews et al. απέδειξαν ότι η αύξηση του IGF-1 και του mRNA του λαμβάνει χώρα από το πρώτο εικοσιτετράωρο του εμφράγματος σε πρόβατα, και αφορά κυρίως στην περιεμφραγματική περιοχή [231]. Η φυσιολογική σημασία του φαινομένου αυτού φαίνεται ότι έχει να κάνει με τη συσχέτιση του άξονα του IGF-1 με τη δημιουργία υπερτροφίας, και την αναπλήρωση της απώλειας μυοκαρδιακών ινών λόγω του εμφράγματος. Εναλλακτικά, η αύξηση του IGF-1 ενδέχεται να αποτελεί μηχανισμό καρδιοπροστασίας έναντι στη διαδικασία της απόπτωσης που λαμβάνει χώρα μετεμφραγματικά ιδίως στην περιεμφραγματική περιοχή [232].



Σε ένα άλλο πειραματικό πρότυπο πρόκλησης εμφράγματος σε επίμυες, οι Loennechen et al. διαπίστωσαν ότι η κύρια προέλευση της μετεμφραγματικής αύξησης του IGF-1 είναι μη-μυοκαρδιακά κύτταρα, ακολουθώντας ένα πρότυπο έκφρασης παρόμοιο με αυτό των TNF- α , IL-1 β , IL-6 και TGF- β , υποδεικνύοντας εφάμιλλους ρόλους στη μετεμφραγματική



Εικ.13 Έκφραση του mRNA των ET-1, ANP, και IGF-1 στο μυοκάρδιο από επίμυες χωρίς έμφραγμα (Sham), μετά από μικρά (A-C) και μεγάλα εμφράγματα (D-F). G-I: γονιδιακή έκφραση σε μυοκαρδιακά κύτταρα από την περιεμφραγματική και ελεύθερη περιοχή καρδιών με μεγάλο ή καθόλου έμφραγμα. Δείγματα ελήφθησαν από την εμφραγματική περιοχή (infarct), την περιεμφραγματική (border zone), και την ελεύθερη αριστερά κοιλία (remote area). Οι τιμές είναι ως μέσοι όροι \pm SE. * $P < 0.05$ vs. sham; † $P < 0.05$ vs. remote area; ‡ $P < 0.05$ vs. border zone; § $P < 0.05$ vs. μεγάλα εμφράγματα.



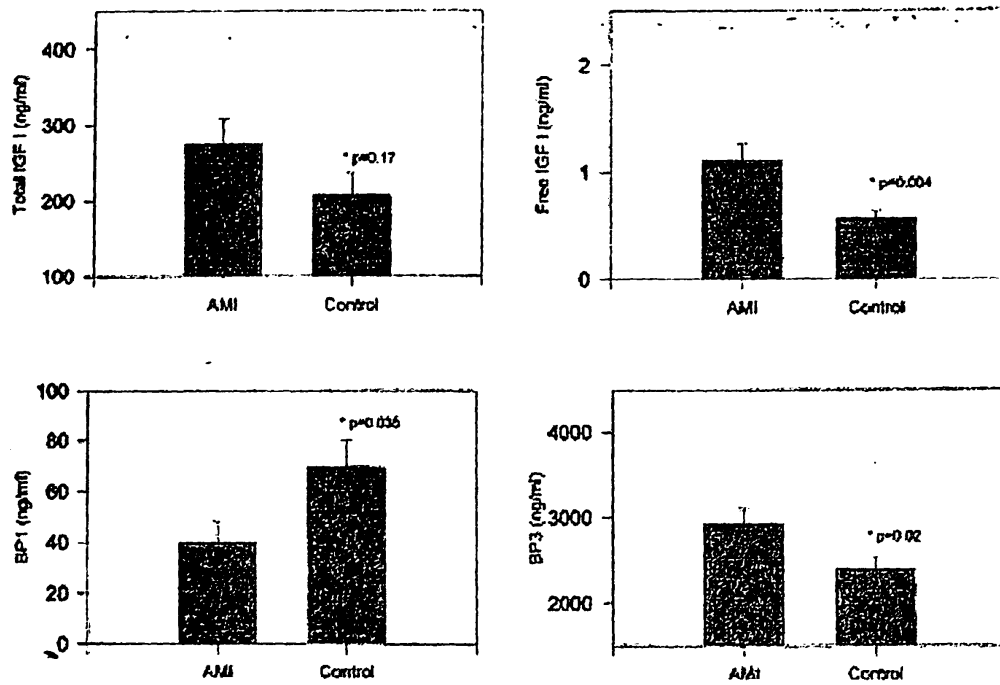
φλεγμονώδη διαδικασία [233]. Τα επίπεδα του mRNA του IGF-1 δεν είχαν στατιστική συσχέτιση με τις αιμοδυναμικές παραμέτρους που μετρήθηκαν. Η μέγιστη αύξηση παρατηρήθηκε στις επτά ημέρες, ενώ στα μυοκαρδιακά κύτταρα η περιοχή με τη μεγαλύτερη κινητοποίηση ήταν και πάλι η περιεμφραγματική περιοχή (Εικ.13).

3.1.2. ΑΝΘΡΩΠΟΙ

Σε 34 ασθενείς με διαπιστωμένο οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, οι Lee et al. προσδιόρισαν τα επίπεδα του ολικού και ελεύθερου IGF-1, καθώς και των IGFBNs, την πρώτη, δεύτερη, τρίτη και εικοστή πρώτη μέρα μετά από το έμφραγμα [234]. Σε σύγκριση με 17 υγιείς εθελοντές, οι ασθενείς παρουσίασαν μια τάση για αύξηση του ολικού IGF-1, η οποία δεν ήταν στατιστικά σημαντική, προφανώς λόγω του μικρού μεγέθους του δείγματος. Αντιθέτως, τα επίπεδα του ελεύθερου IGF-1 και της IGFBN-3 ήταν σημαντικά υψηλότερα, ενώ της IGFBN-1 χαμηλότερα, γεγονός το οποίο μπορεί εν μέρει να εξηγήσει την αύξηση του ελεύθερου IGF-1 (Εικ.14, Πιν.11). Επιπλέον διαπιστώθηκε συσχέτιση μεταξύ των τιμών του ολικού IGF-1 και αιμοδυναμικών παραμέτρων που καθορίζουν την πορεία της αναδιαμόρφωσης της αριστεράς κοιλίας (Εικ.15), καθώς και της έκβασης της νόσου μέχρι τρεις μήνες μετά (Πιν.12).

Παρόμοια συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων του IGF-1 και της έκβασης διαπιστώθηκε και από τους Conti et al [199].



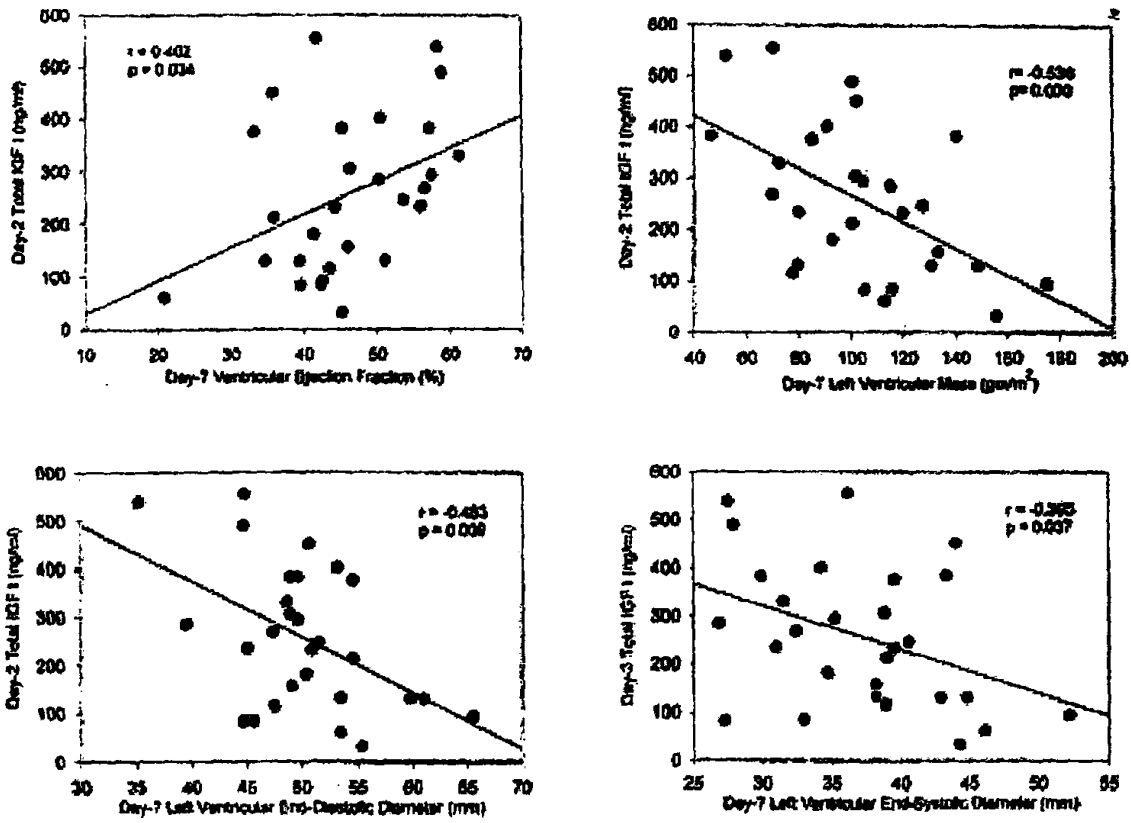


Εικ.14 Αλλαγές στον άξονα του IGF-1 μετά από OEM. Οι μετρήσεις έγιναν από φλεβικό αίμα ασθενών 24 ώρες μετά το OEM (AMI) και από υγιείς εθελοντές (control).

Πιν.11 Διαδοχικές αλλαγές στα επίπεδα του IGF-I και των IGFFBPs μετά από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου στον άνθρωπο.

	Μέρα 1	Μέρα 2	Μέρα 3	Μέρα 7	Μέρα 21
Ολικό IGF-I	280.8 ± 35.3	256.9 ± 28.8	245.8 ± 27.1 ¹	293.8 ± 31.8 ²	301.7 ± 35.5 ³
Ελεύθερο IGF-I	1.13 ± 0.2	1.14 ± 0.18	0.95 ± 0.12	0.66 ± 0.09 ⁴	0.65 ± 0.07 ⁵
IGFBP-1	44.2 ± 10.4	45.4 ± 9.4	32.0 ± 7.6	26.5 ± 9.0 ⁶	24.6 ± 5.6
IGFBP-3	2919 ± 157	2783 ± 139	2760 ± 147	2887 ± 126	3198 ± 183 ⁷





Εικ.15 Συσχέτιση των επιπέδων του ολικού IGF-1 2 μέρες μετά το OEM με αιμοδυναμικές παραμέτρους. Οι μετρήσεις έγιναν με διαθωρακικό υπέρηχο 7 - μέρες μετά το OEM.

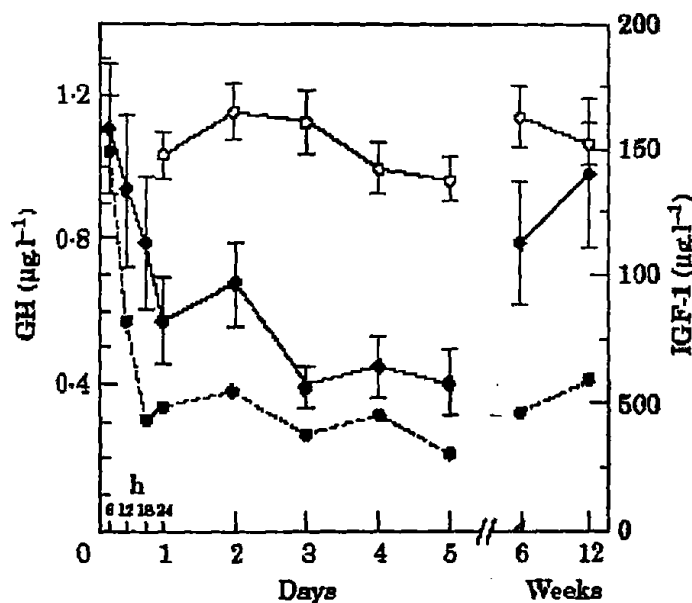
Πιν.12 Επίπεδα ολικού IGF-1 σε ασθενείς με καλή ή κακή (θάνατος ή σοβαρή συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια) έκβαση 3 μήνες μετά από OEM.

	Υγιείς επιζώντες	Κακή έκβαση	P
Ολικό IGF I			
Μέρα 1	299.8 ± 33.1	162.9 ± 79.6	0.098
Μέρα 2	273.0 ± 27.6	76.1 ± 19.6	<0.001
Μέρα 3	259.9 ± 25.7	83.0 ± 15.0	<0.001
Βδομάδα 1	300.1 ± 31.2	81.1 ± 27.2	<0.001
Βδομάδα 3	315.8 ± 36.5	98.5 ± 5.8	<0.001
IGFBP-3			
Μέρα 1	3000 ± 184	2612 ± 430	0.435
Μέρα 2	2913 ± 170	2164 ± 339	0.086
Μέρα 3	2921 ± 168	2160 ± 173	0.10
Βδομάδα 1	2953 ± 138	2459 ± 188	0.246
Βδομάδα 3	3189 ± 195	3309 ± 514	0.868

Οι Friberg et al. μελετώντας 52 διαδοχικούς ασθενείς με OEM διαπίστωσαν μία σημαντική αύξηση στις τιμές της αυξητικής ορμόνης, η οποία γρήγορα εξαφανίζεται μέσα στις πρώτες 24 ώρες από την έναρξη του πόνου [235]. Τα επίπεδα IGF-1 αυξήθηκαν τις πρώτες ημέρες από το OEM αλλά χωρίς στατιστικά σημαντική διαφορά (Εικ.16). Η τιμή της αυξητικής ορμόνης την πρώτη ημέρα του OEM βρέθηκε να συσχετίζεται με το μέγεθος της



μυοκαρδιακής βλάβης, όπως αυτό εκτιμάται από τα επίπεδα της τροπονίνης T και τα μέγιστα επίπεδα της CK-MB. Από τη διατήρηση παρακολούθηση των ασθενών, προέκυψε ότι στους 8 θανόντες λόγω καρδιακού συμβάματος τα επίπεδα αυξητικής ορμόνης ήταν υψηλότερα, ενώ του IGF-1 χαμηλότερα, σε σχέση με τους επιζώντες (Εικ.17), υπονοώντας ότι η αυξημένη αντίσταση στη δράση της ΑΟ στην οξεία φάση του OEM αποτελεί αρνητικό προγνωστικό παράγοντα.



Εικ.16 Επίπεδα ορού της ΑΟ (GH= ◆) και του IGF-1 (IGF-1= ○) στην οξεία φάση του OEM. Η συνεχής γραμμή αναπαριστά μέσες τιμές ± SEM. Το μέσο επίπεδο της ΑΟ στις πρώτες 24 ώρες διέφερε σημαντικά σε σχέση με το μέσο επίπεδο τις μέρες 3 ($P=0.0002$), 4 ($P=0.0015$), και 5 ($P=0.005$).

Η διακεκομμένη γραμμή (---), αναπαριστώσα διάμεσες τιμές ΑΟ, δείχνει ότι η πτώση των τιμών ήταν πλήρης μέσα σε 24 ώρες στην πλειοψηφία των ασθενών.



3.2. ΟΞΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ ΚΑΙ ΕΛΛΕΙΨΗ ΑΥΞΗΤΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ

Πειραματικές μελέτες με μοντέλα έλλειψης αυξητικής ορμόνης ή IGF-1 έχουν αποδείξει ότι η ύπαρξη ακέραιου και λειτουργικού άξονα ΑΟ/IGF-1 αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την ομαλή μετεμφραγματική πορεία.

Οι Colonna et al. μελετώντας παρασκευάσματα καρδιών από επίμυες που έλαβαν φυσιολογικό ορό, ορό με αντισώματα εναντίον της GHRH, ή ορό με αντισώματα μαζί με αυξητική ορμόνη, διαπίστωσαν ότι μετά την πρόκληση ισχαιμίας και επαναιμάτωσης υπήρξαν διαφορές στις αιμοδυναμικές παραμέτρους της συστολικής και διαστολικής λειτουργίας μεταξύ των ομάδων [236]. Επιπλέον, οι επίμυες με ανεπάρκεια ΑΟ εμφάνισαν αυξημένη στεφανιαία αγγειακή αντίσταση καθώς και μειωμένη λειτουργική δραστηριότητα των μουσκαρινικών υποδοχέων του στεφανιαίου αγγειακού δικτύου.

Ανάλογα αποτελέσματα προέκυψαν από την πρόκληση εμφράγματος σε επίμυες με συγγενή έλλειψη αυξητικής ορμόνης [237]. Έξι βδομάδες μετά το OEM τα εν λόγω πειραματόζωα είχαν σαφώς επηρεασμένη τη συστολική και διαστολική λειτουργία του μυοκαρδίου, σε σχέση με τα υγιή, γεγονός το οποίο αποδόθηκε στην έλλειψη αναπληρωματικής για την απώλεια μυοκαρδιακών κυττάρων υπερτροφίας.

Τέλος, σε ποντίκια ετερόζυγα για την έκφραση του γονιδίου του IGF-1 η πρόκληση εμφράγματος του μυοκαρδίου προκάλεσε μείωση της πυκνότητας των τριχοειδών και μειωμένη υπερτροφική απάντηση, σε σχέση με τα υγιή [238]. Στις μετρήσεις, που έγιναν μία βδομάδα μετά την απόφραξη της αριστεράς στεφανιαίας αρτηρίας, ο δείκτης απόπτωσης μυοκαρδιακών κυττάρων στα ζώα με έλλειψη IGF-1 βρέθηκε σημαντικά αυξημένος.



3.3. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΑΥΞΗΤΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ/IGF-1 ΣΤΟ ΕΜΦΡΑΓΜΑ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ

3.3.1. ΚΥΤΤΑΡΟΠΡΟΣΤΑΣΙΑ

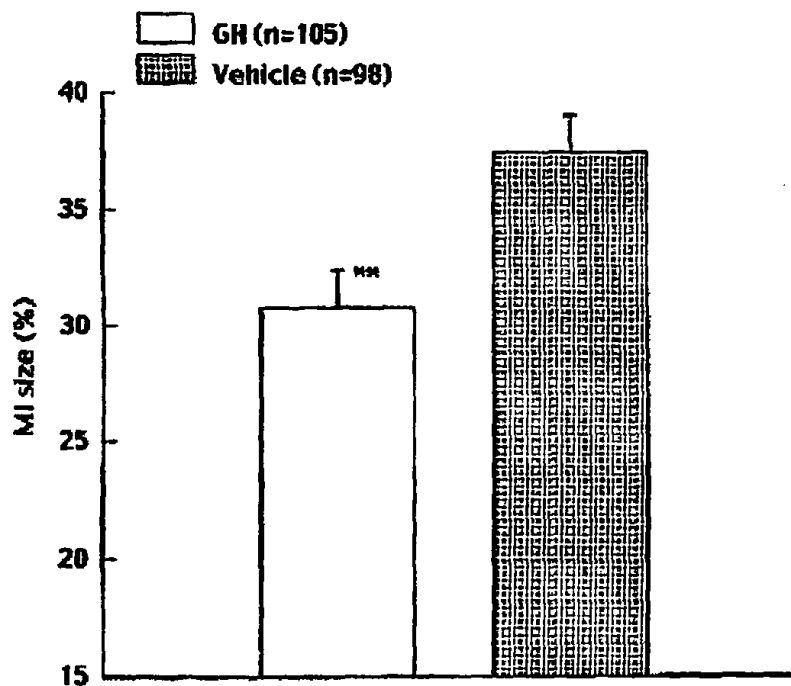
Αρκετές πειραματικές μελέτες έχουν αναδείξει τον καρδιοπροστατευτικό ρόλο της αυξητικής ορμόνης και του IGF-1 κατά τη διάρκεια του εμφράγματος του μυοκαρδίου. Χωρίς να είναι επαρκώς κατανοητοί οι μηχανισμοί, η χορήγηση των παραπάνω ουσιών κατά την πρώιμη μετεμφραγματική περίοδο αποκτά αυξανόμενο ενδιαφέρον, καθώς εμφανίζουν ευεργετικές επιδράσεις στην επιβίωση, στο μέγεθος του προκληθέντος εμφράγματος, στην αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας και στη διαδικασία της απόπτωσης. Επιπλέον, συζητείται η επίδρασή τους στο αγγειακό δίκτυο, είτε μέσω άμεσης στεφανιαίας αγγειοδιαστολής, είτε μέσω επαγωγής της νεοαγγειογένεσης, δημιουργώντας έτσι ευνοϊκές συνθήκες για την παροχή θρεπτικών ουσιών και οξυγόνου στον ισχαιμικό ιστό.

Η χορήγηση της αυξητικής ορμόνης και του IGF-1 στη διάρκεια του OEM μειώνει το μέγεθος του εμφράγματος. Οι Castagnino et al. περιόρισαν την εμφραγματική ζώνη μετά από απόφραξη της αριστεράς στεφανιαίας αρτηρίας σε επίμυες, χορηγώντας μία μόνο δόση AO (2 IU/Kg) ενδοπεριτοναϊκά την ώρα του χειρουργείου [239]. Υπολογίζοντας τη μάζα του νεκρωμένου ιστού με την χρώση Feulgen, κατέγραψαν σημαντική μείωση αυτής στην ομάδα που έλαβε ορμόνη κατά 86%. Σε ένα μοντέλο υπερέκφρασης IGF-1 στο μυοκάρδιο επιμύων, με την έγχυση ανάλογου αδενοϊού στην κορυφή της αριστεράς κοιλίας, η εφαρμογή 30 λεπτών ισχαιμίας και 24 ωρών επαναιμάτωσης είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της εμφραγματικής περιοχής, σε σχέση με τα controls, χωρίς παράλληλη αύξηση του κυκλοφορούντος IGF-1, υπονοώντας τοπική αυτοκρινή-παρακρινή προστατευτική δράση [240]. Ανάλογα αποτελέσματα ελήφθησαν μετά από 14 [140] (Εικ.18) και 30 [241] ημέρες χορήγησης αυξητικής ορμόνης μετεμφραγματικά σε επίμυες, υπολογίζοντας το μέγεθος του εμφράγματος 52 βδομάδες και 30 ημέρες μετά αντίστοιχα.

Σημαντική είναι η επίδραση των παραγόντων αυτών στον κυτταρικό θάνατο που επισυμβαίνει στο μυοκάρδιο μετεμφραγματικά. Σε αυτόν υπάγονται η κυτταρική νέκρωση και η κυτταρική απόπτωση. Η τελευταία



φαίνεται να σχετίζεται με την ανακατασκευή του τοιχώματος, την αναδιάταξη των μυοϊνιδίων και τη διάταση της καρδιακής κοιλότητας μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου. Έτσι, σε ποντίκια που υπερεκφράζουν τον IGF-1, η



Εικ.18 Αποτελέσματα της πρώιμης χορήγησης αυξητικής ορμόνης για 2 εβδομάδες στο μέγεθος του εμφράγματος επιμύων. Οι τιμές έχουν εκφρασθεί ως μέσοι όροι \pm τυπικό σφάλμα.

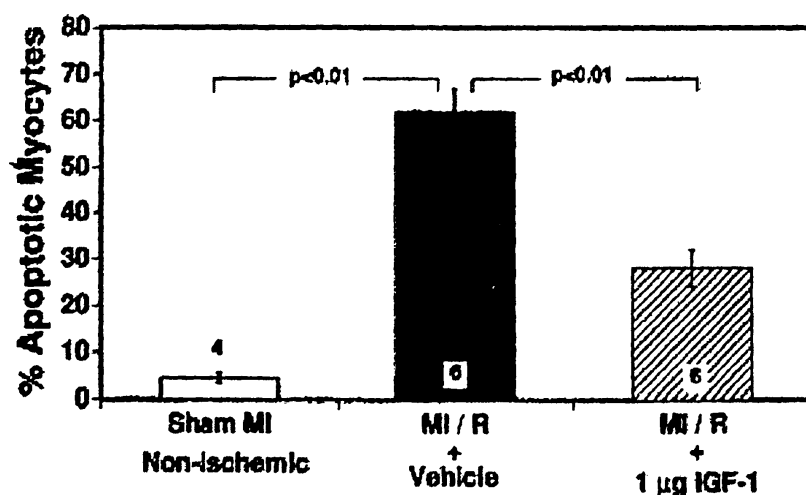
** $P < 0.01$, σε σχέση με την ομάδα που έλαβε φυσιολογικό ορό (vehicle).

πρόκληση εμφράγματος του μυοκαρδίου είχε σαν αποτέλεσμα την ελάττωση του κυτταρικού θανάτου μέσω της απόπτωσης [209]. Παρόμοιο αποτέλεσμα διαπιστώθηκε με την ενδοστεφανιαία χορήγηση IGF-1 σε χοίρους [242] και την εφάπαξ χορήγηση IGF-1 1 ώρα πριν την πρόκληση ισχαιμίας επαναιμάτωσης σε επίμυες [243] (Εικ.19).

Η παρατηρούμενη αντι-αποπτωτική επίδραση του IGF-1 φαίνεται ότι εξαρτάται από τα μονοπάτια διάδοσης σήματος PI3K και MEK1, με τη βοήθεια



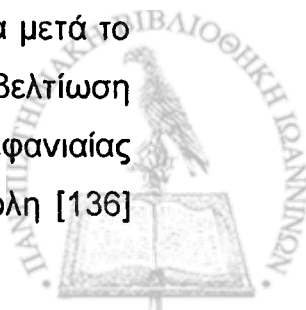
των οποίων φωσφορυλιώνονται τα AKT, BAD, ERK 1, ERK 2 και CREB (response element-binding protein), ενώ παράλληλα προάγει την αύξηση του αντι-αποπτωτικού παράγοντα bcl-2 [244].



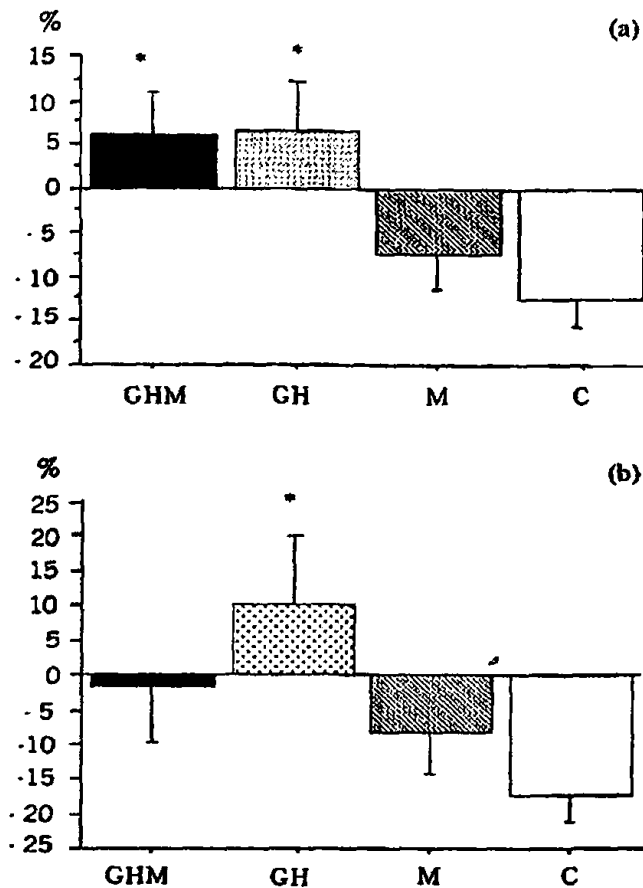
Εικ.19 Ποσοστό των πυρήνων που είναι θετικοί στην υπεροξειδάση (αποπτωτικοί κυτταρικοί πυρήνες) σε επίμυες που δεν υπέστησαν OEM (Sham-MI), που υπέστησαν ισχαιμία επαναιμάτωση (MI/R) και έλαβαν placebo (vehicle) ή IGF-1.

3.3.2. ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ

Αρκετές είναι οι μελέτες που καταδεικνύουν την ευεργετική επίδραση της αυξητικής ορμόνης στην καρδιακή συσπαστικότητα και λειτουργία μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου. Η συστηματική χορήγηση ΑΟ προκαλεί βελτίωση του κλάσματος εξώθησης σε επίμυες με απόφραξη της αριστεράς στεφανιαίας αρτηρίας, χορηγούμενη είτε μόνη, είτε σε συνδυασμό με μετοπρολόλη [136]

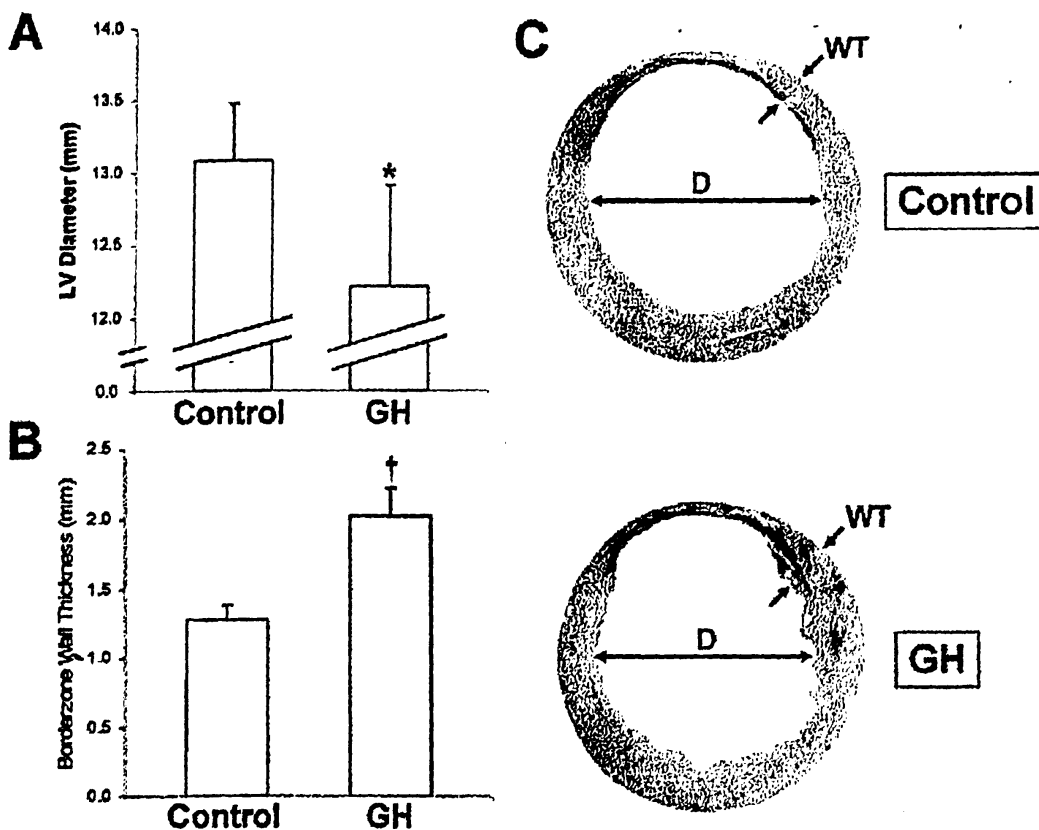


(Εικ.20), ενώ η τοπική υπερέκφρασή της στο μυοκάρδιο, με την έγχυση σε αυτό αδενοϊού που κωδικοποιεί το μόριό της, ελαττώνει τις διαστάσεις της αριστεράς κοιλίας και αυξάνει τους δείκτες της καρδιακής συσπαστικότητας, προκαλώντας τοπική υπερτροφία [146, 245] (Εικ.21). Ανάλογες επιδράσεις φαίνεται να ασκεί και ο IGF-1 [139, 209].



Εικ.20 Βελτίωση του κλάσματος εξώθησης και του πάχους του οπισθίου τοιχώματος της αριστεράς κοιλίας σε επίμυες με απόφραξη της αριστεράς στεφανιαίας αρτηρίας, μετά από χορήγηση ΑΟ είτε μόνης, είτε σε συνδυασμό με μετοπρολόλη. Κλάσμα εξωθήσεως (a) και πάχυνση οπισθίου τοιχώματος (b), ως ποσοστό μεταβολής. C, control group; GH, GH treated group; M, metoprolol group; GHM, GH+metoprolol treated group. Οι τιμές είναι μέσες τιμές \pm τυπικό σφάλμα. * $P < 0.05$ vs. controls.





Εικ.21 Επίδραση της τοπικής υπερέκφρασης ΑΟ στο μυοκάρδιο, με την έγχυση σε αυτό αδenoϊού που κωδικοποιεί το μόριό της, στις διαστάσεις της αριστεράς κοιλίας και το πάχος του borderzone, μετά από ΕΜ. (Α) Μέση διάμετρος της αριστερής κοιλίας στο τέλος του πειράματος. (Β) Μέσο πάχος του borderzone στο τέλος του πειράματος. (C) Αντιπροσωπευτικές εγκάρσιες τομές της αριστερής κοιλίας. Τα βέλη δείχνουν τη διάμετρο (D) και το πάχος του τοιχώματος (WT). * $p < 0.05$, † $p < 0.001$. (GH = growth hormone· LV = left ventricular.)



Σε αντίθεση με τα προηγούμενα, οι Mill et al ανέφεραν ότι η πρώιμη χορήγηση αυξητικής ορμόνης μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου είχε αρνητική επίδραση στην αναδιαμόρφωση της αριστεράς κοιλίας. Χορηγώντας ΑΟ, αμέσως μετά την απόφραξη του αγγείου και για 30 ημέρες, παρατήρησαν ότι αυξήθηκαν οι διαστάσεις της αριστεράς κοιλίας και ελαττώθηκε το κλάσμα εξωθήσεως σε σχέση με τους επίμυες που δεν έλαβαν αγωγή, ενώ η επιτευχθείσα τάση των μυοκαρδιακών ινών, *in vitro* και υπό την επίδραση ισοπροτενερόλης ή ασβεστίου, βρέθηκε μειωμένη [246]. Σημαντικός παράγοντας στη βλαπτική επίδραση της αυξητικής ορμόνης στα μηχανικά χαρακτηριστικά του μυοκαρδίου ήταν η προαγωγή ενός έκκεντρου προτύπου υπερτροφίας, ανίκανου να συμβάλει στην ενίσχυση της καρδιακής αντλίας.

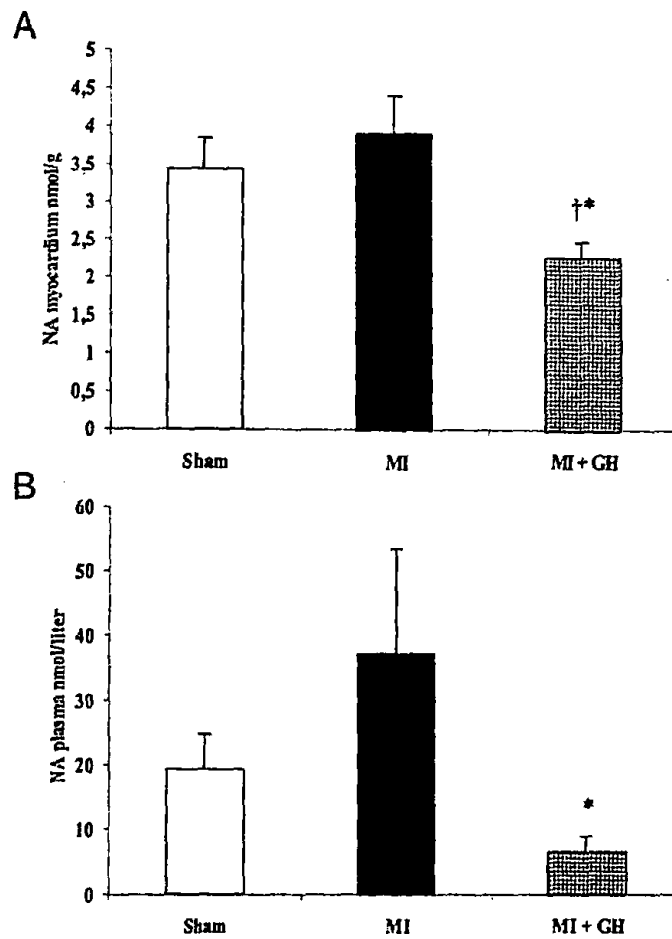
3.3.3. ΝΕΟΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗ ΚΑΙ ΑΥΤΟΝΟΜΟ ΝΕΥΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Σημαντική είναι η επίδραση του IGF-1 στην παραγωγή νέων αγγείων μετεμφραγματικά. Η ενδοστεφανιαία χορήγηση IGF-1 σε χοίρους που υπόκεινται σε έμφραγμα του μυοκαρδίου με μικροεμβολισμό προκάλεσε τη δημιουργία νέων τριχοειδών τόσο στην περι-, όσο και στην εμφραγματική περιοχή, δημιουργώντας ευνοϊκότερες συνθήκες για την κυτταρική λειτουργία και επιβίωση [242]. Επιπλέον, η ενδομυοκαρδιακή ένεση IGF-1 αμέσως μετά την πρόκληση εμφράγματος του μυοκαρδίου σε ποντίκια [247] ή σκύλους [248], προήγαγε την κινητοποίηση των αρχέγονων πολυδύναμων καρδιακών κυττάρων (stem cells), με αποτέλεσμα τη δημιουργία νέων λειτουργικών μυοκαρδιακών κυττάρων και αγγείων, με περαιτέρω θετικό αντίκτυπο στην επιβίωση και καρδιακή συσπαστικότητα.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει η σχέση μεταξύ του άξονα αυξητικής ορμόνης /IGF-1 και αυτόνομου νευρικού συστήματος. Η σχέση αυτή είναι πολύπλοκη και όχι πλήρως κατανοητή στην παρούσα φάση. Ως γνωστόν, τόσο η αυξητική ορμόνη, όσο και το συμπαθητικό νευρικό σύστημα, είναι μέλη της οξείας νευροορμονικής απάντησης στο stress [249-251]. Κλινικές μελέτες δείχνουν ότι η ΑΟ μπορεί να έχει συγκεκριμένη επίδραση στη ρύθμιση του συμπαθητικού τόνου, καθώς ασθενείς με έλλειψη ΑΟ παρουσιάζουν σημαντική ενεργοποίηση των συμπαθητικών νευρικών ινών των σκελετικών μυών [252]. Επιπλέον, η αγωγή με ΑΟ ασθενών με διατακτική μυοκαρδιοπάθεια συνεπάγεται μείωση της συμπαθητικής ενεργοποίησης του

μυοκαρδίου σε συνθήκες stress [174]. Μέσα στα πλαίσια αυτά, οι Omerovic et al διαπίστωσαν ότι η χορήγηση ΑΟ για 3 βδομάδες σε επίμυες με έμφραγμα του μυοκαρδίου προκάλεσε σημαντική μείωση των επιπέδων νοραδρεναλίνης τόσο του ορού, όσο και του μυοκαρδίου (Εικ.22), μείωση του εγκεφαλικού νατριουρητικού πεπτιδίου πλάσματος (BNP) και βελτίωση της ενεργειακής κατάστασης της αριστεράς κοιλίας, όπως αυτή υπολογίζεται από τη σχέση PCr/ATP [134]. Η ελάττωση του μυοκαρδιακού και συστηματικού φορτίου σε νοραδρεναλίνη θα μπορούσε να έχει προστατευτική επίδραση στην πρώιμη φάση του εμφράγματος. Πειραματικές έρευνες έχουν δείξει ότι η νοραδρεναλίνη, σε υψηλές συγκεντρώσεις, ασκεί άμεσες βλαπτικές επιδράσεις στο μυοκάρδιο, όπως προαγωγή της κυτταρικής νέκρωσης, διέγερση της απόπτωσης, αύξηση της διάμεσης ίνωσης και αρρυθμιογένεση [253, 254]. Ανάλογη μείωση του μυοκαρδιακού φορτίου σε νοραδρεναλίνη διαπιστώθηκε και σε διαγονιδιακά ποντίκια που υπερεκφράζουν αυξητική ορμόνη στον εγκέφαλο, καθιστώντας βάσιμη την υπόθεση ότι η αυξητική ορμόνη αναστέλλει τη δράση του συμπαθητικού νευρικού συστήματος σε κεντρικό επίπεδο [255].





Εικ.22 Επίδραση της πρώιμης χορήγησης αυξητικής ορμόνης στα επίπεδα της νοραδρεναλίνης στην αριστερά κοιλία (A) και στον ορό (B) επιμύων, μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου.

A: † $P < 0.01$ vs. Sham.

* $P < 0.01$ vs. control (MI).

B: * $P < 0.05$ vs. control (MI).



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο

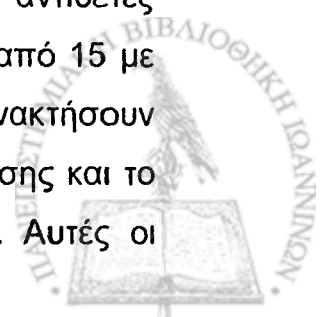
ΑΡΡΥΘΜΙΕΣ ΣΤΗΝ ΟΞΕΙΑ ΦΑΣΗ ΤΟΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ

4.1. ΗΛΕΚΤΡΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΚΑΙ ΠΟΛΥΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΕΠΙΠΕΔΟ

Η διακοπή της κυκλοφορίας του αίματος σε ένα στεφανιαίο αγγείο συνεπάγεται μέσα σε 2 με 3 λεπτά τη μετατόπιση του δυναμικού ηρεμίας των μυοκαρδιακών κυττάρων που ισχαιμούν από τα -85 mV στα -60 mV. Η αρχική αυτή πτώση στο διαστολικό δυναμικό συνοδεύεται από μικρή αύξηση στη διεγερσιμότητα των κυττάρων. Με την περαιτέρω πτώση και την παράλληλη αύξηση του εξωκυττάριου καλίου $[K^+]_o$, το μέγεθος και ο μέγιστος ρυθμός της εκπόλωσης κατά τη διάρκεια του δυναμικού ενεργείας μειώνονται, και η διεγερσιμότητα πέφτει. Έτσι, μετά από 2 λεπτά ισχαιμίας, η ταχύτητα αγωγής μειώνεται [256]. Η ενεργοποίηση των κοιλιών, η οποία φυσιολογικά ολοκληρώνεται σε 80 με 100 ms, απαιτεί τώρα 200 με 300 ms.

Η καθυστέρηση στην αγωγή είναι ιδιαίτερα εμφανής στις επικαρδιακές περιοχές, ενώ η ενεργοποίηση των υπενδοκαρδιακών περιοχών παραμένει σχετικά φυσιολογική. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε μια σχετικά υψηλότερη μερική τάση οξυγόνου υπενδοκάρδια, χάρη στην άμεση διάχυση από την καρδιακή κοιλότητα [257].

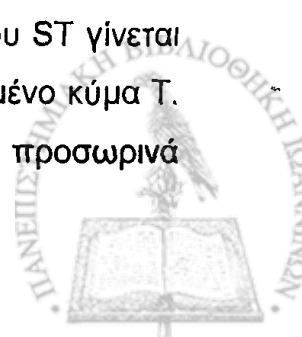
Αρχικά, η διάρκεια του δυναμικού ενεργείας (ΔΔΕ) είναι ελαφρά παρατεταμένη [258, 259], αλλά γρήγορα βραχύνεται. Τυπική για την ισχαιμία είναι η μεγάλη απόλυτη ανερέθιστη περίοδος (ΑΑΠ), που ακολουθεί τη μειωμένη ΔΔΕ. Έτσι, η ΑΑΠ και η ΔΔΕ μεταβάλλονται προς αντίθετες κατευθύνσεις. Ακολουθεί Πλήρης ανερεθιστότητα. Εντούτοις, μετά από 15 με 20 λεπτά, κύτταρα στο μέσον του εμφράγματος μπορεί να ανακτήσουν προσωρινά τη διεγερσιμότητά τους, αν και η ταχύτητα μεγιστοποίησης και το μέγεθος του δυναμικού ενεργείας (ΔΕ) παραμένουν ελαττωμένα. Αυτές οι



αλλαγές σχετίζονται με μια μαζική απελευθέρωση κατεχολαμινών [260], με το άνοιγμα της παράπλευρης κυκλοφορίας, και με μια μικρή μείωση του $[K^+]_o$. Μετά από 30 λεπτά ισχαιμίας, τα κύτταρα εκπολώνονται περαιτέρω και η αγωγή αναστέλλεται πλήρως [256].

Όλες αυτές οι μεταβολές δεν συμβαίνουν ομοιογενώς στο κοιλιακό μυοκάρδιο, και η ανομοιογένεια είναι ιδιαίτερα εμφανής στην περιεμφραγματική ζώνη (borderzone). Αυτή η ζώνη περιορίζει το έμφρακτο προς όλες τις κατευθύνσεις, δηλαδή τόσο επιφανειακά όσο και διατοιχωματικά. Η ύπαρξη διαφορών είναι αναμενόμενη: διαφορές στη ΔΔΕ υπάρχουν και σε φυσιολογικές συνθήκες, μεταξύ επι- ενδοκαρδίου [261], μεταξύ κορυφής, ελεύθερου τοιχώματος και μεσοκοιλιακού διαφράγματος [262], και μεταξύ αριστερής και δεξιάς κοιλίας [263]. Ο διαχωρισμός μεταξύ ΔΔΕ και ΑΑΠ είναι λιγότερο σημαντικός ή και απών στην περι-εμφραγματική περιοχή: εδώ και οι δύο μειώνονται. Και στις δύο πλευρές του borderzone η διεγερσιμότητα μπορεί να αυξηθεί. Ο ουδός πυροδότησης μειώνεται στην ισχαιμική πλευρά εξαιτίας της αύξησης του $[K^+]_o$, και στη μη ισχαιμική εξαιτίας της εκπόλωσης που προκαλείται από το ρεύμα βλάβης [256, 264]. Στο ενδοκαρδιακό borderzone, το ρεύμα βλάβης μπορεί να επηρεάσει το σύστημα Purkinje με τέτοιο τρόπο, ώστε ο προηγουμένως κεκαλυμμένος αυτοματισμός να γίνεται τώρα εμφανής. Το μέγιστο του ρεύματος βλάβης παρατηρείται όταν η ενεργοποίηση της ισχαιμικής ζώνης συμβαίνει τη στιγμή που η φυσιολογική ζώνη ήδη επαναπολώνεται [264].

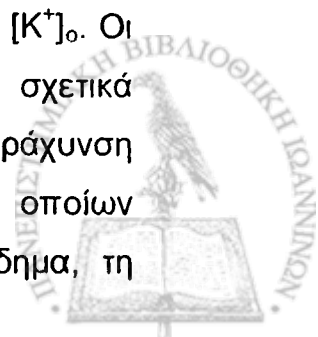
Στο ηλεκτροκαρδιογράφημα, όταν αυτό λαμβάνεται με άμεσο και ενισχυτικό του ρεύματος ηλεκτρόδιο να κοιτά την ισχαιμική περιοχή, η πτώση του δυναμικού ηρεμίας τα πρώτα λεπτά αντανakλάται στην αρχική πτώση του διαστήματος TQ [265]. Στο κλασικό ΗΚΓ, αυτό φαίνεται ως ανύψωση του ST διαστήματος. Η ενδογενοειδής απόκλιση αυξάνεται και το QRS διευρύνεται. Μετά από 5 λεπτά, το τμήμα ST ανυψώνεται κι άλλο εξαιτίας του βραχύτερου ΔΕ στην ισχαιμική περιοχή του μυοκαρδίου. Αργότερα, όταν η ενεργοποίηση της ισχαιμικής περιοχής καθυστερείται σημαντικά, η ανύψωση του ST γίνεται ακόμη πιο έκδηλη και συνοδεύεται από ένα σημαντικά ανεστραμμένο κύμα T. Μετά από 8 με 15 λεπτά, η τοπική δραστηριότητα επανακάμπτει προσωρινά και αυτό συνοδεύεται από διακυμάνσεις του κύματος T [266].



Η κύρια αιτία για την αύξηση του δυναμικού ηρεμίας στην ισχαιμία είναι η αύξηση του $[K^+]_o$ και η ταυτόχρονη ύπαρξη ενός εσώτροπου ρεύματος καλίου. Οι υπεύθυνοι μηχανισμοί για την αύξηση του $[K^+]_o$ περιλαμβάνουν την αυξημένη έξοδο καλίου, τη μειωμένη είσοδο καλίου και ως ένα βαθμό τη συρρίκνωση του εξωκυττάριου χώρου. Το εσώτροπο ρεύμα καλίου είναι υπεύθυνο για τη διατήρηση των συγκεντρώσεων καλίου στις δύο πλευρές της κυτταρικής μεμβράνης, και αντιπροσωπεύει την κινητήριο δύναμη για την προς τα έξω μετακίνηση καλίου.

Η ελάττωση στο μέγεθος και στην ταχύτητα επίτευξης του δυναμικού ενεργείας οφείλεται στη μείωση της προς τα μέσα μετακίνησης νατρίου και στην ταυτόχρονη αύξηση των εξωτρόπων ρευμάτων. Η αγωγιμότητα του νατρίου μειώνεται εξαιτίας της απενεργοποίησης των καναλιών νατρίου από την πτώση του δυναμικού ηρεμίας και από τη δράση στη πρωτεΐνη του διαύλου νατρίου των λιπαρών οξέων, του οξειδωτικού stress και της οξέωσης [267, 268]. Η προς τα έξω μεταφορά νατρίου μειώνεται περαιτέρω ένεκα της πτώσης της διαφοράς συγκέντρωσης, η οποία οφείλεται στην αύξηση του ενδοκυττάριου νατρίου $[Na^+]_i$, που προκαλείται από την αυξημένη παθητική εισροή και τη μειωμένη ενεργό μεταφορά προς τα έξω [269].

Οι αλλαγές στη ΔΔΕ συνίστανται σε αρχική παράταση, η οποία ακολουθείται από σημαντική βράχυνση. Η προσωρινή αρχική παράταση μπορεί εν μέρει να εξηγηθεί από την πτώση της τοπικής θερμοκρασίας ($>1^\circ C$) [270]. Άλλες ερμηνείες συμπεριλαμβάνουν την αναστολή της ηλεκτρογεννητικής αντλίας ιόντων, την πτώση του I_{K1} ως συνέπεια της ενδοκυττάριας οξείδωσης, και την οξεία αναστολή του I_{to} [258]. Η βράχυνση της ΔΔΕ, που ακολουθεί και είναι πιο έντονη, προκαλείται από αύξηση της προς τα έξω μετακίνησης καλίου στο δυναμικό του plateau. Οι διάυλοι καλίου που εμπλέκονται δεν είναι οι διάυλοι που ενεργοποιούνται κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, αλλά ειδικοί διάυλοι που παίζουν ρόλο μόνο στην ισχαιμία. Μεταφέρουν μεγάλα ποσά καλίου με τρόπο ανεξάρτητο του χρόνου και διεγείρεται η δράση τους σε συνθήκες φυσιολογικού ή αυξημένου $[K^+]_o$. Οι διάυλοι που ενεργοποιούνται σε φυσιολογικές συνθήκες είναι σχετικά αδρανείς στην ισχαιμία. Μια δεύτερη πηγή φορτίων που προκαλεί βράχυνση της ΔΔΕ είναι οι ενεργοποιημένοι διάυλοι χλωρίου, η δράση των οποίων προάγεται από τη διέγερση των β-υποδοχέων, το ωσμωτικό οίδημα, τη



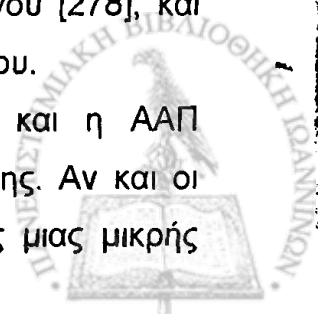
μηχανική διάταση, την προσθήκη ATP και την αύξηση του ενδοκυττάριου ασβεστίου.

Η βράχυνση της ΔΔΕ στο borderzone οφείλεται κυρίως στο ρεύμα βλάβης παρά σε μεταβολές στην αγωγιμότητα των ιόντων [271].

Όσον αφορά στη διεγερσιμότητα κατά τη διάρκεια των πρώτων λεπτών της ισχαιμίας, αυτή αυξάνεται στο κέντρο της ισχαιμικής περιοχής. Ο ουδός πυροδότησης δε μεταβάλλεται, αλλά απαιτείται μικρότερο ρεύμα για να επιτευχθεί λόγω της εκπόλωσης της κυτταρικής μεμβράνης. Αργότερα, η διεγερσιμότητα βαθμιαία μειώνεται, εξαιτίας κυρίως της απενεργοποίησης των διαύλων νατρίου, λόγω της προαναφερθείσας εκπολώσεως. Αυτή η μείωση στη διεγερσιμότητα είναι πιο έντονη στις επικαρδιακές παρά στις ενδοκαρδιακές ίνες [272]. Μερικά κύτταρα ανακτούν τη διεγερσιμότητά τους μετά από 15 λεπτά ισχαιμίας. Αυτό μπορεί να προκαλείται από υπερπόλωση, ως αποτέλεσμα της απομάκρυνσης του εξωκυττάριου καλίου από την παράπλευρη κυκλοφορία, και/ή της διέγερσης της αντλίας Na^+/K^+ λόγω της μαζικής απελευθέρωσης κατεχολαμινών [273] και της αύξησης του ενδοκυττάριου ασβεστίου [274]. Οι κατεχολαμίνες στα εκπολωμένα κύτταρα διευκολύνουν την πρόκληση δυναμικών ενεργείας μέσω ασβεστίου, αυξάνοντας την αγωγιμότητα ασβεστίου της κυτταροπλασματικής μεμβράνης [275]. Η παράπλευρη κυκλοφορία δεν μπορεί να είναι ο μόνος λόγος για την ανάκτηση της διεγερσιμότητας, καθώς ο πειραματικός εμβολισμός αυτής δεν αποτρέπει την εμφάνιση του φαινομένου [276]. Άλλοι έχουν συνδέσει το φαινόμενο με μια αύξηση στην επιμήκη αντίσταση. Μετά από 30 λεπτά, μια νέα φάση απώλειας της διεγερσιμότητας ξεκινά, η οποία οφείλεται στη δευτερεύουσα αύξηση της απώλειας καλίου από τα κύτταρα, και στην ακόλουθο πτώση του ATP σε πολύ χαμηλά επίπεδα.

Σε αντίθεση με τη ΔΔΕ, η ΑΑΠ παρατείνεται στην ισχαιμική ζώνη. Αυτό οφείλεται στην καθυστέρηση ανάκαμψης από την απενεργοποίηση των διαύλων νατρίου, στην αναστολή των διαύλων νατρίου λόγω της οξειδωσης [267], του LCAC, LPC [277] και των ελεύθερων ριζών οξυγόνου [278], και στην τοπική επίδραση του ανοίγματος διαύλων καλίου και χλωρίου.

Στην περιεμφραγματική περιοχή, τόσο η ΔΔΕ όσο και η ΑΑΠ βραχύνονται. Αυτό οφείλεται στην ύπαρξη του ρεύματος βλάβης. Αν και οι δίαυλοι νατρίου μπορεί να έχουν ελαφρώς ανασταλεί εξαιτίας μιας μικρής



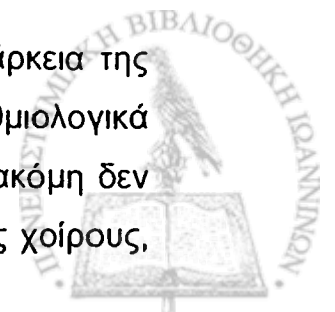
εκπόλωσης, η αύξηση στην αγωγιμότητα απουσιάζει. Η ολική διάρκεια της ΑΑΠ είναι μικρή και η επάνοδος μετά την επαναπόλωση γρήγορη [264]. Εντούτοις, μια έντονη ποικιλότητα στην ΑΑΠ υπάρχει σε όλο το borderzone, συνθήκη η οποία ευνοεί τις αρρυθμίες επανεισόδου. Η διέγερση του συμπαθητικού προάγει αυτήν την ποικιλότητα [279].

Η ταχύτητα αγωγής καθορίζεται από ενεργητικές (ύψος και ταχύτητα του ΔΕ) και παθητικές ιδιότητες της μυοκαρδιακής ίνας, και πιο συγκεκριμένα την αντίσταση της κυτταρικής μεμβράνης, την επιμήκη αντίσταση του κυττάρου, την αντίσταση του εξωκυττάρου διαμερίσματος και την αρχιτεκτονική του ιστού [280]. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η αγωγή είναι ομοιόμορφα ανισοτροπική, πιο γρήγορη στην επιμήκη παρά στην εγκάρσια κατεύθυνση. Όλες αυτές οι παράμετροι αλλάζουν νωρίς κατά τη διάρκεια της ισχαιμίας και επιδρούν στην ταχύτητα της αγωγής αρνητικά. Σε αυτό το στάδιο, η μείωση στο μέγεθος και στην ταχύτητα ανόδου του ΔΕ μαζί με την αυξημένη αγωγιμότητα της μεμβράνης στην ηρεμία και την άνοδο της εξωκυττάριας αντίστασης (εξαιτίας της σύμπτωσης των αγγείων και του κυτταρικού οιδήματος) είναι πιο σημαντικές [281]. Σε μεταγενέστερο στάδιο (>15 λεπτά), η επιμήκης κυτταρική αντίσταση αυξάνεται δραματικά και προκαλεί σημαντική επιβράδυνση της αγωγής. Αυτή η αλλαγή οφείλεται στο κλείσιμο των χασματικών συνδέσεων, λόγω αύξησης του ενδοκυττάρου H^+ και Ca^+ [282], επίδρασης του LCAC [283] και πτώσης του ATP. Οι μεταβολές στις χασματικές συνδέσεις δεν είναι ομοιόμορφες σε όλο το έμφρακτο και αποτελούν αίτιο για τη γέννηση αρρυθμιών. Ακόμη και μετά την απομόνωση ζευγών κυττάρων από ισχαιμικό μυοκάρδιο αυτή η ανομοιογένεια παραμένει [284].

4.2. ΑΡΡΥΘΜΙΕΣ ΜΕΤΑ ΤΟ ΟΞΥ ΕΜΦΡΑΓΜΑ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ

4.2.1. ΦΑΣΗ I

Η φάση I των αρρυθμιών που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια της οξείας ισχαιμίας του μυοκαρδίου περιλαμβάνει όλα τα αρρυθμολογικά γεγονότα που συμβαίνουν τα πρώτα 30 λεπτά της ισχαιμίας, όταν ακόμη δεν έχει επέλθει ανεπανόρθωτη κυτταρική βλάβη. Στους σκύλους, τους χοίρους,

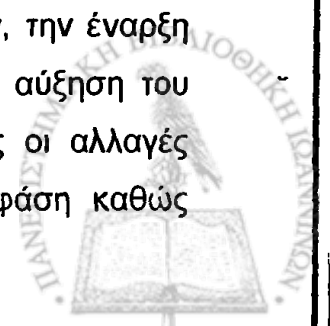


τα πρόβατα και τους επίμους η φάση αυτή μπορεί να διαιρεθεί σε φάσεις Ia και Ib. Ανάλογος διαχωρισμός και στους ανθρώπους δεν μπορεί να γίνει με απόλυτη βεβαιότητα, αλλά υπάρχουν ενδείξεις ότι και στους ανθρώπους διακρίνεται μια πρώιμη και μια όψιμη περίοδος αυξημένης αρρυθμογένεσης μετά το OEM [285].

Οι αρρυθμίες της φάσης Ia (2 με 10 λεπτά από την απόφραξη) είναι συνήθως του τύπου της κοιλιακής ταχυκαρδίας (VT) και σπάνια εξελίσσονται σε κοιλιακή μαρμαρυγή (VF). Μελέτες χαρτογράφησης έχουν αναδείξει ότι ο μηχανισμός δημιουργίας τους είναι η επανείσοδος [286], με το ερέθισμα να ακολουθεί μια πολύ μεγάλη διαδρομή μέσα στον ισχαιμικό ιστό, ή δύο μέτωπα να ταξιδεύουν γύρω από μια περιοχή αποκλεισμού της αγωγής σε σχήμα οκτώ. Πριν την εμφάνιση της αρρυθμίας παρατηρείται συχνά εναλλαγή των κυμάτων T και βαθιά αρνητικά κύματα T, τα οποία προκαλούνται από τις σημαντικές διαφορές στην ενεργοποίηση και επαναπόλωση των κυττάρων.

Το αρχικό ερέθισμα ξεκινά κοντά στο ισχαιμικό borderzone [287]. Η φύση του εναρκτήριου ερεθίσματος έχει μελετηθεί στις γάτες και έχει βρεθεί να είναι διατοιχωματική επανείσοδος στο 76 % των περιπτώσεων και πρώιμες εκπολώσεις από το υπενδοκάρδιο ή το επικάρδιο, λόγω τοπικών μηχανισμών, στο υπόλοιπο 24 % [286]. Ένας από αυτούς είναι και η διέγερση από το ρεύμα βλάβης. Αυτό ρέει στο borderzone μεταξύ ισχαιμικής και μη περιοχής κατά τη διάρκεια της διαστολής, εξαιτίας διαφορών στο δυναμικό ηρεμίας, αλλά πολύ περισσότερο κατά τη διάρκεια της συστολής, εξαιτίας διαφορών στη ΔΔΕ και καθυστερήσεις στην ενεργοποίηση. Το ρεύμα αυτό μπορεί να προκαλέσει επαναδιέγερση φυσιολογικών κυττάρων ή και αυξημένο αυτοματισμό. Κατά τη διάρκεια των βαθιών αρνητικών T, το ρεύμα βλάβης είναι πολύ μεγαλύτερο από ότι στη διαστολή. Δεν είναι απροσδόκητο το γεγονός ότι οι αρχικοί παλμοί της ταχυκαρδίας συχνά ακολουθούν βαθιά αρνητικά T.

Οι αρρυθμίες της φάσης Ib (20 με 30 λεπτά) είναι λιγότερο μελετημένες. Είναι ταυτόχρονες με μια μαζική απελευθέρωση κατεχολαμινών, την έναρξη μιας σημαντικής αύξησης της επιμήκους αντίστασης [288], την αύξηση του εξωκυττάριου καλίου και του ενδοκυττάριου ασβεστίου. Αυτές οι αλλαγές ευνοούν την επανείσοδο. Πρόκειται για μια πιο επικίνδυνη φάση καθώς σημαντικό ποσοστό των VT καταλήγει σε VF και θάνατο.



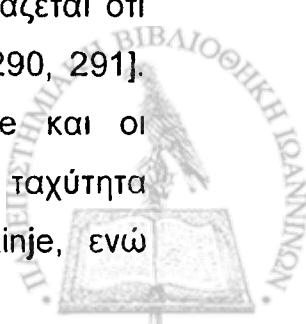
4.2.2.° ΦΑΣΗ II

Οι αρρυθμίες αυτής της φάσης συμβαίνουν μετά από 90 τουλάχιστον λεπτά ισχαιμίας, όταν η νέκρωση του μυοκαρδίου ξεκινά και εξελίσσεται για τις επόμενες λίγες ώρες. Οι αρρυθμίες που συμβαίνουν στην χρόνια ισχαιμία δεν αποτελούν αντικείμενο του παρόντος συγγράμματος κι έτσι δεν θα αναφερθούν οι υπεύθυνοι για αυτές παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί.

Αν και η φάση I των μετεμφραγματικών αρρυθμιών έχει μελετηθεί αρκετά από παθοφυσιολογική και φαρμακολογική άποψη, δεν ισχύει το ίδιο και για τη φάση II. Αυτό συμβαίνει γιατί πολλές πειραματικές μελέτες χρησιμοποιούν *in vitro* μοντέλα ισχαιμίας, τα οποία δεν παρουσιάζουν την ίδια διφασικότητα, σε σχέση με τις αρρυθμίες, με αυτήν που παρατηρείται σε όλα τα είδη των ζώων *in vivo*. Ένας άλλος λόγος για την πλημμελή μελέτη της φάσης αυτής είναι η υψηλή θνητότητα της φάσης I, που καθιστά ασύμφορη και χρονοβόρο τη μελέτη της φάσης II, καθώς και η ανάγκη παρατεταμένης αναισθησίας του πειραματοζώου, η οποία επηρεάζει τις φυσιολογικές διαδικασίες και μετρήσεις κατά τη διάρκεια του πειράματος.

Η φάση II συμπίπτει με την έναρξη και ολοκλήρωση της νέκρωσης του μυοκαρδίου. Αυτή η περίοδος συνοδεύεται από αρκετές μεταβολικές, ιοντικές και ηλεκτροφυσιολογικές μεταβολές. Μεταβολικά χαρακτηρίζεται από χαμηλά ενδοκυττάρια επίπεδα γλυκογόνου και υψηλά γαλακτικού οξέος, με διακοπή της αναερόβιας γλυκόλυσης και μείωση του ATP και της φωσφορικής κρεατίνης στο 10 και 2 % του φυσιολογικού, αντιστοίχως [289]. Επιπλέον, η δεξαμενή νουκλεοτιδίων αδενίνης αποτελείται κυρίως από AMP και δημιουργούνται υψηλά ενδοκυττάρια επίπεδα ινοσίνης και υποξανθίνης, ως αποτέλεσμα της απαμίνωσης της αδενίνης [289]. Όσον αφορά στις ιοντικές αλλαγές, η συσσώρευση του εξωκυττάριου καλίου που ξεκινά στη φάση I συνεχίζεται και σε αυτή τη φάση. Αντιθέτως, τα ενδοκυττάρια επίπεδα καλίου ελαττώνονται. Ακόμη, παρατηρούνται υψηλές συγκεντρώσεις ενδοκυττάριου νατρίου και ασβεστίου.

Η κύρια εστία δημιουργίας αρρυθμιών σε αυτή τη φάση εικάζεται ότι είναι οι ίνες του Purkinje που επιβιώνουν αλλά δυσλειτουργούν [290, 291]. Μετά από μία ώρα ισχαιμίας, οι επιζώσες ίνες του Purkinje και οι μυοκαρδιακές ίνες παρουσιάζουν μειωμένα δυναμικά ηρεμίας και ταχύτητα ανόδου του ΔΕ [292]. Η ΔΔΕ βραχύνεται στις ίνες του Purkinje, ενώ



παρατείνεται στις μυοκαρδιακές ίνες ευνοώντας την επανείσοδο του ερεθίσματος [292].

Έτσι, ενώ η επανείσοδος και το ρεύμα βλάβης ευθύνονται για τις αρρυθμίες της φάσης I, η επανείσοδος και ο ανώμαλος αυτοματισμός (καθυστερημένες μετεκπολώσεις) φαίνεται να κυριαρχούν κατά τη διάρκεια ολοκλήρωσης του εμφράκτου. Από την άλλη, δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές στο ΗΚΓ και τις αιμοδυναμικές παραμέτρους που περιγράφουν τα λίγα δευτερόλεπτα που προηγούνται των κοιλιακών αρρυθμιών, είτε της μίας, είτε της άλλης φάσης [285].

Δυσερμήνευτη επίσης είναι και η απουσία επεισοδίων αρρυθμιών μεταξύ των δύο φάσεων [293], καθώς και η διακοπή της εμφάνισής τους μετά τις 8 με 10 ώρες. Πιθανές εξηγήσεις είναι η τελική απώλεια της διεγερσιμότητας των κυττάρων στον πυρήνα της ισχαιμικής περιοχής και η ολοκλήρωση της κυτταρικής νέκρωσης παρά τη συνεχιζόμενη φλεγμονώδη αντίδραση, αντιστοίχως [293].



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η αλληλεπίδραση της αυξητικής ορμόνης με το καρδιαγγειακό σύστημα είναι από παλιά γνωστή, καθώς τόσο στη μεγαλακρία, όσο και στην ανεπάρκεια της ορμόνης αυτής, παρατηρείται αυξημένη καρδιαγγειακή νοσηρότητα και θνησιμότητα.

Η χορήγηση αυξητικής ορμόνης σε ασθενείς με έλλειψή της έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της μάζας της αριστεράς κοιλίας, τη βελτίωση της λειτουργίας της και την αυξημένη ανοχή στην κόπωση των ασθενών.

Με βάση τις παρατηρήσεις αυτές, η αυξητική ορμόνη άρχισε να δοκιμάζεται ως θεραπευτικός παράγων στην καρδιακή ανεπάρκεια. Ως αναβολική ορμόνη, η αυξητική ορμόνη χορηγούμενη για μακρά διαστήματα προκαλεί υπερτροφία των μυοκαρδιακών κυττάρων, αύξηση της συσπαστικότητάς τους και βελτίωση της συστολικής λειτουργίας του μυοκαρδίου, δράσεις οι οποίες θεωρούνται ιδανικές για την αντιμετώπιση της καρδιακής ανεπάρκειας. Στην κατεύθυνση αυτή, πολλές μελέτες σε πειραματικά μοντέλα καρδιακής ανεπάρκειας ανέδειξαν σημαντικά πλεονεκτήματα από τη χορήγηση αυξητικής ορμόνης, αλλά περαιτέρω κλινικές μελέτες απέτυχαν να αποδείξουν ανάλογη ευεργετική επίδραση και στον άνθρωπο. Πιθανοί λόγοι για την εν λόγω αποτυχία είναι οι διαφορές στον χρόνο έναρξης, τη δοσολογία και τη διάρκεια της θεραπείας.

Παράλληλα, η αυξητική ορμόνη, καθώς και άλλοι αυξητικοί παράγοντες (όπως ο ιστικός διαμεσολαβητής της IGF-1, οι VEGF, PDGF, HGF κ.α.), φαίνεται να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο κατά τη διάρκεια του οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου. Στην πρώιμη μετεμφραγματική φάση, προκαλούνται μεταβολές στα τοπικά και συστηματικά επίπεδα της αυξητικής ορμόνης και του IGF-1 τόσο στα ζώα, όσο και στον άνθρωπο, ενώ διάφορα πειραματικά μοντέλα ισχαιμίας αναδεικνύουν ευεργετικές δράσεις της αυξητικής ορμόνης μετά το ΕΜ, όπως η μείωση της εμφραγματικής περιοχής,



η βελτίωση της αναδιαμόρφωσης της αριστεράς κοιλίας, η μείωση των κοιλιακών ανευρυσμάτων και η βελτίωση της επιβίωσης.

Η πρόωμη αυτή φάση του εμφράγματος συνοδεύεται από πολύ υψηλό κίνδυνο εμφάνισης κοιλιακών αρρυθμιών, οι οποίες ευθύνονται σε μεγάλο βαθμό και για την υψηλή θνητότητα της περιόδου αυτής. Όμως, η σχέση – αν υπάρχει – μεταξύ αυτών των αρρυθμιών και της αυξητικής ορμόνης δεν έχει διερευνηθεί μέχρι σήμερα. Η επίδρασή της ΑΟ στις ηλεκτροφυσιολογικές ιδιότητες του κοιλιακού μυοκαρδίου έχει μελετηθεί μόνο στην περίπτωση μεγαλακρικών ασθενών, στους οποίους διαπιστώθηκε αύξηση της επίπτωσης των αρρυθμιών στην ηρεμία και στην κόπωση, εύρημα το οποίο σχετίζεται με τη διάρκεια της νόσου και την προκαλούμενη υπερτροφία, και όχι με τα επίπεδα της ορμόνης στο αίμα.

Έτσι, σκοπός αυτής της μελέτης ήταν να καθοριστεί η επίδραση της πειραματικής χορήγησης της αυξητικής ορμόνης στην επίπτωση των αρρυθμιών, στην οξεία φάση του εμφράγματος. Παράλληλα, εκτός από τη μελέτη του αριθμού και της διάρκειας των αρρυθμικών επεισοδίων, σκοπός μας ήταν η ανάδειξη της μεταβολής των ηλεκτροφυσιολογικών χαρακτηριστικών της αριστεράς κοιλίας μετά το ΕΜ, όπως αυτά εκτιμώνται με τη χρήση των επικαρδιακών μονοφασικών δυναμικών ενεργείας.



ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6^ο

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

6.1. ΕΠΙΛΟΓΗ ΕΙΔΟΥΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΖΩΟΥ

Το είδος του πειραματοζώου που επιλέξαμε για τον έλεγχο της επίδρασης της αυξητικής ορμόνης στις ηλεκτροφυσιολογικές ιδιότητες της αριστεράς κοιλίας μετά από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου είναι ο επίμυς του γένους *Wistar*.

Στην επιλογή μας αυτή έπαιξαν ρόλο κάποια σημαντικά πλεονεκτήματα που παρουσιάζει το εν λόγω πειραματόζωο.

Καταρχήν, όπως έχει ήδη αναφερθεί, η πρώιμη μετεμφραγματική περίοδος στους επίμυες παρουσιάζει δύο διακριτές χρονικές περιόδους που εμφανίζουν υψηλό ποσοστό επεισοδίων κοιλιακής ταχυκαρδίας και μαρμαρυγής, όπως συμβαίνει και στον άνθρωπο [293].

Εκτός από τις ηλεκτροφυσιολογικές αυτές ομοιότητες, οι επίμυες παρέχουν ένα μοντέλο αξιόπιστο και επαναλήψιμο, με μικρές διακυμάνσεις στο προκαλούμενο μέγεθος του εμφράγματος. Για παράδειγμα, αν και οι μελέτες σε σκύλους έχουν προσφέρει πολύ στην βασική έρευνα, αυτό το μοντέλο παρουσιάζει σημαντικές διαφορές στη στεφανιαία ανατομία και το μέγεθος της παράπλευρης κυκλοφορίας, έχοντας ως αποτέλεσμα και ουσιαστικές διαφορές στη διατοιχωματικότητα και την έκταση των προκληθέντων εμφραγμάτων [294, 295]. Αντιθέτως, στους επίμυες προκαλείται μεγάλο διατοιχωματικό έμφραγμα με σταθερό και αναπαραγώγιμο τρόπο εξαιτίας της έλλειψης σημαντικής παράπλευρης κυκλοφορίας. Ακόμη και μικρές διαφορές στην παράπλευρη κυκλοφορία προκαλούν σημαντικές διαφορές στην αρρυθμογένεση, ασκώντας σημαντικότερη επίδραση και από το ίδιο το μέγεθος της ισχαιμικής περιοχής [294].



Ένας πρόσθετος παράγοντας που καθιστά την επιλογή των επιμύων ιδανική είναι η ιδιότητά τους να εμφανίζουν συχνά κοιλιακές αρρυθμίες κατά τη διάρκεια ισχαιμίας, αλλά χωρίς αυτές να είναι σε υψηλό ποσοστό θανατηφόρες [293, 296]. Αυτό το φαινόμενο έχει συνδεθεί με το μικρό μέγεθος της καρδιάς και τις ηλεκτροφυσιολογικές της ιδιότητες, την ηλικία του ζώου και την κατάσταση του αυτόνομου νευρικού συστήματος [297]. Έτσι, είναι εφικτή η μελέτη πολλών επεισοδίων κοιλιακών αρρυθμιών με μικρό αριθμό πειραματοζώων, αφού τα επεισόδια αυτά αυτοτερματίζονται σε ποσοστό μέχρι και 97% [293].

Επίσης, σημαντικό ρόλο παίζει και το γένος του επίμους. Οι Sprague-Dawley επίμους εμφανίζουν σημαντικά υψηλότερα μεγέθη εμφράγματος αλλά και ποσοστά θνητότητας, σε σχέση με τους Wistar, με αποτέλεσμα η χρήση τους να περιορίζει σημαντικά τη μελέτη της δεύτερης αρρυθμογόνου φάσης μετά το έμφραγμα, αλλά και να απαιτεί και μεγαλύτερο αριθμό πειραματοζώων [296].

Ολοκληρώνοντας, οι επίμους παρουσιάζουν ακόμη το πλεονέκτημα ότι έχουν μικρό μέγεθος, μικρό κόστος, εύκολη συντήρηση, αναπαράγονται σχετικά γρήγορα, ενώ οι περισσότερες παρεμβάσεις, χειρουργικές και μη, απαιτούν την παρουσία ενός μόνο ατόμου.

6.2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΟΝΤΕΛΟ

Η μελέτη διενεργήθηκε σε 63 θηλυκούς επίμους του γένους Wistar, ηλικίας 20 ± 1 εβδομάδων και βάρους 218 ± 16 γραμμαρίων. Τα πειραματόζωα έλαβαν την κατάλληλη φροντίδα και το πρωτόκολλο συμβαδίζει με τον οδηγό για τη φροντίδα και χρήση εργαστηριακών ζώων που έχει εκδοθεί από το US National Institutes of Health (NIH Publication No. 85-23, revised 1996). Όλοι οι επίμους παρέμειναν σε ένα ελεγχόμενο περιβάλλον, με σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας και 12άωρη εναλλαγή φωτός-σκότους, ενώ η πρόσβασή τους σε τροφή και νερό ήταν ελεύθερη.



6.2.1. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΑΥΞΗΤΙΚΗΣ ΟΡΜΟΝΗΣ

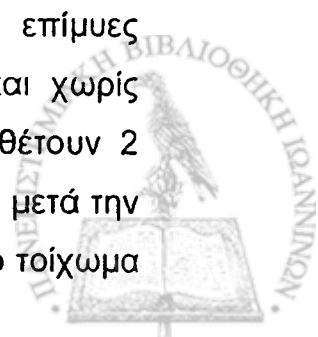
Οι επίμυες τυχαιοποιήθηκαν 1:1 ως προς τη χορήγηση ή όχι αυξητικής ορμόνης. Η οδός χορήγησης ήταν η ενδοπεριτοναϊκή, η οποία εξασφαλίζει τη βαθμιαία και ομαλή απορρόφηση του φαρμάκου. Η δόση καθορίστηκε στα 2 IU/kg χοίρειου αυξητικής ορμόνης (S-8648, Sigma-Aldrich Corporation, St Louis, MO, USA), ενώ οι επίμυες που δεν θα ελάμβαναν ΑΟ έλαβαν αντίστοιχο όγκο φυσιολογικού ορού (placebo). Σε αυτή τη δοσολογία, είναι γνωστό ότι η αυξητική ορμόνη παρουσιάζει καρδιοπροστατευτικές ιδιότητες μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου [239]. Ο χρόνος έγχυσης καθορίστηκε στις 24 ώρες και στα 30 λεπτά πριν την πρόκληση του εμφράγματος, ώστε να έχει ενεργοποιηθεί συστηματικά και τοπικά (στο μυοκάρδιο) ο άξονας ΑΟ/IGF-1 [298].

6.2.2. ΑΝΑΙΣΘΗΣΙΑ

Οι επίμυες αφού είχαν στερηθεί τροφή για τουλάχιστον 8 ώρες, τοποθετήθηκαν σε ένα «κουτί αιθέρα», όπου υπό την επίδραση του εν λόγω αερίου εισάγονταν στην αναισθησία. Στη συνέχεια ακολουθούσε η διαστοματική διασωλήνωση των πειραματοζώων, ώστε να είναι δυνατή η συνεχής χορήγηση αερίου αναισθητικού. Αυτή πραγματοποιούνταν με τη βοήθεια ενός φλεβοκαθετήρα 14G, του οποίου το αιχμηρό άκρο είχε αφαιρεθεί. Έτσι, το μεταλλικό στέλεχος χρησίμευε ως οδηγός, ενώ ο πλαστικός αυλός ως τραχειοσωλήνας. Οι φωνητικές χορδές γίνονταν εύκολα ορατές με τον εξωτερικό φωτισμό του τραχήλου και ενώ το ζώο βρισκόταν σε ύπτια θέση. Ακολούθως, διατηρούνταν η αναισθησία του ζώου με την προσθήκη στον εισπνεόμενο αέρα μίγματος 2% ισοφλουρανίου και οξυγόνου. Ο αναπνευστήρας που χρησιμοποιήσαμε είναι ειδικής κατασκευής για τρωκτικά (model 7025, Ugo Basile, Comerio, VA, Italy).

6.2.3. ΠΡΟΚΛΗΣΗ ΕΜΦΡΑΓΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΜΥΟΚΑΡΔΙΟΥ

Η πρόκληση οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου στους επίμυες πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με ήδη γνωστές μεθόδους [299], και χωρίς επίγνωση του αποτελέσματος της τυχαιοποίησης. Οι επίμυες διαθέτουν 2 μόνο κύριες στεφανιαίες αρτηρίες, την αριστερή και τη δεξιά. Αμέσως μετά την έκφυσή τους από την αορτή, και οι δύο εισέρχονται στο μυοκαρδιακό τοίχωμα



και περιβάλλονται εξ ολοκλήρου από καρδιακό μυ. Εξαιτίας αυτού, και σε συνδυασμό με το πολύ μικρό μέγεθός τους, είναι συχνά δύσκολο, αν όχι αδύνατο, να τις αναγνωρίσει κανείς οπτικά, ακόμη και με τη χρήση μεγεθυντικού φακού. Έτσι, είναι απαραίτητη η χρήση οδηγών σημείων για τον εντοπισμό τους και την πρόκληση εμφράγματος της αριστερής κοιλίας που μας ενδιαφέρει. Η αριστερά στεφανιαία αρτηρία λοιπόν, ξεκινά από την αορτή, σε επαφή με το αριστερό όριο του πνευμονικού κώνου, περίπου στο 1 χιλιοστόμετρο από την είσοδο του ωτίου στον αριστερό κόλπο. Αυτοί οι ανατομικοί σχηματισμοί είναι πάντοτε ορατοί και σε αυτό το σημείο είναι που πραγματοποιείται η απόφραξη του στεφανιαίου αγγείου, η οποία γίνεται με την απολίνωσή του με τη βοήθεια λεπτού ράμματος 6.0 με κυρτή βελόνα.

Για την απολίνωση της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας προηγείται η αναισθητοποίηση του ζώου με τη μέθοδο που αναφέραμε στην παράγραφο 6.2.2. Στη συνέχεια αφαιρείται όλο το τρίχωμα από την πρόσθια επιφάνεια του θώρακα, και ο επίμυς ακινητοποιείται στο χειρουργικό τραπέζι σε ύπτια θέση, με τη βοήθεια κολλητικής ταινίας για τα άκρα, ενώ οι άνω τομείς παγιδεύονται γύρω από δακτύλιο ίνας που συνδέεται σταθερά με το τραπέζι, ώστε να είναι αδύνατες οι ενδεχόμενες κινήσεις της κεφαλής.

Η τήρηση εντελώς άσηπτων συνθηκών δεν είναι απαραίτητη, αλλά θεμιτή είναι η αποστείρωση του δέρματος με ποβιδούχο ιοδίνη, η χρήση αποστειρωμένων εργαλείων και η χορήγηση βενζαθενικής πενικιλίνης κατά τη διάρκεια του πειράματος. Με αυτές τις συνθήκες, οι μολύνσεις είναι εξαιρετικά σπάνιες.

Ακολουθεί ο χειρουργικός διαχωρισμός των μυϊκών στρωμάτων του αριστερού πρόσθιου θωρακικού τοιχώματος και ο διαχωρισμός των μεσοπλευρίων μυών που καταλαμβάνουν το 4^ο ή 5^ο μεσοπλευρίο διάστημα. Στο δημιουργηθέν άνοιγμα τοποθετείται μικρός διαστολέας, ο οποίος επιτρέπει χειρισμούς επί της ορατής πλέον καρδιάς. Αφού γίνει διαχωρισμός του περικαρδίου από το υπόλοιπο όργανο, τοποθετείται μικρό ράμμα στην κορυφή της καρδιάς, με τη βοήθεια του οποίου η τελευταία φέρεται έξωθεν της θωρακικής κοιλότητας προς τα άνω και δεξιά, ώστε να αποκαλυφθεί ο πνευμονικός κώνος και το αριστερό ωτίο. Ακολουθώντας τα οδηγία σημεία που προαναφέραμε, διενεργείται απολίνωση της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας, η επιβεβαίωση της οποίας γίνεται με την παρατηρούμενη

υποκινησία και αλλαγή χρώματος της περιοχής που ισχαιμεί, καθώς και ηλεκτροκαρδιογραφικά. Έπειτα, αφαιρείται το ράμμα της κορυφής, κλείνει το θωρακικό τοίχωμα και αποκαθιστάται η χειρουργική τομή. Μια ελαφρά πίεση στα πλάγια του θωρακικού κλωβού συμβάλλει στην αποφυγή δημιουργίας σημαντικού πνευμοθώρακα.

6.2.4. ΕΜΦΥΤΕΥΣΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ HOLTER

- Σε όλους τους επίμους, 24 ώρες πριν την πρόκληση εμφράγματος του μυοκαρδίου τοποθετήθηκε σύστημα holter. Πρόκειται για ένα σύστημα που αποτελείται από έναν πομπό που εμφυτεύεται στην περιτοναϊκή κοιλότητα του ζώου, ικανό να μεταδίδει ηλεκτροκαρδιογραφικό σήμα αδιάκοπα, και από μια επιφάνεια-δέκτη, η οποία τοποθετείται κάτω από το κλουβί του επίμου. Η ασύρματη αυτή παρακολούθηση του καρδιακού ρυθμού επιτρέπει την πολύωρη καταγραφή των ΗΚΓσημάτων, χωρίς την επίδραση της αναισθησίας, η οποία επηρεάζει την εμφάνιση των κοιλιακών αρρυθμιών μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου [300], μέσω της επίδρασής της στις συγκεντρώσεις καλίου (αύξηση) και στο αυτόνομο νευρικό σύστημα.

Με τη συνεχή παροχή ΗΚΓ σήματος από τον εμφυτευμένο πομπό στην πλάκα-δέκτη, τα δεδομένα μεταφέρονται στην μνήμη ενός ηλεκτρονικού υπολογιστή, με τη βοήθεια του οποίου είναι δυνατή η αποθήκευση και επεξεργασία τους.

Η εμφύτευση γίνεται ως εξής: αφού το ζώο αναισθητοποιείται, γίνεται μέση τομή στην κοιλιακή χώρα, διάνοιξη της περιτοναϊκής κοιλότητας και τοποθέτηση σε αυτήν ενός ειδικού πομπού (TA11CA-F40 Data Sciences International), βάρους 7 γραμμαρίων και όγκου 3 cm³, ο οποίος διαθέτει δύο ανοξείδωτα, ικανού μήκους και διαμέτρου 0,6 mm καλώδια, τα οποία καλύπτονται από σιλικόνη καθ'όλο το μήκος τους, εκτός από τα 1 με 2 τελικά cm. Τα δύο αυτά άκρα χρησιμεύουν ως τα ηλεκτρόδια του συστήματος. Έτσι, αυτά οδηγούνται υποδόρια σε θέση V₄-V₅ το θετικό και κάτω από τη δεξιά κλείδα το αρνητικό, όπου και σταθεροποιούνται με λεπτά ράμματα. Κατόπιν, ο επίμους τοποθετείται σε ατομικό κλουβί που βρίσκεται άνωθεν της ειδικής πλάκας-δέκτη (RPC-1, Data Sciences International).

Το λαμβανόμενο ΗΚΓ σήμα στη συνέχεια ενισχύεται και ψηφιοποιείται. Μετά από μετατροπή πάλι σε αναλογικό σήμα και φιλτράρισμα στα 100 Hz



(Data Exchange Matrix, Data Sciences International), ένα συνεχές ρεύμα δεδομένων παρέχεται στον ηλεκτρονικό υπολογιστή. Με τη βοήθεια ειδικού προγράμματος (Dataquest Acquisition & Analysis System ART 2.2, Data Sciences International), η ψηφιοποίηση γίνεται με ακρίβεια 16 bit και το ΗΚΓ μπορεί να αναπαρασταθεί σε πραγματικό χρόνο με δειγματοληψία 500 Hz, ενώ ταυτόχρονα τα δεδομένα αποθηκεύονται για περαιτέρω ανάλυση.

Η καταγραφή του ΗΚΓ για κάθε επίμυ διήρκεσε 48 ώρες, ξεκινώντας 24 ώρες πριν την απολίνωση της αριστεράς στεφανιαίας αρτηρίας και τελειώνοντας 24 ώρες μετά.

6.2.5. ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΡΡΥΘΜΙΩΝ

Τα ΗΚΓ σήματα που αποθηκεύτηκαν, αναλύθηκαν ανεξάρτητα από δύο εξεταστές, χωρίς επίγνωση της αγωγής που χορηγήθηκε σε κάθε ζώο και σύμφωνα με τις οδηγίες του Lambeth Conventions [301]. Κοιλιακή ταχυκαρδία (VT) ορίστηκε η εμφάνιση 4 ή περισσότερων διαδοχικών πρώιμων παλμών (πρώιμα συμπλέγματα QRS σε σχέση με το κύμα P). Κοιλιακή μαρμαρυγή (VF) ορίστηκε η εμφάνιση ενός σήματος που αλλάζει από κύκλο σε κύκλο ως προς τη συχνότητα και τη μορφολογία ή ενός σήματος στο οποίο τα διάφορα συμπλέγματα QRS δεν μπορούν να ξεχωρίσουν μεταξύ τους. Ακόμη και με αυτά τα κριτήρια, είναι συχνά δύσκολο να διακριθεί η VT από τη VF, λαμβάνοντας υπόψη ότι πολλές φορές οι δύο αρρυθμίες μπορούν να μεταπέσουν η μία στην άλλη, χωρίς σαφές όριο μεταξύ τους [293]. Έτσι, υπολογίστηκε το άθροισμα των επεισοδίων VT+VF για κάθε πειραματόζωο. Η διάρκεια κάθε επεισοδίου καθορίστηκε με τη βοήθεια της βαθμολογημένης κλίμακας που παρέχει το λογισμικό.

Για να ληφθεί υπόψη ο διαφορετικός χρόνος επιβίωσης των ζώων, η επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε με δύο τρόπους.

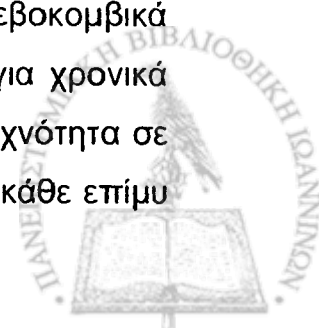
Με τον πρώτο, τα αποτελέσματα εκφράζονται ως μέση τιμή ανά ώρα ανά επίμυ. Έτσι, ο αριθμός των επεισοδίων ή η διάρκεια αυτών διαιρείται με το χρόνο επιβίωσης του αντίστοιχου ζώου, που αντιστοιχεί και στο χρόνο κατά τον οποίο βρίσκεται ουσιαστικά σε κίνδυνο να αναπτύξει αρρυθμία. Επίσης, εφόσον διαφορετικοί παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί είναι υπεύθυνοι για τις δύο διακριτές, έντονα αρρυθμιογόνες περιόδους που ακολουθούν την απόφραξη ενός στεφανιαίου αγγείου, η ανάλυση έγινε ξεχωριστά για κάθε μία από αυτές.

Ο δεύτερος τρόπος, χρησιμοποιεί το «αρρυθμικό σκορ» [302]. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιεί ένα σύστημα βαθμονόμησης των αρρυθμιών που λαμβάνουν χώρα σε μια συγκεκριμένη χρονική περίοδο. Αφού στη μελέτη μας δεν μετρήθηκαν οι μεμονωμένες έκτακτες συστολές, η βαθμολογία ξεκινά από το 2, το οποίο αφορά στην εμφάνιση ενός μόνο επεισοδίου VT ή VF για τη συγκεκριμένη χρονική περίοδο, το οποίο αυτοτερματίζεται αυθόρμητα. Το σκορ 3 δίνεται στην περίπτωση που υπάρχουν πάνω από 1 επεισόδια VT ή VF, με συνολική διάρκεια κάτω από 60 sec, το 4 όταν η διάρκειά τους είναι μεταξύ 60 και 119 sec, ενώ το 5 όταν η διάρκειά τους υπερβαίνει τα 119 sec. Το σκορ 6 αναλογεί στην περίπτωση που το πειραματόζωο εμφανίζει θανατηφόρο VF που ξεκινά τουλάχιστον 15 λεπτά μετά την απόφραξη, το 7 όταν αυτή ξεκινά μεταξύ 4 λεπτών και 14 λεπτών και 59 sec, το 8 όταν ξεκινά μεταξύ πρώτου λεπτού και τριών λεπτών και 59 sec, ενώ το 9 στην περίπτωση που η μοιραία VF ξεκινά το πρώτο λεπτό μετά την απόφραξη. Το μέσο αρρυθμικό σκορ υπολογίστηκε για 4 μετεμφραγματικές χρονικές περιόδους, 0-1 ώρα, 1-6, 6-12 και 12-24 ώρες μετά το EM. Όταν κάποιος επίμυς κατέληγε, βαθμολογούνταν με 9 για τις επόμενες από αυτή του θανάτου χρονικές περιόδους.

Θάνατος από ταχυκαρδία ορίστηκε αυτός που προκύπτει από κοιλιακή ασυστολία ως ακόλουθο εμμένουσας κοιλιακής μαρμαρυγής, ενώ θάνατος από βραδυκαρδία ορίστηκε αυτός που προκύπτει από κοιλιακή ασυστολία ως ακόλουθο βραδυκαρδίας (<200 παλμοί/λεπτό) με πλήρη κολποκοιλιακό αποκλεισμό.

6.2.6. ΜΕΤΡΗΣΗ ΚΑΡΔΙΑΚΗΣ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ

Με τη βοήθεια του λογισμικού (Dataquest Acquisition & Analysis System ART 2.2, Data Sciences International), σε κάθε αποθηκευμένη σειρά δεδομένων εντοπίστηκαν τα επάρματα R και στη συνέχεια τα διαστήματα R-R. Παρέχοντας συγκεκριμένους περιορισμούς, ο αλγόριθμος του προγράμματος απέκλεισε τους παλμούς που δεν προέρχονταν από φλεβοκομβικά ερεθίσματα και υπολογίστηκε η μέση τιμή του διαστήματος R-R για χρονικά βήματα της τάξης των 5 λεπτών. Έτσι καθορίστηκε η καρδιακή συχνότητα σε κάθε χρονική περίοδο μετά το EM. Τέτοιοι υπολογισμοί έγιναν σε κάθε επίμυ



ακριβώς τη στιγμή πριν το έμφραγμα, στο 5°, 30° και 60° λεπτό μετά από την πρόκλησή του, και ανά μία ώρα έκτοτε και μέχρι να ολοκληρωθεί το πείραμα.

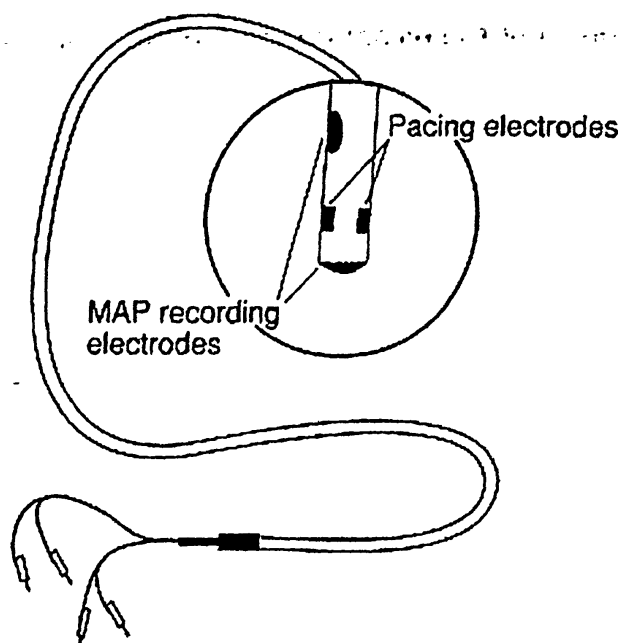
6.2.7. ΜΕΤΡΗΣΗ ΜΟΝΟΦΑΣΙΚΟΥ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ

6.2.7.1. ΤΕΧΝΙΚΗ

Τα μονοφασικά δυναμικά ενεργείας (ΜΔΕ) είναι εξωκυττάρειες μετρήσεις κυματομορφών, οι οποίες, κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες, μπορούν να αναπαραστήσουν την φάση επαναπόλωσης των διαμεμβρανικών δυναμικών ενεργείας (ΔΜΔΕ) με υψηλή αξιοπιστία [303, 304]. Ενώ οι μετρήσεις των ΔΜΔΕ απαιτούν την εμφύτευση ενός μικροηλεκτροδίου σε ένα μυοκαρδιακό κύτταρο, και άρα περιορίζονται σε *in vitro* πειράματα, οι μετρήσεις των ΜΔΕ μπορούν να γίνουν από το ενδοκάρδιο ή το επικάρδιο της παλλόμενης καρδιάς *in situ*, συμπεριλαμβανομένης και της ανθρώπινης. Έτσι, τα ΜΔΕ είναι κατάλληλα για τη μελέτη των χαρακτηριστικών της τοπικής ηλεκτροφυσιολογίας σε κλινικό επίπεδο, και ιδίως της φάσης της επαναπόλωσης [305]. Αυτό έχει καταστήσει τη χρήση των ΜΔΕ μια σημαντική γέφυρα μεταξύ της βασικής και της κλινικής ηλεκτροφυσιολογίας σε πολλαπλά σημεία της έρευνας για τις αρρυθμίες [306].

Η τεχνική του ηλεκτροδίου επαφής, που σήμερα χρησιμοποιείται, αναπτύχθηκε μεταξύ του 1980 και 1983 από τους Franz και συν. [307, 308]. Με αυτή την τεχνική τα ΜΔΕ μπορούν να ληφθούν πιέζοντας ένα μη πολωμένο ηλεκτρόδιο απαλά επί του ενδοκαρδίου ή του επικαρδίου. Η Εικ.23 δείχνει τον πιο συχνά χρησιμοποιούμενο καθετήρα, ο οποίος φέρει και ηλεκτρόδια βηματοδότησης.

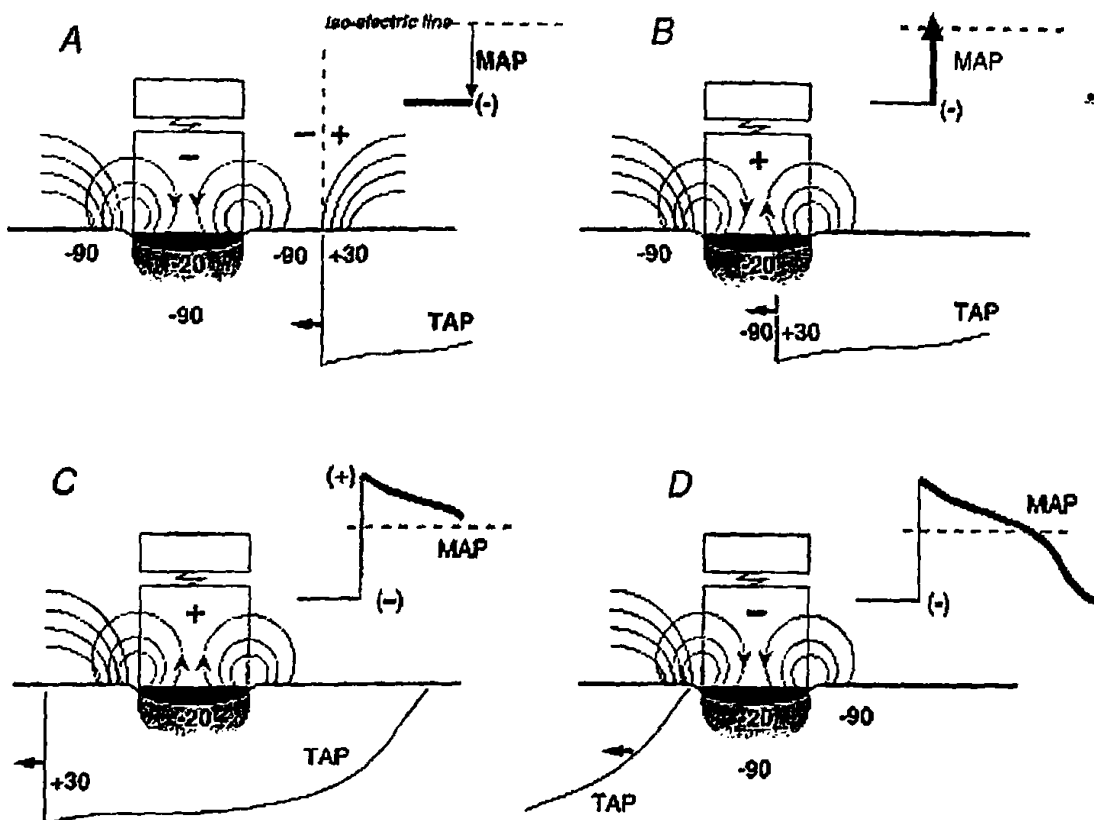




Εικ.23 Καθετήρας για την μέτρηση ΜΔΕ που συνδυάζει και ηλεκτρόδια βηματοδότησης. Τα ηλεκτρόδια των ΜΔΕ κατασκευάζονται από AgCl σε μορφή σκόνης που επικάθεται σε ειδικό πολυμερές.

Η απουσία τραυματισμού του μυοκαρδίου, σε αντίθεση με την παλαιότερα χρησιμοποιούμενη τεχνική, επιτρέπει τη λήψη σταθερών μετρήσεων στο πέρας του χρόνου και καθιστά δυνατή την εκτίμηση των αποτελεσμάτων αντιαρρυθμικών φαρμάκων στην τοπική μυοκαρδιακή επαναπόλωση.

Η μέτρηση του ΜΔΕ γίνεται με ένα ηλεκτρόδιο εξωκυττάριο, το οποίο έχει διάμετρο 1 έως 2 mm, και συνεπώς δεν μπορεί να εισέλθει σε ένα μόνο καρδιακό κύτταρο. Αυτό έχει δώσει την αφορμή για τη διατύπωση διαφόρων θεωριών σχετικά με την προέλευση αυτού του δυναμικού. Η Εικ.24 δείχνει την επικρατούσα άποψη για το μηχανισμό πρόκλησης και καταγραφής των ΜΔΕ.



Εικ.24 Διάγραμμα που παρουσιάζει την υπόθεση για τη γέννηση του ΜΔΕ με το ηλεκτρόδιο επαφής. [A] Η πίεση της άκρης του ηλεκτροδίου έναντι των μυοκαρδιακών κυττάρων έχει ως αποτέλεσμα τη μόνιμη εκπόλωση του υποκείμενου ιστού, περίπου στα -20mV . Τα φυσιολογικά μυοκαρδιακά κύτταρα εμφανίζουν αρνητική διαφορά δυναμικού μεταξύ έσω και έξω επιφάνειας της τάξης των -90mV . Στο τέλος της διαστολικής φάσης, η διαφορά δυναμικού αυτή προκαλεί τη μετακίνηση φορτίων, η οποία στον εξωκυττάριο χώρο έχει φορά από το φυσιολογικό στον εκπολωμένο ιστό. Ένα κύμα δυναμικού ενεργείας που φέρει ένα εσωτερικό δυναμικό $+30\text{mV}$ κοντά στο μέγιστο φαίνεται να πλησιάζει στα δεξιά του άκρου του καθετήρα. [B] Στην αρχή της συστολής, το δυναμικό ενεργείας καταφτάνει. Ο εκπολωμένος υπό πίεση ιστός δεν μπορεί να διεγερθεί και διατηρεί το δυναμικό των -20mV . Προκαλείται όμως στο σημείο επαφής αντιστροφή της ροής φορτίων και της πολικότητας του πεδίου. Το ΜΔΕ κινείται προς τη θετική κατεύθυνση και υπερακοντίζεται προς τα άνω, διαγράφοντας τη φάση 1. [C] Το κύμα εκπόλωσης έχει

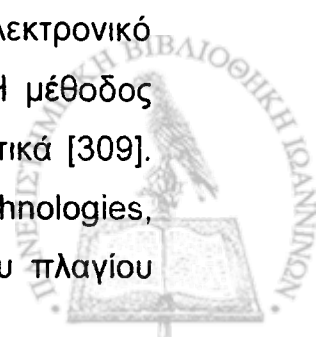


περιβάλλει πλήρως την περιοχή μέτρησης. Καθώς προχωρά η επαναπόλωση, οι διαφορές δυναμικού σταδιακά μειώνονται. Το ΜΔΕ παρουσιάζει βαθμιαία επαναπόλωση, η οποία πλησιάζει την ισοηλεκτρική γραμμή όσο το δυναμικό ενεργείας πλησιάζει το δυναμικό εκπόλωσης των υπό πίεση κυττάρων. [D] Το δυναμικό ενεργείας απομακρύνεται από την περιοχή μέτρησης. Οι διαφορές δυναμικού επιστρέφουν στην προϋπάρχουσα κατάσταση (διαστολική).

Η πίεση που ασκείται τοπικά έναντι του μυοκαρδίου εκπολώνει την ομάδα των κυττάρων που βρίσκονται υπό το ηλεκτρόδιο σε ένα εκτιμώμενο επίπεδο των -20 με -30 mV σε σχέση με το διαστολικό εξωκυττάριο δυναμικό αναφοράς. Επειδή οι δίαυλοι νατρίου παραμένουν ανενεργείς σε αυτές τις συνθήκες, αυτά τα κύτταρα παραμένουν μη διεγέρσιμα και ανίκανα να συμμετέχουν στις περιοδικές εκπολώσεις και επαναπολώσεις των γειτονικών μυοκαρδιακών κυττάρων. Έχοντας άθικτη την ηλεκτρική σύζευξη, αυτό συνεπάγεται μια χρονοεξάρτητη διαφορά δυναμικού μεταξύ των εκπολωμένων-υποκείμενων (ανερέθιστων) και των παρακείμενων (διεγέρσιμων) κυττάρων.

Κατά τη διάρκεια της διαστολής, η διαφορά αυτή προκαλεί ένα ρεύμα που πηγάζει από τα φυσιολογικά κύτταρα, και κατευθύνεται προς τα κύτταρα υπό το ηλεκτρόδιο. Παράγεται έτσι ένα αρνητικό πεδίο, το οποίο είναι ανάλογο του αριθμού των κυττάρων που βρίσκονται σε γειονία. Κατά τη διάρκεια της συστολής, τα φυσιολογικά κύτταρα που γεινιάζουν με το ηλεκτρόδιο υφίστανται πλήρη εκπόλωση, η οποία υπερακοντίζει το δυναμικό $+30$ mV πάνω από το μηδέν, ενώ τα ήδη εκπολωμένα από την πίεση κύτταρα διατηρούν την αρχική τιμή των -20 mV. Έτσι αντιστρέφεται η φορά του ρεύματος και του πεδίου. **Ουσιαστικά, το ΜΔΕ αντανακλά τις μεταβολές του δυναμικού των παρακείμενων κυττάρων.**

Στη συνέχεια, το λαμβανόμενο σήμα μεταφέρεται σε έναν ηλεκτρονικό υπολογιστή, στον οποίο αποθηκεύεται για περαιτέρω ανάλυση. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε στο εργαστήριό μας έχει περιγραφεί αναλυτικά [309]. Έν συντομία, ένας καθετήρας ΜΔΕ (μοντέλο 200, EP Technologies, Sunnyvale, CA, USA) επικάθεται στην επικαρδιακή επιφάνεια του πλαισίου



τοιχώματος της αριστερής κοιλίας και το σήμα ενισχύεται με τη χρήση ενός προενισχυτή (μοντέλο 300 , EP Technologies, Sunnyvale, CA, USA) και φιλτράρεται στα 50 Hz. Καταγραφές διάρκειας 2 λεπτών αποθηκεύονται σε ηλεκτρονικό υπολογιστή εφοδιασμένο με μετατροπέα αναλογικού σήματος σε ψηφιακό (BNC 2110, National Instruments Corporation, Dallah, TX, USA). Το λογισμικό που χρησιμοποιήθηκε για την αποθήκευση και ανάλυση των ΜΔΕ στη μελέτη έχει αναπτυχθεί και αξιολογηθεί στο Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων από τους Τσαλικάκη και συν. [310]. Πενήντα φλεβοκομβικοί παλμοί ανά καταγραφή αναλύθηκαν, και η διάρκεια του δυναμικού ενεργείας στο 90% της επαναπόλωσης (APD90) μετρήθηκε πριν το έμφραγμα και 24 ώρες μετά την πρόκλησή του. Η τυπική απόκλιση της APD90 υπολογίστηκε για κάθε καταγραφή, ως δείκτης μεταβλητότητας από παλμό σε παλμό, ο οποίος σχετίζεται με την ανάπτυξη ταχυαρρυθμιών [311, 312]. Ο μηχανισμός της εναλλαγής αυτής στη διάρκεια του ΔΕ λόγω της ισχαιμίας έχει αποδοθεί σε ανεπαρκή ηλεκτρική αποκατάσταση από τη μία εκπόλωση στην επόμενη [313].

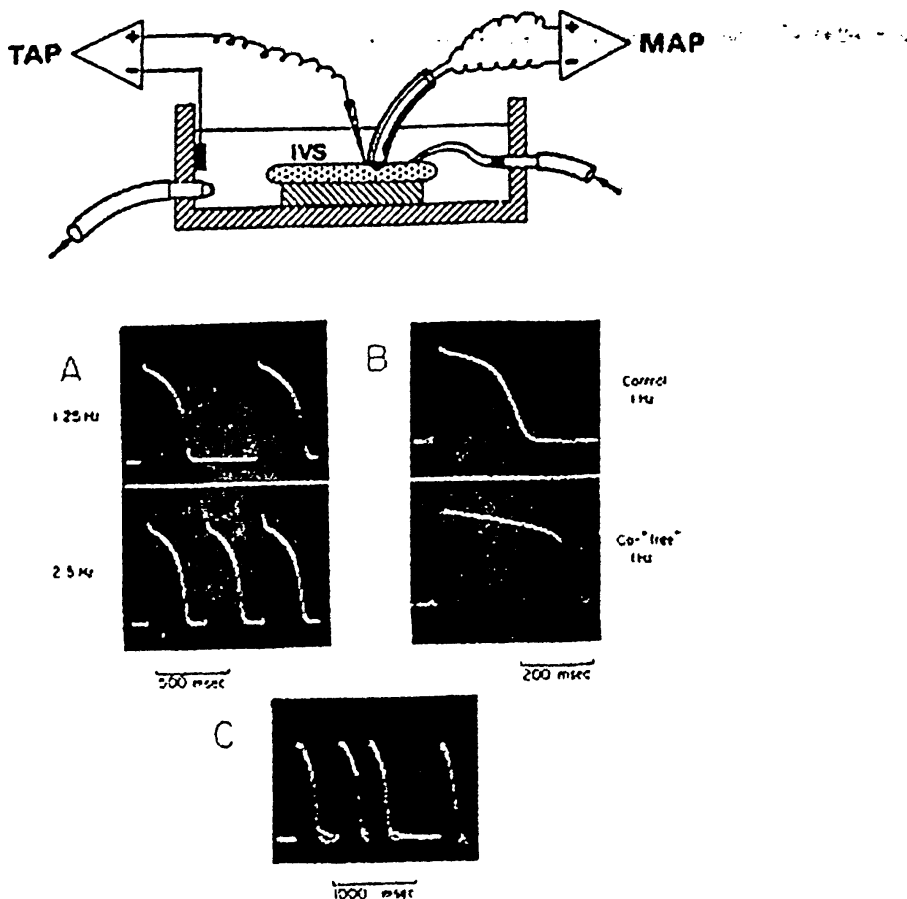
6.2.7.2. ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΔΕ ΚΑΙ ΔΜΔΕ

Η ακρίβεια με την οποία τα ΜΔΕ αντανακλούν την τοπική κυτταρική εκπόλωση και επαναπόλωση αποτέλεσε αντικείμενο μελετών που συνέκριναν τα ΜΔΕ με την ταυτόχρονη καταγραφή των διαμεμβρανικών δυναμικών ενεργείας (ΔΜΔΕ) [303, 304]. Γενικά, οι καταγραφές ΜΔΕ θα πρέπει να ικανοποιούν τα κριτήρια του Πιν.13.

Πιν.13 Κριτήρια ποιότητας ΜΔΕ

1. Το ύψος του ΜΔΕ να είναι μεγαλύτερο από 10 mV
2. Γρήγορη και ευδιάκριτη αρχική ανύψωση του δυναμικού (<5msec)
3. Ομαλό, με το κυρτό προς τα άνω plateau
4. Οριζόντια, ομαλή διαστολική ισοηλεκτρική γραμμή
5. Παρόμοιες κυματομορφές ΜΔΕ από φυσιολογική και τεχνητή βηματοδότηση



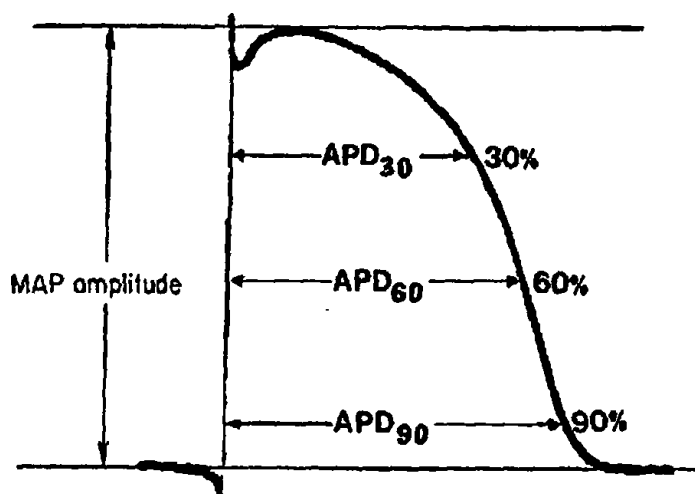


Εικ.25 Σύγκριση ΜΔΕ και ΔΜΔΕ που μετρήθηκαν ταυτόχρονα από πολύ κοντινές περιοχές παρασκευάσματος μεσοκοιλιακού διαφράγματος κουνελιού. Α) Ο διπλασιασμός της συχνότητας βηματοδότησης προκαλεί τη μείωση της διάρκειας του δυναμικού ενεργείας Β) Η αφαίρεση ασβεστίου από το διήθημα αυξάνει τη διάρκεια του plateau και προσδίδει στην κυματομορφή πιο ορθογώνια μορφή Γ) Επίδραση ενός έκτακτου ερεθίσματος και της ακόλουθης παύσης στο ΔΕ. Όλες αυτές οι παρεμβάσεις είχαν κοινή επίδραση στο σχήμα και τη διάρκεια των καταγραφών ΜΔΕ και ΔΜΔΕ. Σε κάθε πεδίο, τα ΜΔΕ επιπροβάλλονται στα ΔΜΔΕ, αφού προηγήθηκε προσαρμογή της κλίμακας για να ταιριάζουν σε ύψος δυναμικού [314].

Τα ΜΔΕ αναπαριστούν με μεγάλη ακρίβεια τη διάρκεια καθώς και τη μορφολογία όλων των φάσεων της επαναπόλωσης των ΔΜΔΕ [314, 315] (Εικ.25).

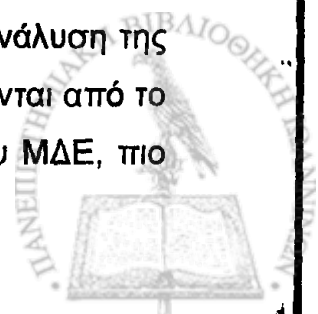


Κατά την ανάλυση των ΜΔΕ, κυρίαρχης σημασίας είναι ο προσδιορισμός της διάρκειας του δυναμικού. Επειδή το πέρας της καμπύλης τείνει προς την ισοηλεκτρική γραμμή χωρίς να εμφανίζει σαφές σημείο ένωσης με αυτήν (Εικ.26), η ακριβής μέτρηση της συνολικής διάρκειας του ΔΕ είναι δύσκολη. Αντ'αυτής συχνότερα προσδιορίζεται ο χρόνος που απαιτείται για την επίτευξη του 90% της επαναπόλωσης (ή κάποιου άλλου κλάσματος).



Εικ.26 Μέθοδος ανάλυσης του σήματος ΜΔΕ. Το ύψος του ΜΔΕ ορίζεται ως η απόσταση από τη διαστολική ισοηλεκτρική γραμμή έως το μέγιστο της φάσης plateau, και όχι έως το μέγιστο της αρχικής ανιούσας φάσης. Η διάρκεια του σήματος ΜΔΕ ορίζεται ως το διάστημα μεταξύ καθέτου που διέρχεται από την απότομη έναρξη της εκπόλωσης ως το επιθυμητό επίπεδο επαναπόλωσης.

Διάφοροι αλγόριθμοι έχουν αναπτυχθεί για την αυτόματη ανάλυση της διάρκειας του ΜΔΕ σε ποσοστά της επαναπόλωσης που καθορίζονται από το χρήστη. Εντούτοις, εξαιτίας της πολυπλοκότητας του σήματος του ΜΔΕ, πιο θεμιτή είναι η ανάλυσή τους υπό άμεση παρατήρηση.



6.2.8. ΜΕΤΡΗΣΗ ΜΕΓΕΘΟΥΣ ΕΜΦΡΑΓΜΑΤΟΣ

Η πιο δημοφιλής τεχνική για τη μέτρηση του μεγέθους της εμφραγματικής περιοχής στα πειραματικά μοντέλα είναι αυτή της χρώσης με τετραζόλιο. Αυτή στηρίζεται στην ικανότητα των ενζύμων δεϋδρογενάσης και των συμπαραγόντων του ιστού να αντιδρούν με τα άλατα τετραζολίου και να σχηματίζουν μια επιφάνεια ροζ απόχρωσης. Σε αυτά τα πλαίσια, το μυοκάρδιο που έχει επιβιώσει μετά την απόφραξη της στεφανιαίας αρτηρίας χρωματίζεται ροζ, ενώ οι νεκρωμένες περιοχές αναγνωρίζονται ως ελλείμματα χρωματισμού και εμφανίζονται λευκές.

Η ουσία που χρησιμοποιείται πιο συχνά είναι το χλωριούχο τριφενυλικό τετραζόλιο (TTC). Αυτό βρίσκεται σε μορφή σκόνης, η οποία διαλύεται σε ρυθμιστικό φωσφορικό διάλυμα. Για καρδιές επιμύων, 40 ml διαλύματος pH 7,4 είναι αρκετά.

Η μέθοδος του TTC είναι ικανή να ανιχνεύει την μυοκαρδιακή νέκρωση αφού περάσουν τουλάχιστον 3 ώρες από την έναρξη της ισχαιμίας στους επίμυες.

Η ακριβής διαδικασία μέτρησης της εμφραγματικής περιοχής είναι η εξής: 24 ώρες μετά την απολίνωση της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας ή μετά από αυτόματο θάνατο, επαναλαμβάνεται η θωρακοτομή σε κάθε πειραματόζωο και διακόπτεται η καρδιακή λειτουργία κατά τη διαστολή με τη χρήση ενδοκαρδιακής ένεσης KCL. Στη συνέχεια, αφαιρείται το μυοκάρδιο και διαχωρίζονται επιμελώς οι δύο κόλποι και η δεξιά κοιλία, ώστε να έχουμε στη διάθεσή μας μόνο τη μάζα της αριστεράς κοιλίας. Για τον υπολογισμό της εμφραγματικής περιοχής, η αριστερή κοιλία τεμαχίζεται σε φέτες πάχους περίπου 2 χιλιοστών, κάθετες προς τον άξονα κορυφή-βάση. Ο ιστός μπορεί να κοπεί πιο εύκολα όταν βρίσκεται σε ημι-παγωμένη κατάσταση, ενώ η επίθεση του TTC σε φρέσκες φέτες προκαλεί σύσπαση και απώλεια ομαλής επιφάνειας για ακριβή προσδιορισμό της εμφραγματικής επιφάνειας. Έτσι, αφού καθαριστεί, η αριστερή κοιλία τυλίγεται σε ένα τεμάχιο καθαρού σελοφάν και τοποθετείται σε καταψύκτη στη θερμοκρασία των -20°C , για 1 με 2 ώρες. Το σελοφάν είναι σημαντικό γιατί αποτρέπει την πρόκληση ξηρότητας λόγω ψύχους του παρασκευάσματος. Έπειτα, το παρασκεύασμα τεμαχίζεται σε περίπου 4 με 5 παράλληλες φέτες, οι οποίες εμβυθίζονται στο διάλυμα του

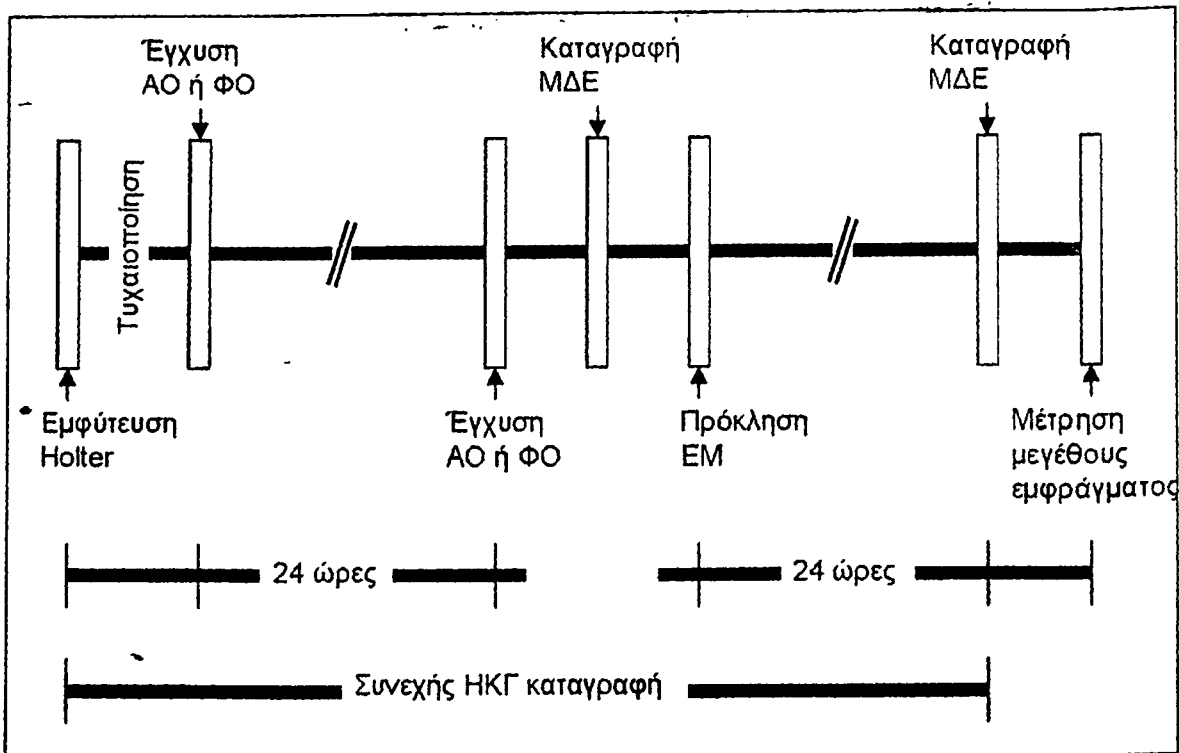
TTC για 15 με 20 λεπτά, στους 37°C. Οι περιοχές που δε νεκρώθηκαν χρωματίζονται με αυτόν τον τρόπο έντονα κόκκινες. Όταν έχει γίνει αυτό, οι φέτες εμβαπτίζονται σε διάλυμα φορμόλης 10% για περίπου 20 λεπτά. Το βήμα αυτό κάνει πιο έντονη την αντίθεση μεταξύ του κόκκινου ιστού που επιβίωσε και του νεκρού άσπρου. Στη συνέχεια, και αφού ο ιστός αποξηρανθεί, οι φέτες τοποθετούνται μεταξύ δύο αντικειμενοφόρων πλακών, οι οποίες έχουν σταθερή μεταξύ τους απόσταση (γύρω στα 2 mm), ώστε να ομαλοποιηθούν οι επιφάνειες και να είναι δυνατό το scanning αυτών με τη βοήθεια ενός υψηλής ανάλυσης scanner (Scanjet 4570c/5500c, Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA). Με τη βοήθεια ενός ειδικού προγράμματος (Image Tool, University of Texas, USA), υπολογίζονται οι επιφάνειες της εμφραγματικής και μη περιοχής. Το κλάσμα της εμφραγματικής προς την ολική επιφάνεια κάθε φέτας πολλαπλασιάζεται με το βάρος της κάθε φέτας, για να υπολογιστεί η εμφραγματική μάζα. Το άθροισμα των εμφραγματικών μαζών διαιρείται με τη συνολική μάζα της αριστερής κοιλίας, καθορίζοντας έτσι και το μέγεθος του εμφράγματος [316-319].

Η Εικ.27 περιγράφει το πρωτόκολλο της μελέτης.

6.3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Όλες οι τιμές παρουσιάζονται ως μέσοι όροι \pm τυπική απόκλιση, και κατά περίπτωση τυπικό σφάλμα. Η θνητότητα μεταξύ των δύο πληθυσμών συγκρίθηκε με τη βοήθεια του χ^2 διορθωμένου κατά Yates τεστ. Οι διαφορές στις συνεχείς μεταβλητές συγκρίθηκαν με το Student's t-test ή με ανάλυση ποικιλότητας για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις, ακολουθούμενη από Tukey's test για πολλαπλές συγκρίσεις. Τα επεισόδια και οι διάρκειες των αρρυθμιών δεν ακολουθούν κανονική κατανομή και η σύγκρισή τους έγινε με το Mann-Whitney U-test, ενώ η σύγκριση των αρρυθμικών σκορ έγινε με ανάλυση ποικιλότητας για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις. Ως επίπεδο σημαντικότητας «α» ορίστηκε το 0,05.





Εικ.27 Πειραματικό πρωτόκολλο. Μετά την εμφύτευση του συστήματος Holter και τη χορήγηση αυξητικής ορμόνης (ΑΟ) ή φυσιολογικού ορού (ΦΟ), ακολουθεί 24ωρη περίοδος ΗΚΓ παρακολούθησης. Στη συνέχεια, και αφού επαναληφθεί η χορήγηση ΑΟ ή ΦΟ, καταγράφονται επικαρδιακά μονοφασικά δυναμικά ενεργείας (ΜΔΕ) από την αριστερή κοιλία και αμέσως μετά απολινώνεται η αριστερή στεφανιαία αρτηρία. Η ΗΚΓ παρακολούθηση εξακολουθεί για 24 ακόμη ώρες, οπότε επαναλαμβάνονται οι μετρήσεις των ΜΔΕ, πραγματοποιείται ευθανασία του πειραματοζώου και μετράται το μέγεθος του προκληθέντος εμφράγματος.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7°

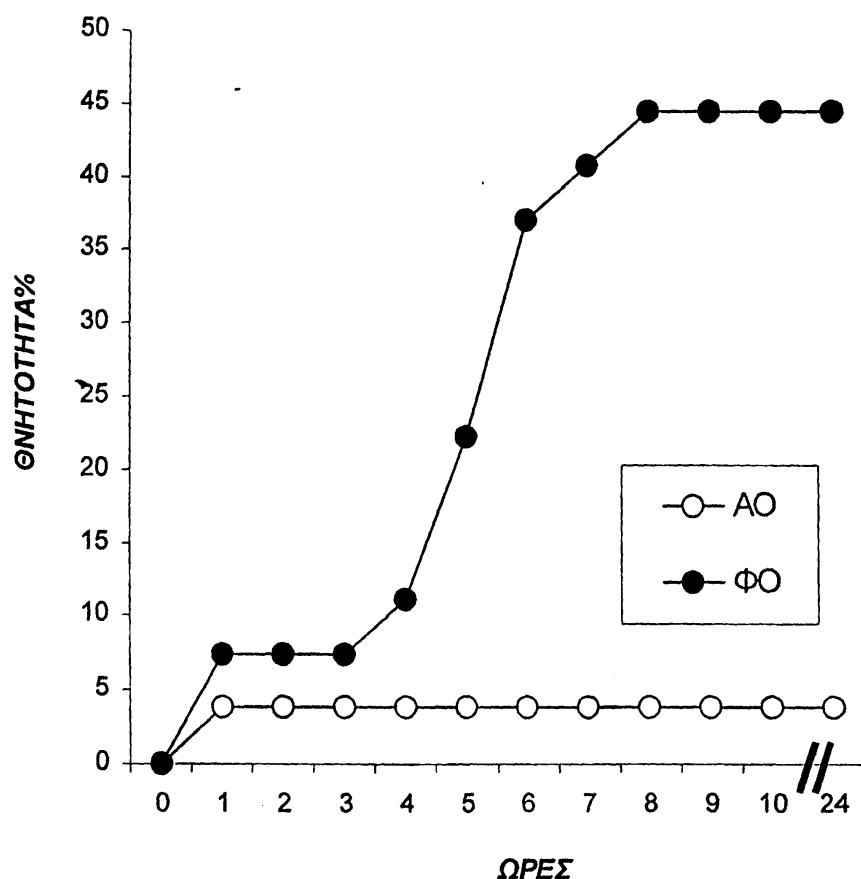
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Μελετήθηκαν 63 θηλυκοί επίμυες βάρους 218 ± 16 γραμμαρίων (από 195 έως 256 γραμμάρια) και ηλικίας 20 ± 1 βδομάδας (από 15 έως 24 βδομάδες). Από αυτά 10 (15,8%) (5 είχαν λάβει αυξητική ορμόνη και 5 φυσιολογικό ορό) πέθαναν κατά τη διάρκεια του χειρουργείου και αποκλείστηκαν από τη διαδικασία. Σε αυτά περιλαμβάνονται πειραματόζωα τα οποία είτε εμφάνισαν δυσανεξία στο αναισθητικό είτε απεβίωσαν τα πρώτα 5 λεπτά μετά την απολίνωση του αγγείου λόγω πλήρους κολποκοιλιακού αποκλεισμού, συνήθως εξαιτίας ταυτόχρονης απόφραξης τόσο της κατιούσας όσο και της διαφραγματικής στεφανιαίας αρτηρίας. Έτσι, 53 ζώα συμπεριελήφθηκαν στη μελέτη, από τα οποία 26 (220 ± 23 γραμμάρια) είχαν λάβει αυξητική ορμόνη και 27 (216 ± 9 γραμμάρια) είχαν λάβει φυσιολογικό ορό.

7.1. ΘΝΗΤΟΤΗΤΑ

Παρουσιάστηκαν 10 θάνατοι από ταχυκαρδία, 1 (3,8%) στην ομάδα που έλαβε αυξητική ορμόνη (κατά τη διάρκεια της φάσης I, Φ1) και 9 (33,3%) στην ομάδα που έλαβε φυσιολογικό ορό (4 στη φάση I, και 5 στη φάση II, Φ2). Η μειωμένη θνητότητα από ταχυκαρδία στην ομάδα της ΑΟ ήταν στατιστικά σημαντική ($p=0,016$) σε σχέση με την ομάδα που έλαβε φυσιολογικό ορό. Κανένας θάνατος από βραδυκαρδία δεν εμφανίστηκε στην ομάδα της ΑΟ, ενώ υπήρξαν 3 θάνατοι από βραδυκαρδία στην ομάδα control (11,1%, 1 στη φάση I και 2 στη φάση II). Αυτή η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($p=0,24$). Η συνολική θνητότητα ήταν σημαντικά χαμηλότερη στην ομάδα της αυξητικής ορμόνης ($p=0,0018$) (Εικ.28, Πιν.14). Πρέπει να σημειωθεί ότι δεν έγινε καμία προσπάθεια διάσωσης των πειραματοζώων. Οι κοιλιακές αρρυθμίες στους

επίμυες, εκτός του ότι συνήθως δεν έχουν μοιραία κατάληξη, μπορούν να τερματιστούν με απλές μαλάξεις του θωρακικού τοιχώματος μεταξύ αντίχειρα και δείκτη, με υψηλό ποσοστό επιτυχίας.



Εικ.28 Θνητότητα κατά την πρώιμη μετεμφραγματική περίοδο επιμύων που έλαβαν αυξητική ορμόνη (ΑΟ, ○) και επιμύων που έλαβαν φυσιολογικό ορό (ΦΟ, ●). Παρατηρούνται δύο χρονικές φάσεις υψηλής θνητότητας στην ομάδα του ΦΟ, μία την πρώτη ώρα (Φ1) και μία μετά τη δεύτερη και μέχρι την όγδοη (Φ2). Η ομάδα της ΑΟ εμφανίζει μόλις ένα θάνατο την πρώτη ώρα. Και στις δύο ομάδες δεν παρατηρήθηκε θάνατος μετά την όγδοη μετεμφραγματική ώρα και για την υπόλοιπη 24ωρη καταγραφή. Συνολικά το 44,4% των ζώων που δεν έλαβαν αγωγή απεβίωσε, ενώ το ποσοστό για τους επίμυες που έλαβαν αυξητική ορμόνη ήταν μόλις 3,8%.



Πιν.14 Θνητότητα επιμύων μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου, ανάλογα με την αιτία θανάτου και τη χρονική φάση (Φ1, πρώτη μετεμφραγματική ώρα, Φ2 υπόλοιπο καταγραφής). ΦΟ: ομάδα που έλαβε φυσιολογικό ορό, ΑΟ: ομάδα που έλαβε αυξητική ορμόνη.

Αιτία θανάτου	Κοιλιακή ταχυκαρδία		Σύνολο	Βραδυκαρδία		Σύνολο	Συνολική θνητότητα
	Φ1	Φ2		Φ1	Φ2		
ΦΟ	4	5	9 (33,3%)	1	2	3	12 (44,4%)
ΑΟ	1	0	1* (3,8%)	0	0	0 †	1 ‡ (3,8%)

* $p = 0,016$

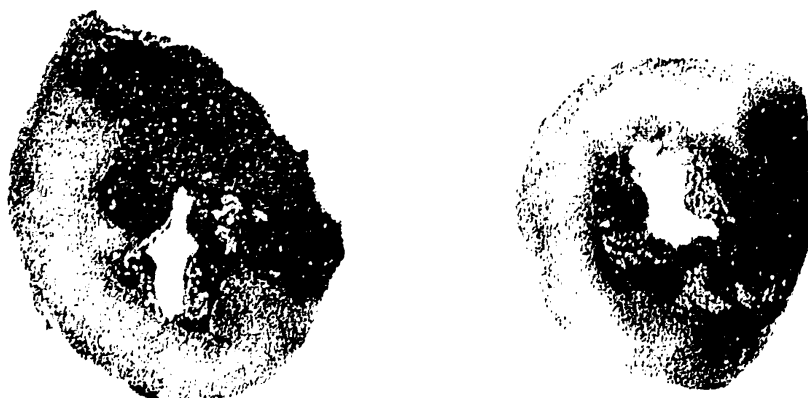
† $p = 0,24$

‡ $p = 0,0018$, σε σχέση με την ομάδα που έλαβε φυσιολογικό ορό



7.2. ΜΕΓΕΘΟΣ ΕΜΦΡΑΓΜΑΤΟΣ

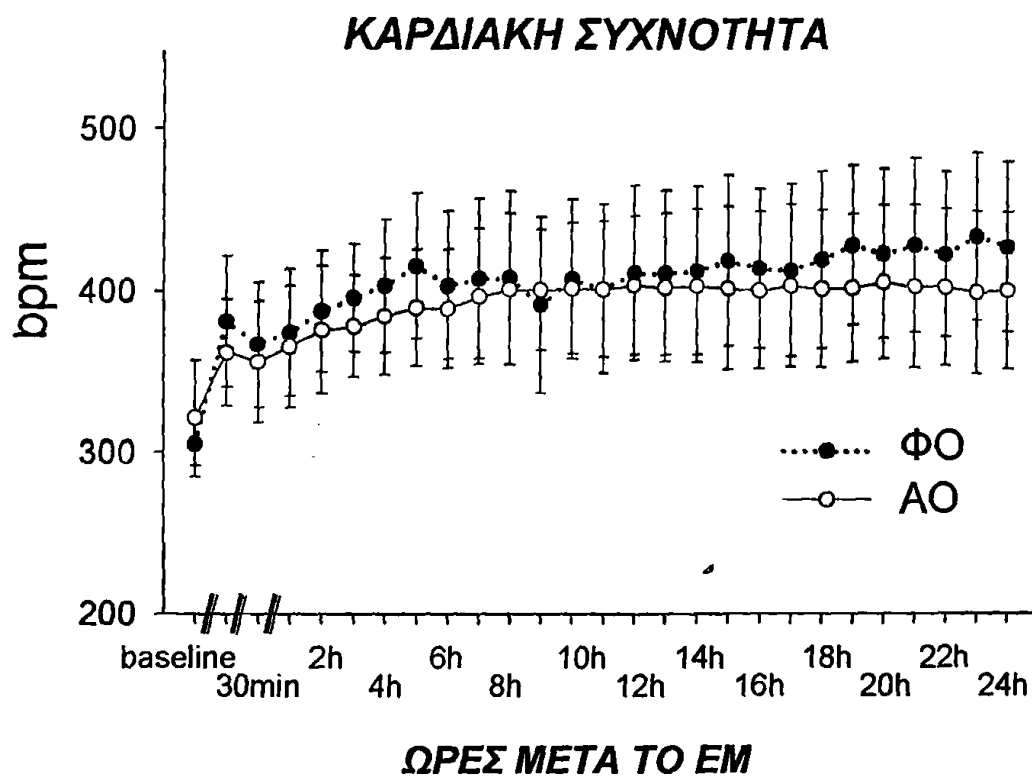
Το μέγεθος της εμφραγματικής περιοχής προσδιορίστηκε για τα 40 πειραματόζωα που επέζησαν της διαδικασίας, 15 από την ομάδα control και 25 από την ομάδα που έλαβε αυξητική ορμόνη. Το ποσοστό της μάζας της αριστερής κοιλίας που νεκρώθηκε ήταν $40,1 \pm 7,7\%$ για τα controls και $35,4 \pm 8,2\%$ για την ομάδα θεραπείας ($p=0,08$). Αντιπροσωπευτικά δείγματα εγκαρσίων τομών της αριστερής κοιλίας, μετά την προαναφερθείσα διαδικασία φαίνονται στην Εικ.29, όπου οι υγιείς περιοχές απεικονίζονται ερυθρές, ενώ οι νεκρωθείσες άσπρες.



Εικ.29 Χαρακτηριστικά παραδείγματα εγκαρσίων τομών της αριστερής κοιλίας, μετά από επεξεργασία (βλ. κείμενο), για τη μέτρηση της εμφραγματικής ζώνης. Ο υγιής ιστός προσλαμβάνει την χρωστική TTC και αποκτά ερυθρό χρώμα, ενώ ο νεκρός ιστός εμφανίζεται άσπρος.

7.3. ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ

Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων ως προς την καρδιακή συχνότητα των ζώων το 24ωρο που ακολούθησε την απολίνωση της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας. Ο μέσος όρος της καρδιακής συχνότητας των επιμύων κάθε ομάδας σε συνάρτηση με το χρόνο μετά το έμφραγμα του μυοκαρδίου παρουσιάζεται στην Εικ.30.

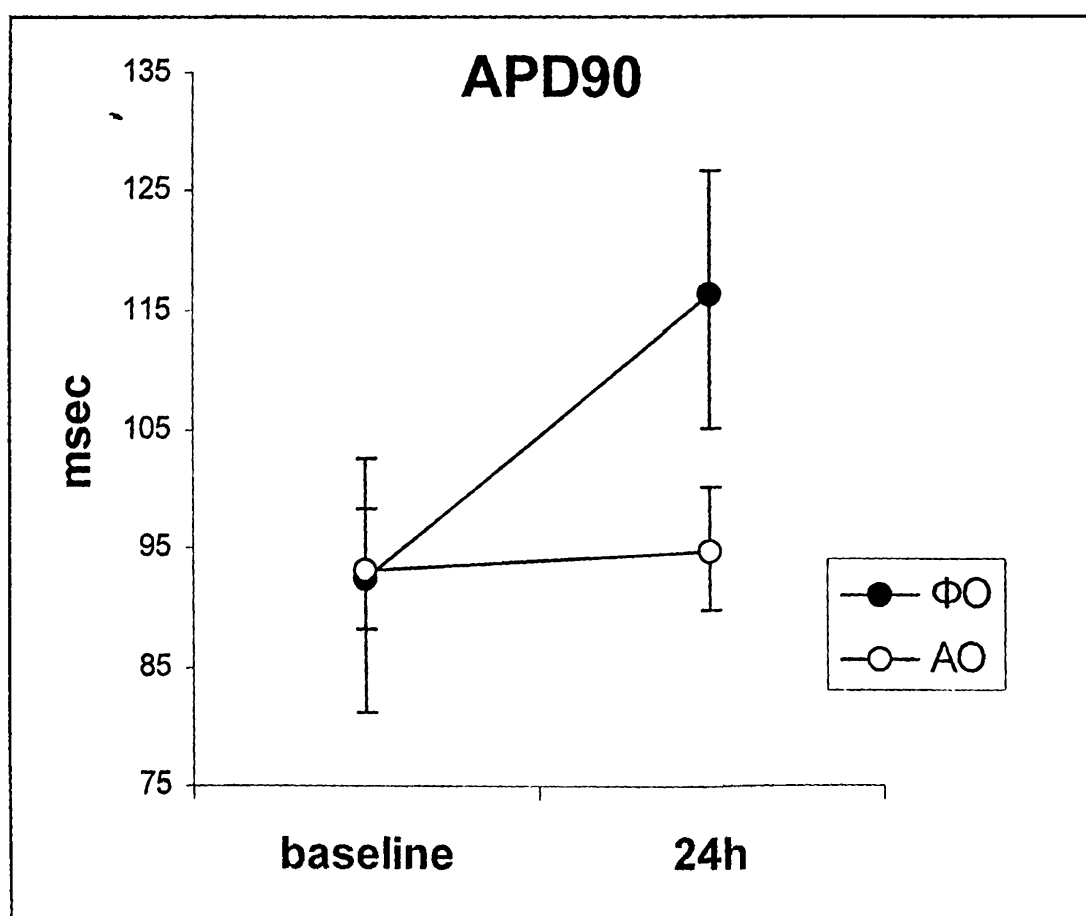


Εικ.30 Εξέλιξη σε σχέση με το χρόνο της καρδιακής συχνότητας των πειραματοζώων που έλαβαν φυσιολογικό ορό (ΦΟ) ή αυξητική ορμόνη (ΑΟ) μετά την πρόκληση εμφράγματος του μυοκαρδίου. Δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά ($F=1,31$, $p=0,17$) ανάμεσα στις δύο ομάδες, ενώ όπως αναμενόταν, κοινή ήταν η αύξηση του καρδιακού ρυθμού μετά την απολίνωση του στεφανιαίου αγγείου.

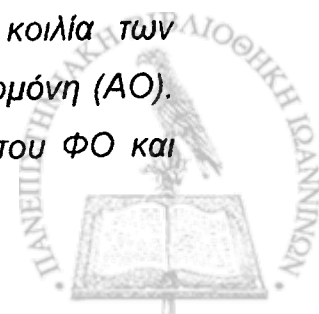


7.4. ΜΟΝΟΦΑΣΙΚΟ ΔΥΝΑΜΙΚΟ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ

Διαπιστώθηκε μια σημαντική μεταβολή στο 90% της διάρκειας του δυναμικού ενεργείας (APD90) ($F=92.5$, $p<0,001$), η οποία οφειλόταν σε μια σημαντική αύξηση του APD90 της αριστερής κοιλίας των επιμύων που έλαβαν φυσιολογικό ορό 24 ώρες μετά το EM, σε σχέση με την αρχική μέτρηση πριν την απολίνωση της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας. Αντιθέτως, καμία σημαντική αλλαγή δε σημειώθηκε στο APD90 των ζώων που έλαβαν αυξητική ορμόνη (Εικ.31).



Εικ.31 Μεταβολή της διάρκειας του δυναμικού ενεργείας στο 90% της επαναπόλωσης (APD90), 24 ώρες μετά την πρόκληση EM, όπως αυτό υπολογίζεται με καθετήρα MAP τοποθετημένο στην αριστερά κοιλία των πειραματοζώων που έλαβαν φυσιολογικό ορό (ΦΟ) ή αυξητική ορμόνη (ΑΟ). $F=92.5$, $p<0.001$. Παρατηρείται αύξηση του APD90 στην ομάδα του ΦΟ και καμία μεταβολή στην ομάδα που έλαβε ΑΟ.



Παρομοίως, η σταθερά απόκλιση του APD90, που αντικατοπτρίζει τις μεταβολές της διάρκειας του δυναμικού ενεργείας από παλμό σε παλμό, αυξήθηκε σημαντικά στο control group, ενώ παρέμεινε αμετάβλητη στην ομάδα που έλαβε ΑΟ (Πιν.15).

Πιν.15 Διάρκεια του δυναμικού ενεργείας στο 90% της επαναπόλωσης (APD90) και μεταβολή του APD90 από παλμό σε παλμό στις δύο ομάδες.

	ΦΟ (n=10)	ΑΟ (n=16)
APD90‡ baseline (ms)	92,38±10,28	93,12±5,27
APD90‡ 24 ώρες (ms)	116,40±11,14 *	94,93±4,99
Μεταβλητότητα από παλμό σε παλμό† baseline (ms)	3,90±1,19	4,12±1,70
Μεταβλητότητα από παλμό σε παλμό † 24 ώρες (ms)	13,50±7,60 *	3,81±1,86

* $p < 0.001$ σε σχέση με το baseline,

† εκφραζόμενη ως η τυπική απόκλιση του APD90 σε 50 φλεβοκομβικούς παλμούς

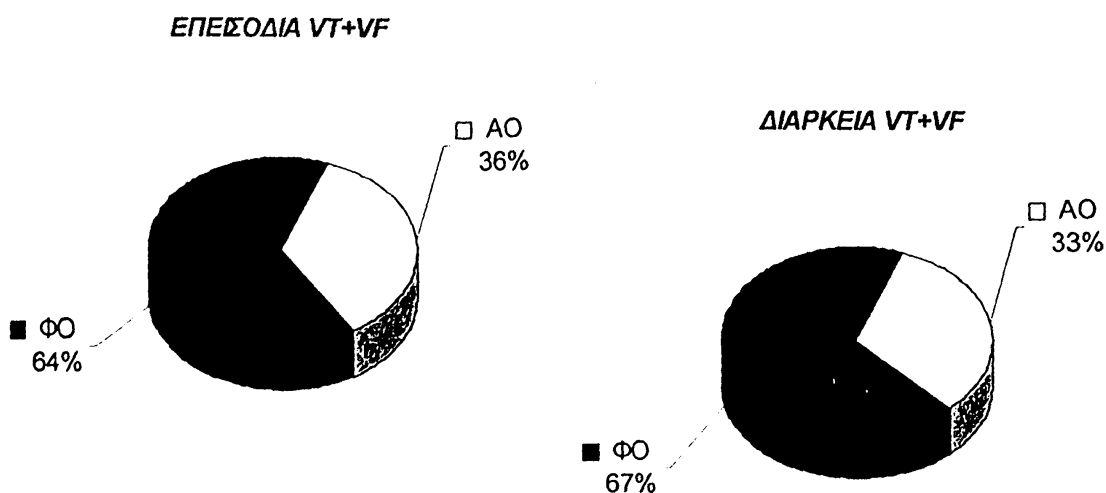
ms= milliseconds



7.5. ΚΟΙΛΙΑΚΕΣ ΑΡΡΥΘΜΙΕΣ

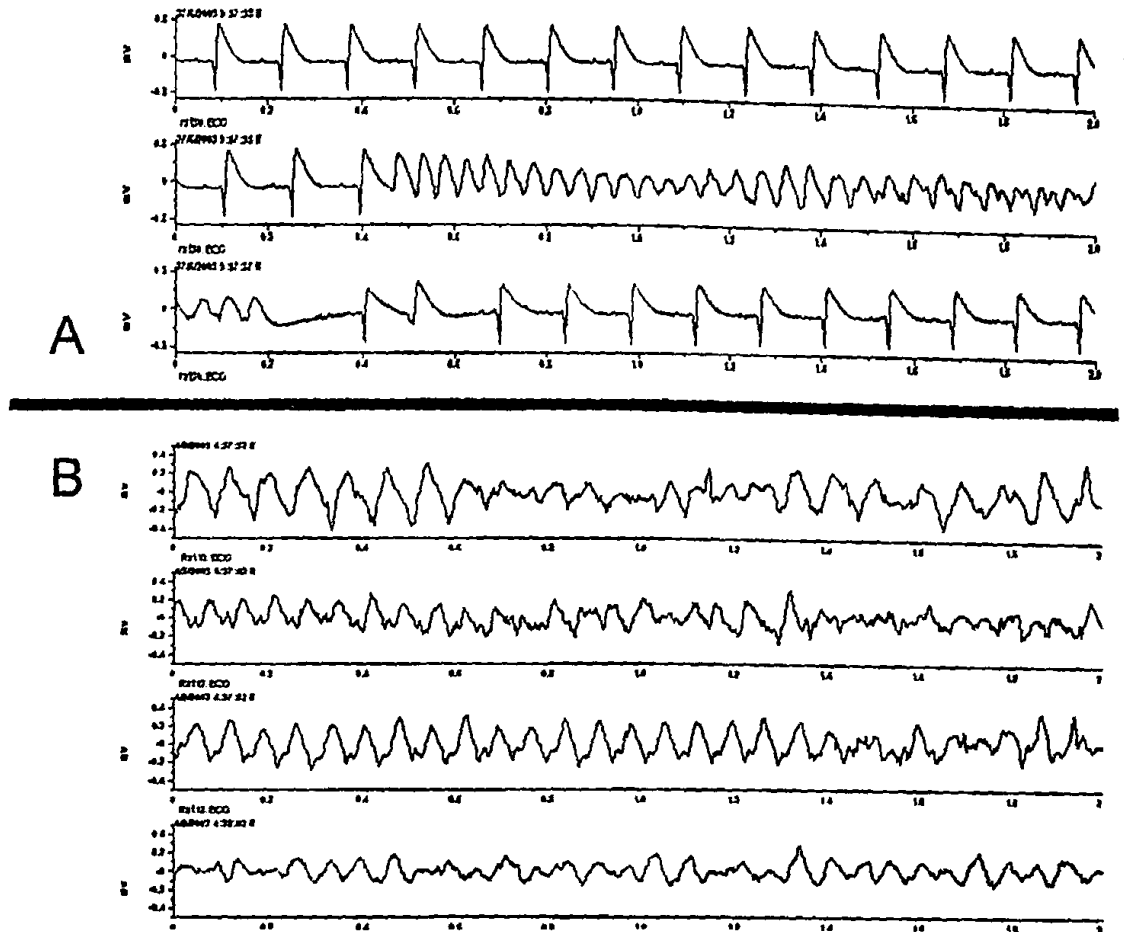
Η ανάλυση των 24ωρων καταγραφών που αφορούσαν στην προεμφραγματική περίοδο κάθε επίμυος ανέδειξε ότι επεισόδια κοιλιακής ταχυκαρδίας ή μαρμαρυγής σε επίμυες χωρίς στεφανιαία απόφραξη είναι εξαιρετικά σπάνια. Κατά τη διάρκεια των περίπου 1512 ωρών καταγραφής (που αντιστοιχούν σε πάνω από 27 εκατομμύρια καρδιακούς παλμούς) από 63 επίμυες πριν υποστούν απολίνωση της αριστεράς στεφανιαίας αρτηρίας, μόνο 2 ριπές κοιλιακής ταχυκαρδίας εμφανίστηκαν, διάρκειας μικρότερης από 3 δευτερόλεπτα.

Αντιθέτως, το 100% των ζώων (63 από 63) ανέπτυξαν έστω και ένα επεισόδιο VT ή VF κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης μετά το ΕΜ. Συνολικά καταγράφηκαν 9118 επεισόδια κοιλιακής ταχυκαρδίας και μαρμαρυγής (Εικ.32,33), 5851 στην ομάδα που έλαβε φυσιολογικό ορό (ΦΟ) και 3267 στην ομάδα που έλαβε αυξητική ορμόνη (ΑΟ).



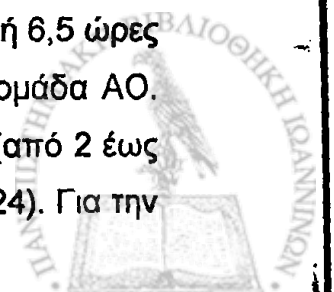
Εικ.32 Ποσοστό επί του συνόλου των επεισοδίων και της διάρκειας των επεισοδίων VT+VF που καταγράφηκαν από επίμυες που έλαβαν αυξητική ορμόνη (ΑΟ) ή φυσιολογικό ορό (ΦΟ).



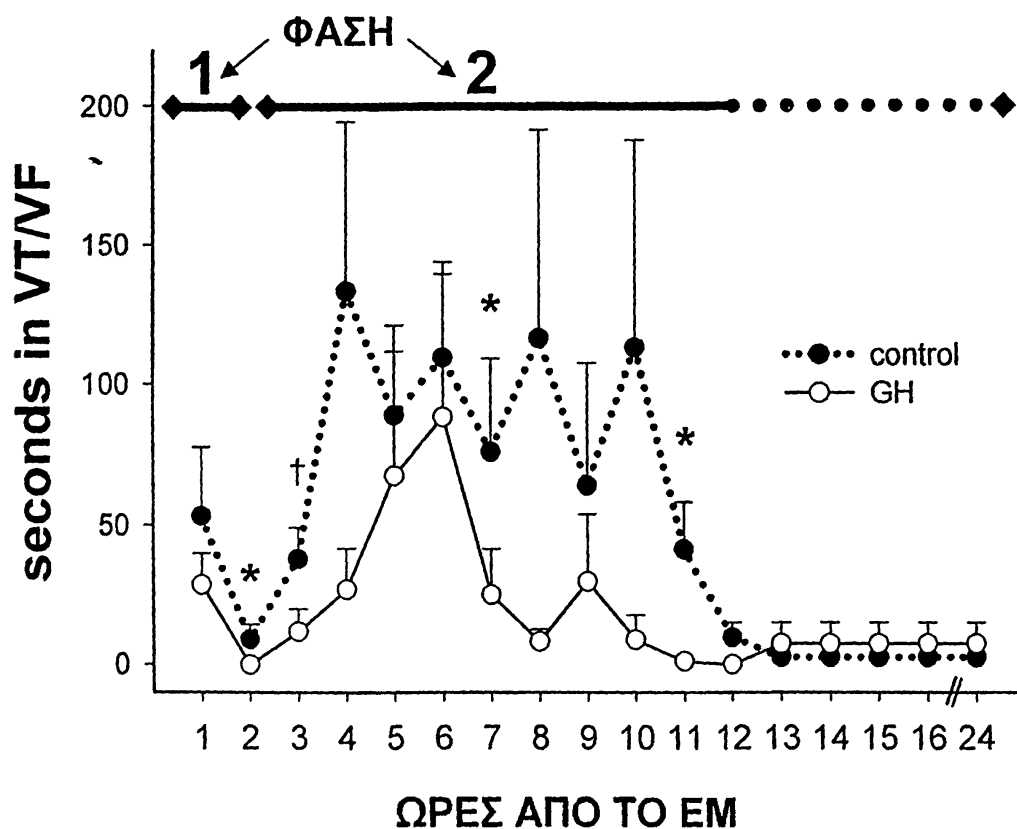


Εικ33 Χαρακτηριστικά παραδείγματα κοιλιακής ταχυαρρυθμίας από επίμυες μετά από απολίνωση της αριστεράς στεφανιαίας αρτηρίας. Α) Βραχείας διάρκειας μη εμμένουσα κοιλιακή ταχυκαρδία σε επίμυ που έλαβε αυξητική ορμόνη. Β) Κοιλιακή μαρμαρυγή σε επίμυ που είχε λάβει φυσιολογικό ορό, και ο οποίος λόγω του επεισοδίου κατέληξε. Κάθε σειρά αναπαριστά ΗΚΓ σήμα διάρκειας 2 sec.

Η συνολική διάρκεια των επεισοδίων ήταν 23829,8 sec (397 λεπτά ή 6,5 ώρες περίπου), 16055 sec για την ομάδα ΦΟ και 7774,8 sec για την ομάδα ΑΟ. Κατά μέσο όρο, κάθε πειραματόζωο εμφάνισε 172 ± 315 επεισόδια (από 2 έως 1395) και βρισκόταν σε VT ή VF για 449 ± 700 sec (από 1,2 έως 2624). Για την



ομάδα ΦΟ οι τιμές ήταν κατά μέσο όρο 216 ± 389 (από 2 έως 1395) επεισόδια και 594 ± 780 sec (από 4,5 έως 2624). Για την ομάδα ΑΟ οι τιμές ήταν 125 ± 219 (από 2 έως 836) επεισόδια ($p=0,30$) και 299 ± 599 sec (από 1,2 έως 2608) ($p=0,09$). Η μέση διάρκεια των επεισοδίων ήταν $6,18 \pm 6,32$ sec/επεισόδιο (0,5 με 24,7), 8.2 ± 7.3 sec/επεισόδιο για την ομάδα ΦΟ και 3.9 ± 4.3 sec/επεισόδιο για την ομάδα ΑΟ ($p=0,01$).

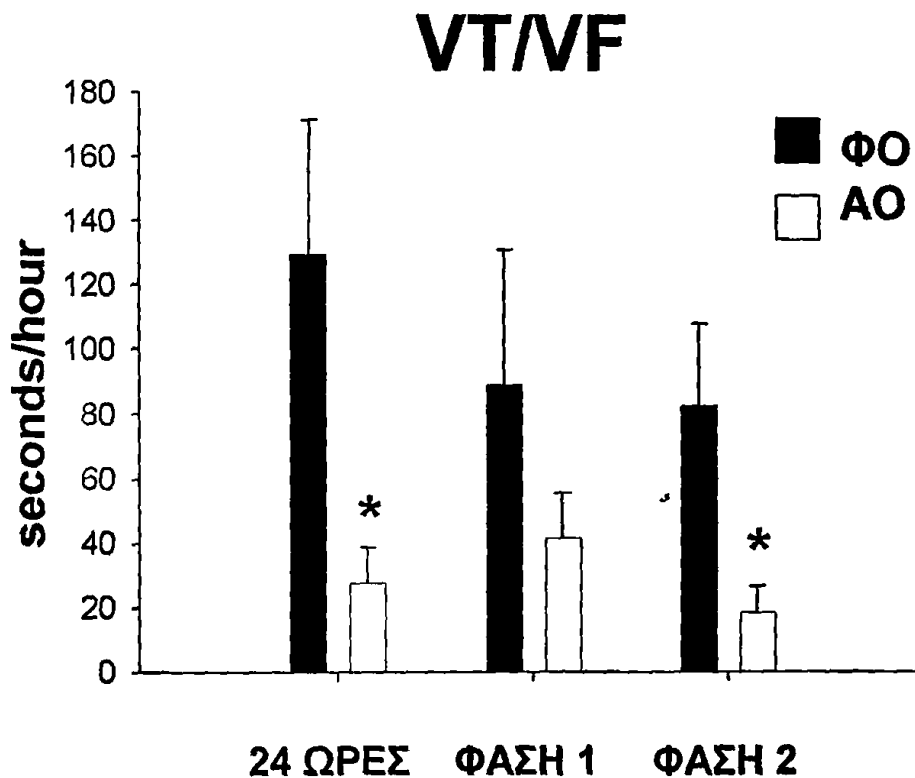


Εικ.34 Διάρκεια των επεισοδίων VT και VF σε κάθε ώρα μετά το ΕΜ. Διακρίνονται 2 φάσεις έντονης αρρυθμιογένεσης. Η πρώτη αφορά στην πρώτη ώρα μετά το ΕΜ, ενώ η δεύτερη ξεκινά από τη δεύτερη μετεμφραγματική ώρα και τερματίζει περίπου στη δωδέκατη. Κατά τη διάρκεια της 24ωρης παρακολούθησης η ομάδα που έλαβε αυξητική ορμόνη παρουσίασε σαφώς μικρότερη διάρκεια επεισοδίων, η οποία ήταν στατιστικά σημαντική με αυτόν τον τρόπο σύγκρισης στα διαστήματα 1η με 2η, 2η με 3η, 6η με 7η και 10η με 11η ώρα μετά το ΕΜ.

* $p < 0,01$, † $p < 0,05$



Η κατανομή των επεισοδίων VT και VF στο χρόνο που ακολούθησε την απόφραξη του αγγείου φαίνεται στην Εικ.34. Είναι εμφανής η ύπαρξη δύο έντονα αρρυθμιογόνων περιόδων, οι οποίες υπάρχουν και στις δύο ομάδες, όπως και αναμενόταν [293]. Η επιμέρους σύγκριση των διάρκειών των επεισοδίων σε κάθε ώρα μετά το ΕΜ, ανέδειξε στατιστικά σημαντικές διαφορές για τα διαστήματα 1^η με 2^η, 2^η με 3^η, 6^η με 7^η και 10^η με 11^η ώρα μετά το ΕΜ.



Εικ.35 Ωριαία διάρκεια των επεισοδίων VT+VF κατά τη διάρκεια όλης της 24ωρης καταγραφής, κατά τη διάρκεια της φάσης 1 και της φάσης 2.

ΦΟ, φυσιολογικός ορός,
ΑΟ αυξητική ορμόνη.

* $p < 0,01$



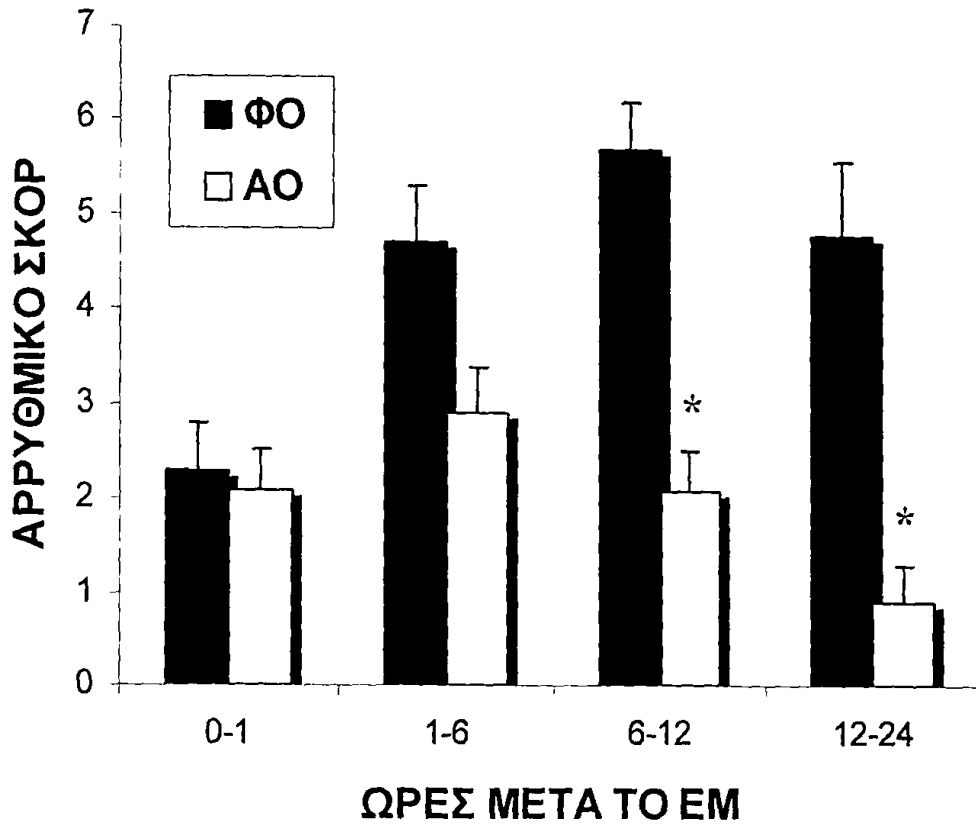
Η ωριαία διάρκεια των επεισοδίων ήταν συνολικά (για το σύνολο των επιμύων ασχέτως αγωγής) $79,4 \pm 166,4 \text{sec/h}$, $129,2 \pm 219,4 \text{sec/h}$ για την ομάδα ΦΟ και $27,6 \pm 56,5 \text{sec/h}$ για την ομάδα ΑΟ ($p=0,0029$). Για τη φάση I ήταν συνολικά $66,1 \pm 158,7 \text{sec/h}$, $89,5 \pm 215,2 \text{sec/h}$ για την ομάδα ΦΟ και $41,7 \pm 69,9 \text{sec/h}$ για την ομάδα ΑΟ, διαφορά η οποία δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($p=0,83$). Αντιθέτως, η ωριαία διάρκεια των επεισοδίων για τη φάση II ήταν συνολικά $48,5 \pm 89,3 \text{sec/h}$, $82,8 \pm 116,6 \text{sec/h}$ για την ομάδα ΦΟ και $18,3 \pm 41,2 \text{sec/h}$ για την ομάδα ΑΟ ($p=0,0027$) (Εικ.35).

Αναλύοντας τις αρρυθμίες με βάση το αρρυθμικό σκορ, διαπιστώνεται επίσης στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων, η οποία αφορά στις τελευταίες δύο χρονικές περιόδους παρακολούθησης (Εικ.36, Πιν.16). Η διαφορά υπέρ της ομάδας της ΑΟ που παρατηρείται στην χρονική περίοδο 12-24 ώρες μετά το έμφραγμα οφείλεται στον αυξημένο αριθμό θανάτων επιμύων που είχαν λάβει φυσιολογικό ορό, κατά τις προηγούμενες χρονικές περιόδους, και οι οποίοι βαθμολογήθηκαν με σκορ 9 για την τελευταία περίοδο, και όχι στην αυξημένη εμφάνιση αρρυθμιών κατά την περίοδο αυτή (βλ. μεθόδους).

Πιν.16 Αρρυθμικό σκορ \pm τυπικό σφάλμα για τις τέσσερις χρονικές περιόδους που απαρτίζουν την πρώιμη μετεμφραγματική περίοδο. Η ομάδα της αυξητικής ορμόνης (ΑΟ) εμφανίζει χαμηλότερο σκορ σε όλες τις περιόδους σε σχέση με την ομάδα του φυσιολογικού ορού (ΦΟ). Στατιστικά σημαντική είναι η διαφορά για τις περιόδους 6-12 και 12-24 ώρες μετά το ΕΜ.

	N	0-1h	1-6h	6-12h	12-24h
ΦΟ	27	$2,3 \pm 0,5$	$4,7 \pm 0,6$	$5,7 \pm 0,5$	$4,8 \pm 0,8$
ΑΟ	26	$2,1 \pm 0,4$	$2,9 \pm 0,5$	$2,1 \pm 0,4$	$0,9 \pm 0,4$
P		0,83	0,12	0,003	0,001





Εικ.36 Αρρυθμικό σκορ σε σχέση με το χρόνο που ακολουθεί το ΕΜ. Στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις δύο ομάδες παρατηρούνται για τις περιόδους 6-12 και 12-24 ώρες μετά το ΕΜ.

* $p < 0,01$

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8^ο

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Πειραματικές μελέτες έχουν δείξει ότι η πρώιμη χορήγηση αυξητικής ορμόνης μετά από πρόκληση εμφράγματος του μυοκαρδίου μειώνει το μέγεθος της νεκρωθείσας περιοχής [140, 239], προκαλεί υπερτροφία στο τραυματισμένο μυοκάρδιο [140, 146, 320, 321] και βοηθά στην επιδιόρθωση της αριστερής κοιλίας [146, 193, 320]. Η πρώιμη αυτή χορήγηση όμως είναι άγνωστο αν επιδρά στην επίπτωση των κοιλιακών αρρυθμιών που συμβαίνουν μετεμφραγματικά. Υποθέσαμε ότι οι προαναφερθείσες ευνοϊκές επιδράσεις της ΑΟ ενδέχεται να μειώνουν την αρρυθμογένεση νωρίς μετά την απόφραξη της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας.

Η μελέτη μας είναι η πρώτη που αναδεικνύει την αντιαρρυθμική δράση της αυξητικής ορμόνης σε πειραματικό μοντέλο εμφράγματος επιμύων. Η αντιαρρυθμική αυτή δράση ήταν εντονότερη κατά τη διάρκεια της δεύτερης αρρυθμογόνου φάσης που ακολουθεί την πρόκληση του εμφράγματος. Οι ηλεκτροφυσιολογικές μεταβολές που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της πρώτης φάσης περιλαμβάνουν αύξηση του εξωκυττάριου καλίου, αύξηση της λειτουργικότητας των διαύλων καλίου που ευθύνονται για την επαναπόλωση και σχετική απενεργοποίηση των διαύλων νατρίου [322]. Έτσι, ενώ η επανείσοδος και το ρεύμα βλάβης ευθύνονται για τις αρρυθμίες της φάσης Ι, η επανείσοδος και ο ανώμαλος αυτοματισμός (καθυστερημένες μετεκπολώσεις) φαίνεται να κυριαρχούν κατά τη διάρκεια ολοκλήρωσης της νέκρωσης. Από την άλλη, δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές στο ΗΚΓ και τις αιμοδυναμικές παραμέτρους που περιγράφουν τα λίγα δευτερόλεπτα που προηγούνται των κοιλιακών αρρυθμιών είτε της μίας, είτε της άλλης φάσης [285].

Αν και η μείωση στις αρρυθμίες της πρώτης φάσης δεν ήταν στατιστικά σημαντική, δεν μπορεί να αποκλεισθεί η άμεση επίδραση της αυξητικής ορμόνης στην ανταλλαγή ιόντων της κυτταρικής μεμβράνης των κοιλιακών μυοκυττάρων. Ο IGF-1 διεγείρει την έκφραση των διαύλων καλίου σε



καλλιέργειες κοιλιακών μυοκυττάρων επιμύων [323], ενώ είναι πιθανή η επίδραση στη μετακίνηση των ιόντων Na^+/K^+ είτε από τον IGF-1 [324, 325], είτε από την οξεία «ινσουλινόμορφη» δράση της αυξητικής ορμόνης [326]. Πιθανή είναι επίσης η αύξηση, και από τους δύο παράγοντες, της εισροής στα καρδιακά κύτταρα γλυκόζης, η οποία βελτιώνει το μεταβολισμό και προστατεύει τις ηλεκτροφυσιολογικές ιδιότητές τους, ενώ η οξεία ενδοφλέβια χορήγηση IGF-1 σε σκύλους είναι γνωστό ότι προκαλεί αλλαγές στις συγκεντρώσεις καλίου και ασβεστίου, και αύξηση του δυναμικού του κύματος T [327].

Σημαντική πηγή των αρρυθμιών της δεύτερης φάσης είναι το *borderzone* μεταξύ υγιούς και ισχαιμικού ιστού [285, 328]. Σημαντικές διαφορές στις ηλεκτροφυσιολογικές ιδιότητες των καρδιακών μυοκυττάρων της περιοχής, όπως διαφορές στη ΔΔΕ, ευνοούν τον ανώμαλο αυτοματισμό και την επανείσοδο. Προγενέστερες μελέτες έχουν δείξει ότι η καρδιοπροστατευτική δράση του άξονα AO/IGF-1 αφορά κυρίως σε αυτή την περιοχή [233, 242]. Ο ακριβής μηχανισμός αύξησης της επιβίωσης των καρδιακών κυττάρων δεν είναι γνωστός, αλλά φαίνεται ότι περιλαμβάνει την ενεργοποίηση του καταρράκτη P13 [329].

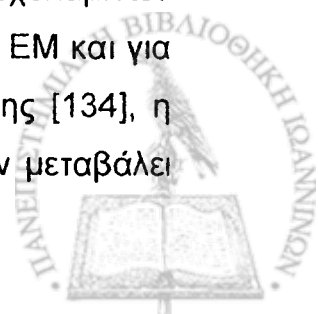
Το μέγεθος του εμφράγματος που προκλήθηκε μετά την απολίνωση της αριστεράς στεφανιαίας αρτηρίας έτεινε να είναι μικρότερο στην ομάδα που έλαβε αυξητική ορμόνη ($40,1 \pm 7,7\%$ για τα controls και $35,4 \pm 8,2\%$ για την ομάδα θεραπείας, $p=0,08$). Εικάζουμε ότι η απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς οφείλεται στην υψηλή θνητότητα των επιμύων που έλαβαν φυσιολογικό ορό, και δεν αντιτίθεται στις προηγούμενες μελέτες που αναδεικνύουν την προστατευτική επίδραση της αυξητικής ορμόνης [140, 239]. Η θνητότητα σχετίζεται με το μέγεθος του εμφράγματος [293] και οι θανόντες επίμυες (με προφανώς υψηλό μέγεθος εμφράγματος) δεν συμπεριλήφθηκαν στους υπολογισμούς της εμφραγματικής περιοχής.

Σημαντικές είναι οι παρατηρήσεις που προέκυψαν από τη μέτρηση των επικαρδιακών μονοφασικών δυναμικών ενεργείας (ΜΔΕ) του τοιχώματος της αριστερής κοιλίας. Είναι γνωστό, ότι τα μυοκαρδιακά κύτταρα της αριστερής κοιλίας που βρίσκονται γύρω από την περιοχή του εμφράγματος, παρουσιάζουν μείωση της πυκνότητας των διαύλων καλίου 3 μέρες μετά το ΕΜ, η οποία είναι πιο έντονη στην επικαρδιακή παρά στην ενδοκαρδιακή

επιφάνεια. Η μεταβολή αυτή βρίσκεται σε συμφωνία με την παρατηρούμενη επιμήκυνση της διάρκειας του δυναμικού ενεργείας σε αυτές τις περιοχές [330]. Στη μελέτη μας διαπιστώνεται ότι η επιμήκυνση του δυναμικού ενεργείας ξεκινά από το πρώτο 24ωρο μετά το EM. Στην ομάδα που έλαβε αυξητική ορμόνη το APD90 δε μεταβλήθηκε σε σχέση με τις προεμφραγματικές μετρήσεις, σε αντίθεση με την ομάδα που έλαβε φυσιολογικό ορό. Αυτό είναι ιδιαίτερα πιθανό να οφείλεται σε άμεση επίδραση του φαρμάκου στους διαύλους καλίου [323]. Ακόμη σημαντικότερη είναι η διαπίστωση ότι η αυξητική ορμόνη προλαμβάνει την αύξηση της μεταβλητότητας του APD90 από συστολή σε συστολή, η οποία είναι γνωστό ότι σχετίζεται με την εμφάνιση ηλεκτρικών εναλλαγών και αυξημένης αρρυθμογένεσης [305, 311]. Η περιοχική ανομοιογένεια μεταξύ των μυοκαρδιακών κυττάρων στη διάρκεια του δυναμικού ενεργείας και στη μετακίνηση και διαχείριση ασβεστίου φαίνεται να ευθύνεται για αυτές τις ηλεκτρικές εναλλαγές [331].

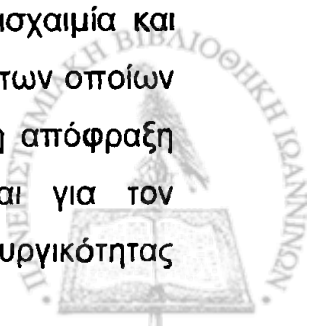
Στη μελέτη μας, διαπιστώνεται στατιστικά σημαντική μείωση της μετεμφραγματικής θνητότητας. Αυτό έρχεται σε συμφωνία και με προηγούμενες μελέτες [140, 146, 193, 320]. Η μείωση στην ομάδα που έλαβε αυξητική ορμόνη των βραδυαρρυθμικών θανάτων, οι οποίοι συνήθως οφείλονται σε οξεία καρδιακή ανεπάρκεια [293], δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Έτσι, δεν μπορούν να εξαχθούν συμπεράσματα σχετικά με την επίδραση της ΑΟ στη συσπαστικότητα της αριστερής κοιλίας, η βελτίωση της οποίας θα απέτρεπε τις κοιλιακές αρρυθμίες από μηχανο-ηλεκτρική ανάδραση, μειώνοντας το διατοιχωματικό stress [332].

Η καρδιακή συχνότητα των επιμύων κατά τις 24 ώρες που ακολούθησαν το EM δεν διέφερε μεταξύ των δύο ομάδων. Ωστόσο, η επίπτωση των κοιλιακών αρρυθμιών που συμβαίνουν μετεμφραγματικά στους εν-εγρηγόρσει επίμυες δεν εξαρτάται από αυτή καθ'εαυτή την καρδιακή συχνότητα [300], αλλά κυρίως από την μυοκαρδιακή διέγερση από το αυτόνομο νευρικό σύστημα και την τοπική απελευθέρωση κατεχολαμινών [333]. Αν και η χορήγηση αυξητικής ορμόνης σε επίμυες μετά από EM και για 3 βδομάδες μειώνει τα επίπεδα της μυοκαρδιακής νοραδρεναλίνης [134], η οξεία χορήγηση της ορμόνης νωρίς μετά το EM είναι άγνωστο αν μεταβάλλει την επίδραση του αυτόνομου νευρικού συστήματος στο μυοκάρδιο.



Συμπερασματικά, η μελέτη αυτή είναι η πρώτη που συσχετίζει τη χορήγηση αυξητικής ορμόνης με τις ηλεκτροφυσιολογικές ιδιότητες της αριστερής κοιλίας μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου. Η παρατηρούμενη μείωση των κοιλιακών αρρυθμιών της πρώιμης μετεμφραγματικής περιόδου έρχεται να προστεθεί στις ήδη γνωστές ευεργετικές επιδράσεις της ορμόνης αυτής σε σχέση με το μέγεθος της νεκρωθείσας περιοχής και την επιβίωση. Οι πιθανοί μηχανισμοί της αντιαρρυθμικής αυτής δράσης περιλαμβάνουν την ενδεχόμενη αλλαγή στην πυκνότητα και/ή λειτουργικότητα διαμεμβρανικών διαύλων ιόντων, καθώς και τη γνωστή καρδιοπροστατευτική δράση της ορμόνης. Η κινητοποίηση του άξονα ΑΟ/IGF-1 στην πρώιμη φάση του ΕΜ είχε επίσης άμεση επίδραση στο δυναμικό ενεργείας των επικαρδιακών μυοκυττάρων. Στην ομάδα που έλαβε φυσιολογικό ορό παρατηρήθηκε επιμήκυνση του APD90 και έντονη ανομοιογένεια στις μετρήσεις από συστολή σε συστολή, 24 ώρες μετά το ΕΜ, ενώ στην ομάδα που έλαβε αυξητική ορμόνη υπήρξε σταθερό APD90 σε σχέση με την προεμφραγματική περίοδο και ομοιογένεια στη διάρκεια του δυναμικού ενεργείας των επικαρδιακών κυττάρων. Αυτά τα ευρήματα αποκτούν ιδιαίτερη σημασία υπό το πρίσμα του αυξανόμενου ενδιαφέροντος που επιδεικνύεται σήμερα γύρω από τους αυτοκρινείς/παρακρινείς μηχανισμούς που διέπουν τη θεραπεία μεταμόσχευσης κυττάρων στο μυοκάρδιο [334], στην οποία οι αυξητικοί παράγοντες διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο [335].

Χρήσιμες πληροφορίες θα παρέχονταν από μερικές παραπάνω μετρήσεις, που δεν πραγματοποιήθηκαν για τεχνικούς κυρίως λόγους. Ο προσδιορισμός των τοπικών επιπέδων IGF-1 στο μυοκάρδιο θα διευκρίνιζε το κατά πόσο η αντιαρρυθμική δράση της αυξητικής ορμόνης είναι άμεση ή IGF-1-εξαρτώμενη. Επίσης, δεν ήταν εφικτή η εκτίμηση αιμοδυναμικών παραμέτρων, που θα αναδείκνυαν την επίδραση της οξείας χορήγησης αυξητικής ορμόνης στο καρδιαγγειακό σύστημα, κάτι το οποίο δεν έχει μελετηθεί. Ακόμη, ενδιαφέρον θα παρουσίαζε η διερεύνηση της επίδρασης της αυξητικής ορμόνης στις αρρυθμίες που συμβαίνουν μετά από ισχαιμία και επαναιμάτωση του μυοκαρδίου, οι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί των οποίων διαφέρουν από αυτούς των αρρυθμιών που ακολουθούν μόνιμη απόφραξη στεφανιαίου αγγείου. Τέλος, μελλοντικές μελέτες απαιτούνται για τον προσδιορισμό των μεταβολών των συγκεντρώσεων και της λειτουργικότητας



των διαύλων καλίου, νατρίου και ασβεστίου μετά από χορήγηση αυξητικής ορμόνης, με την τεχνική patch-clamp.

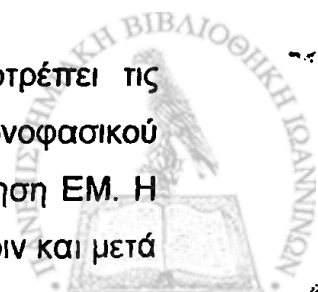


ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9^ο

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Επιγραμματικά, η παρούσα μελέτη έδειξε ότι:

- Η οξεία χορήγηση αυξητικής ορμόνης σε επίμυες μειώνει τις κοιλιακές αρρυθμίες που ακολουθούν τη μόνιμη απόφραξη της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας. Η μείωση αφορά κυρίως στις αρρυθμίες της φάσης II, οι οποίες οφείλονται είτε σε ανώμαλο αυτοματισμό, είτε σε μηχανισμό επανεισόδου.
- Η οξεία χορήγηση αυξητικής ορμόνης σε επίμυες μειώνει τη θνητότητα που προκαλεί η μόνιμη απόφραξη της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας. Η εν λόγω ορμόνη ελαττώνει τόσο τη θνητότητα που προκαλείται από ταχυκαρδία, όσο και τη συνολική.
- Το μονοφασικό δυναμικό ενεργείας των επικαρδιακών κυττάρων της αριστερής κοιλίας επίμυος που έχει υποστεί ΕΜ εμφανίζει επιμήκυνση της διάρκειας του δυναμικού ενεργείας στο 90 % της επαναπόλωσης (APD90), 24 ώρες μετά την απόφραξη του στεφανιαίου αγγείου. Επίσης, εμφανίζει σημαντική μεταβλητότητα του APD90, η οποία σχετίζεται με την ανομοιογένεια στην πορεία της επαναπόλωσης μεταξύ των μυοκαρδιακών κυττάρων γειτονικών περιοχών. Η ανομοιογένεια αυτή δημιουργεί ιδανικές συνθήκες για την εμφάνιση αρρυθμιών από επανείσοδο.
- Η οξεία χορήγηση αυξητικής ορμόνης σε επίμυες αποτρέπει τις μεταβολές των χαρακτηριστικών του επικαρδιακού μονοφασικού δυναμικού της αριστερής κοιλίας, 24 ώρες μετά την πρόκληση ΕΜ. Η διάρκεια του δυναμικού ενεργείας παραμένει αμετάβλητη, πριν και μετά



- την απόφραξη του στεφανιαίου αγγείου, ενώ η μεταβλητότητα της μέτρησης είναι σημαντικά μικρότερη σε σχέση με τους επίμους που δεν έλαβαν αγωγή.
- Η οξεία χορήγηση αυξητικής ορμόνης σε επίμους δεν έχει καμία επίδραση στην καρδιακή συχνότητα για τις 24 ώρες που ακολουθούν το ΕΜ.

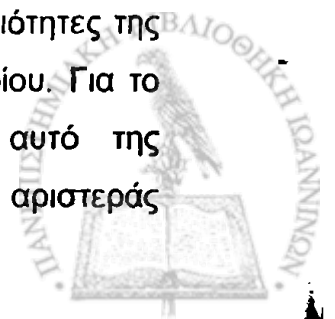


ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι αυξητικοί παράγοντες βρίσκονται στο επίκεντρο του ερευνητικού ενδιαφέροντος σχετικά με την αντιμετώπιση του οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου. Ανάμεσα στις ιδιότητές τους που τους έχουν καταστήσει πιθανούς θεραπευτικούς παράγοντες, και έχουν διαπιστωθεί κυρίως σε πειραματικές μελέτες, συγκαταλέγονται η μείωση της νεκρωθείσας περιοχής, η βελτίωση της επαναδιαμόρφωσης της αριστερής κοιλίας, η μείωση της θνητότητας, η ελάττωση του ποσοστού ανευρυσμάτων, η νεοαγγειογένεση και η βελτίωση της συστολικής λειτουργίας της υποκινητικής περιοχής, αλλά και ολόκληρης της αριστεράς κοιλίας.

Μέσα στα πλαίσια αυτά, η αυξητική ορμόνη αποτελεί σήμερα τον αυξητικό παράγοντα που προσελκύει το μεγαλύτερο ενδιαφέρον των ερευνητών. Είναι γνωστό ότι η αυξητική ορμόνη διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη φυσιολογική καρδιακή λειτουργία, καθώς τόσο στην ακρομεγαλία, όσο και στην ανεπάρκειά της παρατηρείται αυξημένη καρδιαγγειακή θνητότητα και νοσηρότητα. Επιπλέον, σε πειραματικά μοντέλα εμφράγματος του μυοκαρδίου αλλά και σε ασθενείς με οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου παρατηρείται κινητοποίηση του άξονα αυξητικής ορμόνης/IGF-1, ο βαθμός της οποίας έχει συσχετιστεί με τη βραχυ/μακροπρόθεσμη πρόγνωση. Πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει ότι η εξωγενής χορήγηση αυξητικής ορμόνης μετά το ΕΜ βελτιώνει αρκετές αιμοδυναμικές παραμέτρους, χωρίς καμία όμως να διερευνά την επίδρασή της στις ηλεκτροφυσιολογικές ιδιότητες του μυοκαρδίου. Η πρώιμη μετεμφραγματική περίοδος χαρακτηρίζεται από σημαντικές μεταβολές στην ηλεκτροφυσιολογία της καρδιάς, οι οποίες συνεπάγονται την εμφάνιση κοιλιακών αρρυθμιών, συχνά απειλητικών για τη ζωή.

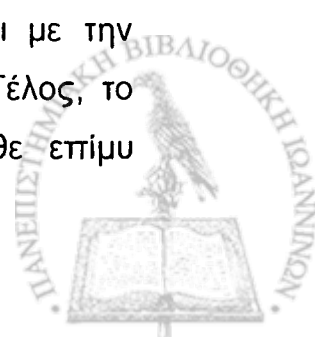
Έτσι, σκοπός αυτής της μελέτης ήταν η διερεύνηση της επίδρασης της οξείας χορήγησης αυξητικής ορμόνης στις ηλεκτροφυσιολογικές ιδιότητες της αριστερής κοιλίας μετά την πρόκληση εμφράγματος του μυοκαρδίου. Για το σκοπό αυτό, καταλληλότερο πειραματικό μοντέλο κρίθηκε αυτό της πρόκλησης εμφράγματος σε επίμυες με απολίνωση της αριστεράς



στεφανιαίας αρτηρίας. Οι επίμυες αποτελούν ιδανικό μοντέλο, καθώς εμφανίζουν μεγάλο αριθμό αρρυθμιών μετά το ΕΜ, οι οποίες συνήθως αυτοτερματίζονται, επιτρέποντας τη λήψη από ένα πειραματόζωο μεγάλου αριθμού δεδομένων. Ακόμη, οι κοιλιακές αρρυθμίες που προκαλούνται ακολουθούν διφασική κατανομή στο χρόνο, η οποία βρίσκεται σε αρμονία με τη διφασική κατανομή που χαρακτηρίζει και τον άνθρωπο. Στα πλεονεκτήματα του μοντέλου αναφέρονται ακόμη το μικρό μέγεθος του ζώου και το χαμηλό κόστος αναπαραγωγής και συντήρησής του.

- Το έμφραγμα του μυοκαρδίου προκλήθηκε με απολίνωση της αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας, τοποθετώντας ένα λεπτό ράμμα μεταξύ του κώνου της πνευμονικής αρτηρίας και του αριστερού ωτίου, μετά από θωρακοτομή. Η εκτίμηση των κοιλιακών αρρυθμιών που ακολουθούν έγινε με τη βοήθεια ειδικού συστήματος ασύρματης καταγραφής και επεξεργασίας ΗΚΓ σήματος, το οποίο αποτελείται από έναν πομπό που τοποθετείται στην περιτοναϊκή κοιλότητα του ζώου, και έναν δέκτη κάτω από το κλουβί του πειραματοζώου. Ο πομπός φέρει δύο ηλεκτρόδια, τα οποία οδηγούνται υποδορίως σε θέσεις λήψης της απαγωγής II, και μεταφέρει αδιάκοπα ΗΚΓ σήμα σε έναν Η/Υ, επιτρέποντας την ελεύθερη δραστηριότητα του επίμου και αποφεύγοντας την επίδραση της αναισθησίας σε παραμέτρους όπως ο τόνος του αυτόνομου νευρικού συστήματος ή η συγκέντρωση του εξωκυττάριου καλίου.

Παράλληλα, για τον έλεγχο της επίδρασης της αυξητικής ορμόνης στο δυναμικό ενεργείας των μυοκαρδιακών κυττάρων, καταγράφηκαν μονοφασικά δυναμικά ενεργείας από την επικαρδιακή επιφάνεια της αριστερής κοιλίας, ακριβώς πριν και 24 ώρες μετά το ΕΜ. Τα μονοφασικά δυναμικά ενεργείας (ΜΔΕ) αποτελούν δυναμικά που λαμβάνονται με ειδικό καθετήρα από ομάδα κυττάρων *in vivo*, και αναπαριστούν, υπό κατάλληλες συνθήκες, με μεγάλη αξιοπιστία τα διαμεμβρανικά δυναμικά ενεργείας. Υπολογίστηκε η διάρκεια του δυναμικού ενεργείας στο 90% της επαναπόλωσης (APD90), και η τυπική απόκλιση του APD90 σε κάθε καταγραφή, ως μέτρο της μεταβλητότητας από παλμό σε παλμό. Η υψηλή μεταβλητότητα του APD90 σχετίζεται με την εμφάνιση ηλεκτρικών εναλλαγών και ισχαιμικών ταχυαρρυθμιών. Τέλος, το ποσοστό της αριστεράς κοιλίας που τελικά νεκρώθηκε σε κάθε επίμου υπολογίστηκε με τη μέθοδο του TTC.

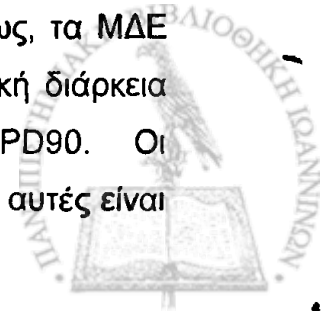


Μελετήθηκαν 63 θηλυκοί επίμυες του γένους Wistar, εκ των οποίων 10 απεβίωσαν κατά την εγχείρηση και αποκλείστηκαν από την περαιτέρω ανάλυση. Οι επίμυες, κατόπιν τυχαιοποίησης 1:1, έλαβαν ενδοπεριτοναϊκώς είτε φυσιολογικό ορό (ΦΟ) (n=27), είτε αυξητική ορμόνη (ΑΟ) (n=26) σε δύο δόσεις των 2IU/Kg, 24 ώρες πριν και 30 λεπτά πριν την πρόκληση του εμφράγματος. Η ασύρματη καταγραφή του ΗΚΓ σήματος ξεκινούσε 24 ώρες πριν και τερματιζόταν 24 ώρες μετά το ΕΜ. Τα ΜΔΕ μετρήθηκαν ακριβώς πριν και 24 ώρες μετά το ΕΜ, ενώ το μέγεθος του εμφράγματος προσδιορίστηκε 24 ώρες μετά το ΕΜ.

Η ομάδα που έλαβε αυξητική ορμόνη παρουσίασε σημαντικά μεγαλύτερο ποσοστό επιβίωσης. Οι θάνατοι που παρατηρήθηκαν, προηγούνταν από ένα καταγεγραμμένο επεισόδιο είτε κοιλιακής μαρμαρυγής, είτε βραδυκαρδίας με κολποκοιλιακό αποκλεισμό. Η ομάδα που έλαβε ΑΟ είχε σημαντικά λιγότερους θανάτους από κοιλιακή μαρμαρυγή, λιγότερους θανάτους από βραδυκαρδία αλλά χωρίς στατιστική σημαντικότητα, και στατιστικά μικρότερη ολική θνητότητα ανεξαρτήτου αιτιολογίας.

Η οξεία χορήγηση αυξητικής ορμόνης είχε σαν αποτέλεσμα τη μείωση των κοιλιακών αρρυθμιών μετά το ΕΜ. Η ωριαία διάρκεια των επεισοδίων κοιλιακής ταχυκαρδίας ή μαρμαρυγής βρέθηκε χαμηλότερη στην ομάδα της ΑΟ για το σύνολο της καταγραφής, για τη φάση II, ενώ για τη φάση I βρέθηκε μικρότερη, χωρίς η διαφορά να είναι στατιστικά σημαντική. Χρησιμοποιώντας τη μέθοδο του αρρυθμικού σκορ, η ομάδα της ΑΟ εμφάνισε χαμηλότερο σκορ τόσο για την περίοδο 6-12 ώρες μετά το ΕΜ, όσο και για την περίοδο 12-24 ώρες.

Τα ΜΔΕ 24 ώρες μετά την πρόκληση του εμφράγματος παρουσίασαν παράταση του δυναμικού ενεργείας στην ομάδα των επιμύων που είχαν λάβει φυσιολογικό ορό, σε συνδυασμό με έντονη μεταβλητότητα του APD90, όπως αυτή εκτιμάται με την τυπική απόκλιση του APD90. Οι υψηλές τιμές της μεταβλητότητας αυτής σχετίζονται με ανομοιογένεια στην πορεία της επαναπόλωσης μεταξύ των μυοκαρδιακών κυττάρων γειτονικών περιοχών, η οποία ευνοεί την εμφάνιση αρρυθμιών από επανείσοδο. Αντιθέτως, τα ΜΔΕ από επίμυες που έλαβαν αυξητική ορμόνη εμφάνισαν φυσιολογική διάρκεια δυναμικού ενεργείας και χαμηλή μεταβλητότητα του APD90. Οι ηλεκτροφυσιολογικοί μηχανισμοί που ευθύνονται για τις μεταβολές αυτές είναι



ελάχιστα γνωστοί. Πιθανά σχετίζονται με τη μείωση είτε της πυκνότητας, είτε της δραστηριότητας των διαύλων καλίου, οι οποίοι καθορίζουν και την πορεία της επαναπόλωσης.

Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές στην καρδιακή συχνότητα και το μέγεθος του εμφράγματος μεταξύ των δύο ομάδων. Η έλλειψη σημαντικής διαφοράς στο μέγεθος του εμφράγματος πιστεύουμε πως οφείλεται είτε στο μικρό δείγμα, είτε στην υψηλή θνητότητα που διαπιστώθηκε στην ομάδα που έλαβε φυσιολογικό ορό. Η θνητότητα σχετίζεται με το μέγεθος του εμφράγματος, και οι επίμυες που πέθαναν πριν τις 24 ώρες (με λογικά μεγάλο μέγεθος νεκρωθείσας περιοχής) δεν συμπεριελήφθησαν στις μετρήσεις.

Συμπερασματικά, η οξεία χορήγηση αυξητικής ορμόνης στους επίμυες ελάττωσε τις κοιλιακές αρρυθμίες, βελτίωσε την 24ωρη επιβίωσή τους και διαφύλαξε τα χαρακτηριστικά του δυναμικού ενεργείας των μυοκαρδιακών κυττάρων της αριστεράς κοιλίας, 24 ώρες μετά την πρόκληση του εμφράγματος. Πιθανοί μηχανισμοί για την αντιαρρυθμική αυτή δράση είναι η κυτταροπροστασία και η διαφύλαξη των ηλεκτροφυσιολογικών χαρακτηριστικών της μυοκαρδιακής ίνας, καθώς και η άμεση επίδραση στη συγκέντρωση και/ή λειτουργικότητα των διαμεμβρανικών διαύλων ιόντων που καθορίζουν την πορεία της επαναπόλωσης.

Τα ευρήματα αυτά αποκτούν ιδιαίτερη σημασία, καθώς εντατική είναι σήμερα η έρευνα στο πεδίο της μεταμόσχευσης αρχέγονων πολυδύναμων κυττάρων στο μυοκάρδιο και/ή της ενεργοποίησης των μυοκαρδιακών stem cells, με στόχο τη διαφοροποίησή τους και την αποκατάσταση της λειτουργικότητας της εμφραγματικής περιοχής. Σε αυτές τις διαδικασίες κεντρικός είναι ο ρόλος των αυξητικών παραγόντων, αλλά άγνωστη η επίδρασή τους στις ηλεκτροφυσιολογικές ιδιότητες των μυοκαρδιακών κυττάρων. Έτσι, απαραίτητη είναι η περαιτέρω μελέτη των μηχανισμών που ευθύνονται για την κυτταροπροστατευτική και αντιαρρυθμική δράση της αυξητικής ορμόνης/IGF-1, σε πειραματικό μοντέλο πλήρους απόφραξης της στεφανιαίας αρτηρίας αλλά και ισχαιμίας/επαναιμάτωσης.



ABSTRACT

Growth factors have been intensively examined over the past years, in regard of their potential therapeutic value in the acute phase of myocardial infarction. The principal findings in experimental infarctions treated with growth factors include a reduction in the extent of infarction, a suppression of slippage and remodeling, a lower mortality, a reduction in the incidence of ventricular aneurysms to one third of the control cases, an increase in neoangiogenesis, an improvement of mechanical efficiency and inotropism, with restoration of contractility in both the akinetic affected area and the whole left ventricle.

Growth hormone is extensively studied among growth factors. Growth hormone's importance in cardiac physiology is well established: in acromegaly, as well as in growth hormone deficiency, there is increased cardiovascular mortality and disease. In addition, it is known that there is a stimulation of GH/IGF-1 axis after myocardial infarction, in humans and in animals, and the degree of this stimulation correlates with prognosis. Moreover, exogenous administration of growth hormone has been shown to have beneficial effects after myocardial infarction, improving cardiac performance and remodeling. However, little is known about the electrophysiologic effects of acute growth hormone administration during the early phase of myocardial infarction.

The purpose of this study was to investigate whether acute administration of growth hormone, early during the onset of myocardial infarction, would have any influence in the incidence of ventricular arrhythmias. We hypothesized that the cardioprotective effects of growth hormone may decrease ventricular arrhythmias post-MI. In order to examine this hypothesis, we used the rat model of MI, which exhibits a high frequency of ventricular arrhythmias, usually self-terminating, with a time course corresponding to that seen in humans.

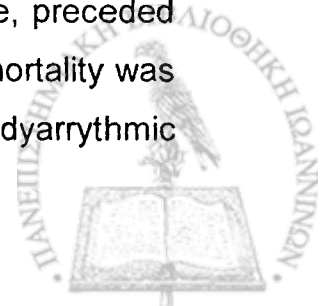


Induction of myocardial infarction was achieved by ligation of the left coronary artery, using a 6-0 suture, placed between the pulmonary artery cone and the left atrial appendage, after thoracotomy. A continuous electrocardiogram telemetry transmitter was implanted in the abdominal cavity of each animal. The rats were then housed in individual cages, placed on a receiver that continuously captured the signal, independently of animal activity. The ECG signal was displayed in real-time with the use of a computer program, and stored for analysis. This telemetry system permits the uninterrupted 24 hour evaluation of ventricular arrhythmic events, avoiding the influence of anaesthesia on the plasma concentration of potassium (increase) and the autonomic nervous system.

Epicardial monophasic action potential (MAP) signals were recorded before the induction of MI and 24 hours later. MAPs are extracellularly recorded wave forms that, under optimal conditions, can reproduce the repolarization time course of transmembrane action potentials (TAPs) with high fidelity. A MAP probe was placed on the lateral LV wall and the signal was amplified and filtered at 50 Hz. Action potential duration at 90 % of repolarization (APD90) was measured at baseline and 24 hours after MI. The standard deviation of APD90 was calculated for each recording, as a measure of beat-to-beat variation, which correlates with electrical alternans and development of ischemic tachyarrhythmias. Finally, infarct size was measured using the TTC technique.

The study was conducted in 63 female Wistar rats. Of these, 10 died during the surgical procedure and were excluded. Rats were randomized in a 1:1 fashion, into two intraperitoneal injections of either 2IU/kg GH (n=26) or normal saline (n=27), given 24 hours and 30 minutes prior to MI generation. Continuous telemetry recording was performed, starting 24 hours before, and ending 24 hours post-MI. Infarct size was calculated 24 hours post-MI.

Overall mortality was significantly lower in the GH group, compared to controls. Tachyarrhythmic death was defined as ventricular asystole, preceded by sustained VF and bradyarrhythmic death as ventricular asystole, preceded by bradycardia associated with complete heart block. Arrhythmic mortality was significantly lower in the GH group, compared to controls. No bradyarrhythmic



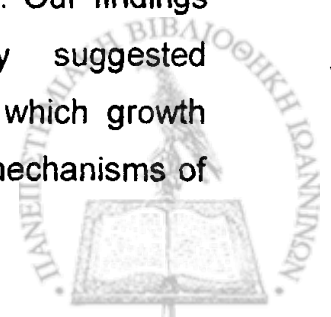
deaths occurred in GH-treated rats, but the difference between groups was not statistically significant.

Administration of growth hormone decreased ventricular arrhythmias after the onset of MI. Total and phase II hourly duration of VT+VF was significantly lower in the GH group, compared to controls. Phase I hourly duration of VT+VF was lower in the GH group, compared to controls, but this difference was not statistically significant. Arrhythmia score was significantly lower in the GH group for the phases 6-12 and 12-24 hours post-MI. Thus, growth hormone decreases phase II ventricular arrhythmias during acute myocardial infarction in rats.

There was a significant variance in LV APD90, that was due to a significant increase in LV APD90 24 hours post-MI in the control group, compared to baseline. In contrast, no significant changes in LV APD90 were observed in the GH group. Compared to baseline, beat-to-beat variation of LV APD90 24 hours post-MI increased significantly in the control group, but remained unchanged in the GH-treated group. The pathophysiologic mechanisms responsible for these alterations are poorly understood. Possible explanations include early down-regulation of K⁺ channel genes and currents in the postinfarction heart, affecting the time course of repolarization.

There were no significant differences in heart rate and infarct size between the two groups. The lack of significant difference in infarct size between treated and control rats, is probably secondary to the higher mortality observed in the control group and does not contradict the previously reported cardioprotective actions of GH. Mortality correlates with infarct size and, as per our protocol, deceased rats (with presumably larger infarcts) were not included in infarct size measurement.

In summary, our findings indicate that early post-MI GH/IGF-1 activation reduces ventricular arrhythmias in the rat. Although a variety of mechanisms may be operative, including a direct effect of GH on ion transport, a cytoprotective effect may best explain our results. Our findings gain particular importance, in light of the recently suggested autocrine/paracrine effects of cell transplantation therapy, in which growth factors play a central role. Future studies should explore the mechanisms of



cytoprotective and antiarrhythmic effects of early GH/IGF-1 activation during MI, with or without reperfusion.

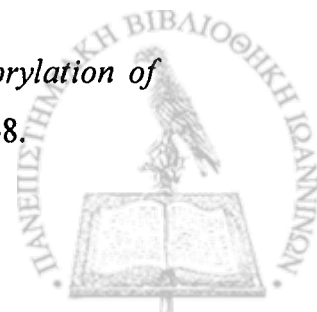


ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

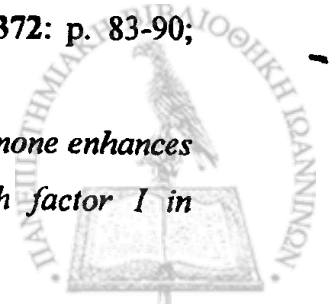
1. Nussey, S., *Endocrinology An Integrated Approach*. 2001: Saffron Whitehead © BIOS Scientific Publishers Ltd.
2. Ayuk, J. and M.C. Sheppard, *Growth hormone and its disorders*. Postgrad Med J, 2006. **82**(963): p. 24-30.
3. Le Roith, D., et al., *The somatomedin hypothesis: 2001*. Endocr Rev, 2001. **22**(1): p. 53-74.
4. Lowe, W.L., Jr., et al., *Distribution and regulation of rat insulin-like growth factor I messenger ribonucleic acids encoding alternative carboxyterminal E-peptides: evidence for differential processing and regulation in liver*. Mol Endocrinol, 1988. **2**(6): p. 528-35.
5. Lowe, W.L., Jr., et al., *Differential expression of alternative 5' untranslated regions in mRNAs encoding rat insulin-like growth factor I*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1987. **84**(24): p. 8946-50.
6. Yoshizato, H., et al., *The growth hormone (GH) gene is expressed in the lateral hypothalamus: enhancement by GH-releasing hormone and repression by restraint stress*. Endocrinology, 1998. **139**(5): p. 2545-51.
7. de Mello-Coelho, V., et al., *Growth hormone and its receptor are expressed in human thymic cells*. Endocrinology, 1998. **139**(9): p. 3837-42.
8. Kooijman, R., et al., *Human neutrophils express GH-N gene transcripts and the pituitary transcription factor Pit-1b*. Endocrinology, 1997. **138**(10): p. 4481-4.
9. Boguszewski, C.L., et al., *Cloning of two novel growth hormone transcripts expressed in human placenta*. J Clin Endocrinol Metab, 1998. **83**(8): p. 2878-85.
10. Mol, J.A., et al., *Expression of the gene encoding growth hormone in the human mammary gland*. J Clin Endocrinol Metab, 1995. **80**(10): p. 3094-6.
11. Waters, M.J., et al., *Growth hormone as a cytokine*. Clin Exp Pharmacol Physiol, 1999. **26**(10): p. 760-4.



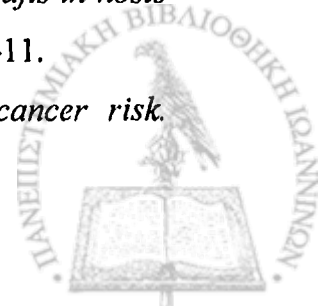
12. Ling, N., et al., *Isolation, primary structure, and synthesis of human hypothalamic somatocristin: growth hormone-releasing factor*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1984. **81**(14): p. 4302-6.
13. Brazeau, P., et al., *Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone*. Science, 1973. **179**(68): p. 77-9.
14. Muggeo, M., et al., *The influence of plasma triglycerides on human growth hormone response to arginine and insulin: a study in hyperlipemics and normal subjects*. Horm Metab Res, 1975. **7**(5): p. 367-74.
15. Carro, E., et al., *Regulation of in vivo growth hormone secretion by leptin*. Endocrinology, 1997. **138**(5): p. 2203-6.
16. Kamegai, J., et al., *Growth hormone receptor gene is expressed in neuropeptide Y neurons in hypothalamic arcuate nucleus of rats*. Endocrinology, 1996. **137**(5): p. 2109-12.
17. Chan, Y.Y., R.A. Steiner, and D.K. Clifton, *Regulation of hypothalamic neuropeptide-Y neurons by growth hormone in the rat*. Endocrinology, 1996. **137**(4): p. 1319-25.
18. Bazan, J.F., *Haemopoietic receptors and helical cytokines*. Immunol Today, 1990. **11**(10): p. 350-4.
19. Carter-Su, C. and L.S. Smit, *Signaling via JAK tyrosine kinases: growth hormone receptor as a model system*. Recent Prog Horm Res, 1998. **53**: p. 61-82; discussion 82-3.
20. Takeda, K. and S. Akira, *STAT family of transcription factors in cytokine-mediated biological responses*. Cytokine Growth Factor Rev, 2000. **11**(3): p. 199-207.
21. Leonard, W.J. and J.J. O'Shea, *Jaks and STATs: biological implications*. Annu Rev Immunol, 1998. **16**: p. 293-322.
22. Argetsinger, L.S., et al., *Growth hormone, interferon-gamma, and leukemia inhibitory factor utilize insulin receptor substrate-2 in intracellular signaling*. J Biol Chem, 1996. **271**(46): p. 29415-21.
23. Carter-Su, C., et al., *Signalling pathway of GH*. Endocr J, 1996. **43 Suppl**: p. S65-70.
24. Souza, S.C., et al., *Growth hormone stimulates tyrosine phosphorylation of insulin receptor substrate-1*. J Biol Chem, 1994. **269**(48): p. 30085-8.



25. Le Roith, D. and A.A. Butler, *Insulin-like growth factors in pediatric health and disease*. J Clin Endocrinol Metab, 1999. **84**(12): p. 4355-61.
26. Billestrup, N., et al., *Introduction of exogenous growth hormone receptors augments growth hormone-responsive insulin biosynthesis in rat insulinoma cells*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1990. **87**(18): p. 7210-4.
27. Kostyo, J.L., *Rapid effects of growth hormone on amino acid transport and protein synthesis*. Ann N Y Acad Sci, 1968. **148**(2): p. 389-407.
28. DeVol, D.L., et al., *Activation of insulin-like growth factor gene expression during work-induced skeletal muscle growth*. Am J Physiol, 1990. **259**(1 Pt 1): p. E89-95.
29. Guler, H.P., et al., *Recombinant human insulin-like growth factor I stimulates growth and has distinct effects on organ size in hypophysectomized rats*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1988. **85**(13): p. 4889-93.
30. Gluckman, P.D., M.M. Grumbach, and S.L. Kaplan, *The neuroendocrine regulation and function of growth hormone and prolactin in the mammalian fetus*. Endocr Rev, 1981. **2**(4): p. 363-95.
31. Kember, N.F., *Cell kinetics and the control of growth in long bones*. Cell Tissue Kinet, 1978. **11**(5): p. 477-85.
32. Ottosson, M., et al., *Growth hormone inhibits lipoprotein lipase activity in human adipose tissue*. J Clin Endocrinol Metab, 1995. **80**(3): p. 936-41.
33. Asayama, K., et al., *Growth-hormone-induced changes in postheparin plasma lipoprotein lipase and hepatic triglyceride lipase activities*. Metabolism, 1984. **33**(2): p. 129-31.
34. Rosenfeld, R.G., et al., *Both human pituitary growth hormone and recombinant DNA-derived human growth hormone cause insulin resistance at a postreceptor site*. J Clin Endocrinol Metab, 1982. **54**(5): p. 1033-8.
35. Goodman, H.M., *Biological activity of bacterial derived human growth hormone in adipose tissue of hypophysectomized rats*. Endocrinology, 1984. **114**(1): p. 131-5.
36. Schofield, P.N., *Molecular biology of the insulin-like growth factors: gene structure and expression*. Acta Paediatr Scand Suppl, 1991. **372**: p. 83-90; discussion 91.
37. McCarthy, T.L., M. Centrella, and E. Canalis, *Parathyroid hormone enhances the transcript and polypeptide levels of insulin-like growth factor I in*



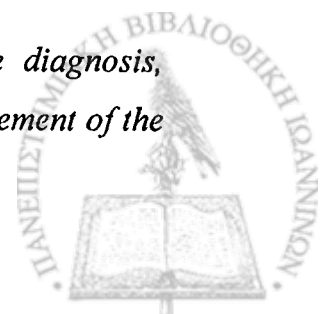
- osteoblast-enriched cultures from fetal rat bone. Endocrinology, 1989. 124(3): p. 1247-53.*
38. Miyakoshi, N., et al., *Evidence that anabolic effects of PTH on bone require IGF-I in growing mice. Endocrinology, 2001. 142(10): p. 4349-56.*
39. Becker, K.L., *Principles and Practise of ENDOCRINOLOGY and METABOLISM.* 2nd ed. 1995: J. B. LIPPINCOTT COMPANY.
40. Jones, J.I. and D.R. Clemmons, *Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. Endocr Rev, 1995. 16(1): p. 3-34.*
41. Hankinson, S.E., et al., *Circulating concentrations of insulin-like growth factor-I and risk of breast cancer. Lancet, 1998. 351(9113): p. 1393-6.*
42. Kaaks, R., et al., *Prospective study of IGF-I, IGF-binding proteins, and breast cancer risk, in northern and southern Sweden. Cancer Causes Control, 2002. 13(4): p. 307-16.*
43. Missmer, S.A., et al., *A sequence repeat in the insulin-like growth factor-I gene and risk of breast cancer. Int J Cancer, 2002. 100(3): p. 332-6.*
44. Ruan, W. and D.L. Kleinberg, *Insulin-like growth factor I is essential for terminal end bud formation and ductal morphogenesis during mammary development. Endocrinology, 1999. 140(11): p. 5075-81.*
45. Hadsell, D.L., et al., *Targeted expression of des(1-3) human insulin-like growth factor I in transgenic mice influences mammary gland development and IGF-binding protein expression. Endocrinology, 1996. 137(1): p. 321-30.*
46. Tornell, J., et al., *High frequency of mammary adenocarcinomas in metallothionein promoter-human growth hormone transgenic mice created from two different strains of mice. J Steroid Biochem Mol Biol, 1992. 43(1-3): p. 237-42.*
47. Bates, P., et al., *Mammary cancer in transgenic mice expressing insulin-like growth factor II (IGF-II). Br J Cancer, 1995. 72(5): p. 1189-93.*
48. Arteaga, C.L., et al., *Blockade of the type I somatomedin receptor inhibits growth of human breast cancer cells in athymic mice. J Clin Invest, 1989. 84(5): p. 1418-23.*
49. Yang, X.F., et al., *Reduced growth of human breast cancer xenografts in hosts homozygous for the lit mutation. Cancer Res, 1996. 56(7): p. 1509-11.*
50. Ibrahim, Y.H. and D. Yee, *Insulin-like growth factor-I and cancer risk. Growth Horm IGF Res, 2004. 14(4): p. 261-9.*



51. Chan, J.M., et al., *Plasma insulin-like growth factor-I and prostate cancer risk: a prospective study*. Science, 1998. **279**(5350): p. 563-6.
52. Stattin, P., et al., *Plasma insulin-like growth factor-I, insulin-like growth factor-binding proteins, and prostate cancer risk: a prospective study*. J Natl Cancer Inst, 2000. **92**(23): p. 1910-7.
53. Ma, J., et al., *Prospective study of colorectal cancer risk in men and plasma levels of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-3*. J Natl Cancer Inst, 1999. **91**(7): p. 620-5.
54. Palmqvist, R., et al., *Plasma insulin-like growth factor 1, insulin-like growth factor binding protein 3, and risk of colorectal cancer: a prospective study in northern Sweden*. Gut, 2002. **50**(5): p. 642-6.
55. Kenyon, C., *A conserved regulatory system for aging*. Cell, 2001. **105**(2): p. 165-8.
56. Ogg, S., et al., *The Fork head transcription factor DAF-16 transduces insulin-like metabolic and longevity signals in C. elegans*. Nature, 1997. **389**(6654): p. 994-9.
57. Kimura, K.D., et al., *daf-2, an insulin receptor-like gene that regulates longevity and diapause in Caenorhabditis elegans*. Science, 1997. **277**(5328): p. 942-6.
58. Lin, K., et al., *daf-16: An HNF-3/forkhead family member that can function to double the life-span of Caenorhabditis elegans*. Science, 1997. **278**(5341): p. 1319-22.
59. Tatar, M., A. Bartke, and A. Antebi, *The endocrine regulation of aging by insulin-like signals*. Science, 2003. **299**(5611): p. 1346-51.
60. Coschigano, K.T., et al., *Assessment of growth parameters and life span of GHR/BP gene-disrupted mice*. Endocrinology, 2000. **141**(7): p. 2608-13.
61. Holzenberger, M., et al., *IGF-1 receptor regulates lifespan and resistance to oxidative stress in mice*. Nature, 2003. **421**(6919): p. 182-7.
62. Μπατρινοϋ, Μ., *Σύγχρονη Ενδοκρινολογία*. 1999: ΙΑΤΡ ΕΚΔ Π.Χ. ΠΑΣΧΑΛΙΔΗΣ.
63. Colao, A., et al., *Systemic complications of acromegaly: epidemiology, pathogenesis, and management*. Endocr Rev, 2004. **25**(1): p. 102-52.
64. Scarpa, R., et al., *Acromegalic axial arthropathy: a clinical case-control study*. J Clin Endocrinol Metab, 2004. **89**(2): p. 598-603.



65. Jenkins, P.J., et al., *The pathology of median neuropathy in acromegaly*. Ann Intern Med, 2000. **133**(3): p. 197-201.
66. Sacca, L., A. Cittadini, and S. Fazio, *Growth hormone and the heart*. Endocr Rev, 1994. **15**(5): p. 555-73.
67. Bondanelli, M., M.R. Ambrosio, and E.C. degli Uberti, *Pathogenesis and prevalence of hypertension in acromegaly*. Pituitary, 2001. **4**(4): p. 239-49.
68. Kahaly, G., et al., *Arrhythmia profile in acromegaly*. Eur Heart J, 1992. **13**(1): p. 51-6.
69. Herrmann, B.L., et al., *Occurrence of ventricular late potentials in patients with active acromegaly*. Clin Endocrinol (Oxf), 2001. **55**(2): p. 201-7.
70. Clayton, R.N., *Cardiovascular function in acromegaly*. Endocr Rev, 2003. **24**(3): p. 272-7.
71. Colao, A., et al., *High prevalence of cardiac valve disease in acromegaly: an observational, analytical, case-control study*. J Clin Endocrinol Metab, 2003. **88**(7): p. 3196-201.
72. Colao, A., et al., *Impact of patient's age and disease duration on cardiac performance in acromegaly: a radionuclide angiography study*. J Clin Endocrinol Metab, 1999. **84**(5): p. 1518-23.
73. Matta, M.P. and P. Caron, *Acromegalic cardiomyopathy: a review of the literature*. Pituitary, 2003. **6**(4): p. 203-7.
74. Kreze, A., E. Kreze-Spirova, and M. Mikulecky, *Risk factors for glucose intolerance in active acromegaly*. Braz J Med Biol Res, 2001. **34**(11): p. 1429-33.
75. Khandwala, H.M., et al., *The effects of insulin-like growth factors on tumorigenesis and neoplastic growth*. Endocr Rev, 2000. **21**(3): p. 215-44.
76. Holdaway, I.M., R.C. Rajasoorya, and G.D. Gamble, *Factors influencing mortality in acromegaly*. J Clin Endocrinol Metab, 2004. **89**(2): p. 667-74.
77. McCallum, R.W., et al., *Growth hormone deficiency and vascular risk*. Clin Endocrinol (Oxf), 2002. **57**(1): p. 11-24.
78. Colao, A., et al., *The heart: an end-organ of GH action*. Eur J Endocrinol, 2004. **151** Suppl 1: p. S93-101.
79. Deficiency, G.H.R.S.W.o.A.G.H., *Consensus guidelines for the diagnosis, treatment of adults with growth hormone deficiency: summary statement of the*



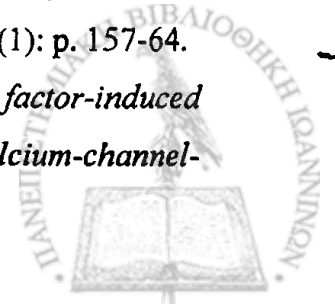
- Growth Hormone Research Society Workshop on Adult Growth Hormone Deficiency*. J Clin Endocrinol Metab, 1998. **83**: p. 379-381.
80. Carroll, P.V., E.R. Christ, and P.H. Sonksen, *Growth hormone replacement in adults with growth hormone deficiency: assessment of current knowledge*. Trends Endocrinol Metab, 2000. **11**(6): p. 231-8.
81. Trevor, K.a., *Katzung and Trevor's Pharmacology Examination and Board Review*. 6th ed. 2002: Lange Medical Books / Mc Graw-Hill.
82. Martindale, *The complete drug reference*. 33th ed. 2002: Pharmaceutical press.
83. Mathews, L.S., B. Enberg, and G. Norstedt, *Regulation of rat growth hormone receptor gene expression*. J Biol Chem, 1989. **264**(17): p. 9905-10.
84. Flyvbjerg, A., et al., *Inhibitory effect of octreotide on growth hormone-induced IGF-I generation and organ growth in hypophysectomized rats*. Am J Physiol, 1991. **260**(4 Pt 1): p. E568-74.
85. Isgaard, J., et al., *Growth hormone regulates the level of insulin-like growth factor-I mRNA in rat skeletal muscle*. J Endocrinol, 1989. **120**(1): p. 107-12.
86. Guse, A.H., et al., *Identification and characterization of insulin-like growth factor receptors on adult rat cardiac myocytes: linkage to inositol 1,4,5-trisphosphate formation*. Endocrinology, 1992. **130**(1): p. 145-51.
87. Sklar, M.M., et al., *Developmental expression of the tissue insulin-like growth factor II/mannose 6-phosphate receptor in the rat. Measurement by quantitative immunoblotting*. J Biol Chem, 1989. **264**(28): p. 16733-8.
88. Ito, H., et al., *Insulin-like growth factor-I induces hypertrophy with enhanced expression of muscle specific genes in cultured rat cardiomyocytes*. Circulation, 1993. **87**(5): p. 1715-21.
89. Murphy, L.J., G.I. Bell, and H.G. Friesen, *Growth hormone stimulates sequential induction of c-myc and insulin-like growth factor I expression in vivo*. Endocrinology, 1987. **120**(5): p. 1806-12.
90. Swynghedauw, B., *Developmental and functional adaptation of contractile proteins in cardiac and skeletal muscles*. Physiol Rev, 1986. **66**(3): p. 710-71.
91. Barany, M., *ATPase activity of myosin correlated with speed of muscle shortening*. J Gen Physiol, 1967. **50**(6): p. Suppl:197-218.
92. Delcayre, C. and B. Swynghedauw, *A comparative study of heart myosin ATPase and light subunits from different species*. Pflugers Arch, 1975. **355**(1): p. 39-47.



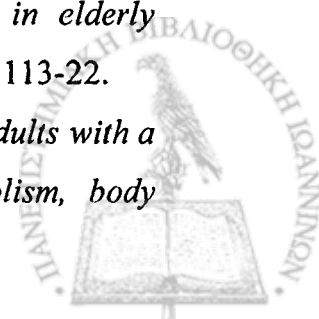
93. ▸ Mahdavi, V., M. Periasamy, and B. Nadal-Ginard, *Molecular characterization of two myosin heavy chain genes expressed in the adult heart*. *Nature*, 1982. **297**(5868): p. 659-64.
94. Pope, B., J.F. Hoh, and A. Weeds, *The ATPase activities of rat cardiac myosin isoenzymes*. *FEBS Lett*, 1980. **118**(2): p. 205-8.
95. Litten, R.Z., 3rd, et al., *Altered myosin isozyme patterns from pressure-overloaded and thyrotoxic hypertrophied rabbit hearts*. *Circ Res*, 1982. **50**(6): p. 856-64.
96. Lompre, A.M., B. Nadal-Ginard, and V. Mahdavi, *Expression of the cardiac ventricular alpha- and beta-myosin heavy chain genes is developmentally and hormonally regulated*. *J Biol Chem*, 1984. **259**(10): p. 6437-46.
97. Izumo, S., et al., *Myosin heavy chain messenger RNA and protein isoform transitions during cardiac hypertrophy. Interaction between hemodynamic and thyroid hormone-induced signals*. *J Clin Invest*, 1987. **79**(3): p. 970-7.
98. Timsit, J., et al., *Effects of chronic growth hormone hypersecretion on intrinsic contractility, energetics, isomyosin pattern, and myosin adenosine triphosphatase activity of rat left ventricle*. *J Clin Invest*, 1990. **86**(2): p. 507-15.
99. Mayoux, E., et al., *Mechanical properties of rat cardiac skinned fibers are altered by chronic growth hormone hypersecretion*. *Circ Res*, 1993. **72**(1): p. 57-64.
100. Xu, X.P. and P.M. Best, *Decreased transient outward K⁺ current in ventricular myocytes from acromegalic rats*. *Am J Physiol*, 1991. **260**(3 Pt 2): p. H935-42.
101. Apstein, C.S., et al., *Changes in LV papillary muscle performance and myosin composition with aortic insufficiency in rats*. *Am J Physiol*, 1987. **253**(5 Pt 2): p. H1005-11.
102. Lecarpentier, Y., et al., *Coordinated changes in contractility, energetics, and isomyosins after aortic stenosis*. *Am J Physiol*, 1987. **252**(2 Pt 2): p. H275-82.
103. Stromer, H., et al., *Exogenously administered growth hormone and insulin-like growth factor-I alter intracellular Ca²⁺ handling and enhance cardiac performance. In vitro evaluation in the isolated isovolumic buffer-perfused rat heart*. *Circ Res*, 1996. **79**(2): p. 227-36.



104. Tajima, M., et al., *Treatment with growth hormone enhances contractile reserve and intracellular calcium transients in myocytes from rats with postinfarction heart failure*. *Circulation*, 1999. **99**(1): p. 127-34.
105. Redaelli, G., et al., *Effects of constitutive overexpression of insulin-like growth factor-1 on the mechanical characteristics and molecular properties of ventricular myocytes*. *Circ Res*, 1998. **82**(5): p. 594-603.
106. Cittadini, A., et al., *Insulin-like growth factor-1 but not growth hormone augments mammalian myocardial contractility by sensitizing the myofilament to Ca²⁺ through a wortmannin-sensitive pathway: studies in rat and ferret isolated muscles*. *Circ Res*, 1998. **83**(1): p. 50-9.
107. Donath, M.Y., et al., *Cardiovascular and metabolic effects of insulin-like growth factor I at rest and during exercise in humans*. *J Clin Endocrinol. Metab*, 1996. **81**(11): p. 4089-94.
108. Bisi, G., et al., *Radionuclide angiographic evaluation of the cardiovascular effects of recombinant human IGF-I in normal adults*. *Eur J Endocrinol*, 1999. **140**(4): p. 322-7.
109. Wahlander, H., et al., *Interaction between the renin-angiotensin system and insulin-like growth factor I in aorto-caval fistula-induced cardiac hypertrophy in rats*. *Acta Physiol Scand*, 1999. **165**(2): p. 143-54.
110. Modesti, P.A., et al., *Different growth factor activation in the right and left ventricles in experimental volume overload*. *Hypertension*, 2004. **43**(1): p. 101-8.
111. Modesti, P.A., et al., *Early sequence of cardiac adaptations and growth factor formation in pressure- and volume-overload hypertrophy*. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2000. **279**(3): p. H976-85.
112. Sernerj, G.G., et al., *Cardiac growth factors in human hypertrophy. Relations with myocardial contractility and wall stress*. *Circ Res*, 1999. **85**(1): p. 57-67.
113. Lu, C., et al., *Demonstration of direct effects of growth hormone on neonatal cardiomyocytes*. *J Biol Chem*, 2001. **276**(25): p. 22892-900.
114. Kinugawa, S., et al., *Positive inotropic effect of insulin-like growth factor-1 on normal and failing cardiac myocytes*. *Cardiovasc Res*, 1999. **43**(1): p. 157-64.
115. Huang, C.Y., L.Y. Hao, and D.E. Buetow, *Insulin-like growth factor-induced hypertrophy of cultured adult rat cardiomyocytes is L-type calcium-channel-dependent*. *Mol Cell Biochem*, 2002. **231**(1-2): p. 51-9.



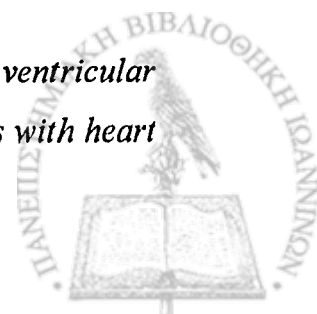
116. Tanaka, N., et al., *Effects of growth hormone and IGF-I on cardiac hypertrophy and gene expression in mice*. Am J Physiol, 1998. **275**(2 Pt 2): p. H393-9.
117. Cittadini, A., et al., *Differential cardiac effects of growth hormone and insulin-like growth factor-I in the rat. A combined in vivo and in vitro evaluation*. Circulation, 1996. **93**(4): p. 800-9.
118. Caidahl, K., S. Eden, and B.A. Bengtsson, *Cardiovascular and renal effects of growth hormone*. Clin Endocrinol (Oxf), 1994. **40**(3): p. 393-400.
119. Jenkins, P.J., *Growth hormone and exercise*. Clin Endocrinol (Oxf), 1999. **50**(6): p. 683-9.
120. Cittadini, A., et al., *Supraphysiological doses of GH induce rapid changes in cardiac morphology and function*. J Clin Endocrinol Metab, 2002. **87**(4): p. 1654-9.
121. Feinberg, M.S., M. Scheinowitz, and Z. Laron, *Cardiac dimension and function in patients with childhood onset growth hormone deficiency, before and after growth hormone retreatment in adult age*. Am Heart J, 2003. **145**(3): p. 549-53.
122. Sartorio, A., et al., *Adults with childhood-onset growth hormone deficiency: effects of growth hormone treatment on cardiac structure*. J Intern Med, 1997. **241**(6): p. 515-20.
123. Cuocolo, A., et al., *Improved left ventricular function after growth hormone replacement in patients with hypopituitarism: assessment with radionuclide angiography*. Eur J Nucl Med, 1996. **23**(4): p. 390-4.
124. Casajus, J.A., et al., *Physical repercussions of childhood-onset growth hormone (GH) deficiency and hGH treatment in adulthood*. J Pediatr Endocrinol Metab, 2003. **16**(1): p. 27-34.
125. Jorgensen, J.O., et al., *Three years of growth hormone treatment in growth hormone-deficient adults: near normalization of body composition and physical performance*. Eur J Endocrinol, 1994. **130**(3): p. 224-8.
126. Elgzyri, T., et al., *The effects of GH replacement therapy on cardiac morphology and function, exercise capacity and serum lipids in elderly patients with GH deficiency*. Clin Endocrinol (Oxf), 2004. **61**(1): p. 113-22.
127. Gillberg, P., et al., *Commencing growth hormone replacement in adults with a fixed low dose. Effects on serum lipoproteins, glucose metabolism, body*



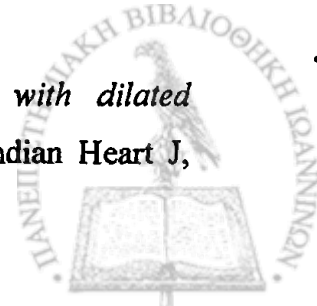
- composition, and cardiovascular function. Growth Horm IGF Res, 2001. 11(5): p. 273-81.*
128. Tritos, N.A. and C.S. Mantzoros, *Recombinant human growth hormone: old and novel uses. Am J Med, 1998. 105(1): p. 44-57.*
129. Castagnino, H.E., et al., *Bivalent effects of human growth hormone in experimental myocardial infarcts. Protective when administered alone and aggravating when combined with beta blockers. Jpn Heart J, 1990. 31(6): p. 845-55.*
130. Cittadini, A., et al., *Growth hormone attenuates early left ventricular remodeling and improves cardiac function in rats with large myocardial infarction. J Am Coll Cardiol, 1997. 29(5): p. 1109-16.*
131. Grimm, D., et al., *Differential effects of growth hormone on cardiomyocyte and extracellular matrix protein remodeling following experimental myocardial infarction. Cardiovasc Res, 1998. 40(2): p. 297-306.*
132. Houck, W.V., et al., *Effects of growth hormone supplementation on left ventricular morphology and myocyte function with the development of congestive heart failure. Circulation, 1999. 100(19): p. 2003-9.*
133. Matthews, K.G., et al., *Cardiac IGF-I manipulation by growth hormone following myocardial infarction. Growth Horm IGF Res, 2004. 14(3): p. 251-60.*
134. Omerovic, E., et al., *Growth hormone improves bioenergetics and decreases catecholamines in postinfarct rat hearts. Endocrinology, 2000. 141(12): p. 4592-9.*
135. Marleau, S., et al., *Cardiac and peripheral actions of growth hormone and its releasing peptides: relevance for the treatment of cardiomyopathies. Cardiovasc Res, 2006. 69(1): p. 26-35.*
136. Bollano, E., et al., *Growth hormone alone or combined with metoprolol preserves cardiac function after myocardial infarction in rats. Eur J Heart Fail, 2001. 3(6): p. 651-60.*
137. Shen, Y.T., et al., *GH replacement fails to improve ventricular function in hypophysectomized rats with myocardial infarction. Am J Physiol, 1996. 271(5 Pt 2): p. H1721-7.*



138. Pagel, I., et al., *Cardiac and renal effects of growth hormone in volume overload-induced heart failure: role of NO*. Hypertension, 2002. 39(1): p. 57-62.
139. Duerr, R.L., et al., *Insulin-like growth factor-1 enhances ventricular hypertrophy and function during the onset of experimental cardiac failure*. J Clin Invest, 1995. 95(2): p. 619-27.
140. Jin, H., et al., *Effects of early treatment with growth hormone on infarct size, survival, and cardiac gene expression after acute myocardial infarction*. Growth Horm IGF Res, 2002. 12(4): p. 208-15.
141. Yang, R., et al., *Growth hormone improves cardiac performance in experimental heart failure*. Circulation, 1995. 92(2): p. 262-7.
142. Tivesten, A., et al., *Similar cardiovascular effects of growth hormone and insulin-like growth factor-I in rats after experimental myocardial infarction*. Growth Horm IGF Res, 2001. 11(3): p. 187-95.
143. Isgaard, J., et al., *Growth hormone improves cardiac function in rats with experimental myocardial infarction*. Eur J Clin Invest, 1997. 27(6): p. 517-25.
144. Duerr, R.L., et al., *Cardiovascular effects of insulin-like growth factor-1 and growth hormone in chronic left ventricular failure in the rat*. Circulation, 1996. 93(12): p. 2188-96.
145. Shen, Y.T., et al., *Lack of beneficial effects of growth hormone treatment in conscious dogs during development of heart failure*. Am J Physiol, 1998. 274(2 Pt 2): p. H456-66.
146. Jayasankar, V., et al., *Targeted overexpression of growth hormone by adenoviral gene transfer preserves myocardial function and ventricular geometry in ischemic cardiomyopathy*. J Mol Cell Cardiol, 2004. 36(4): p. 531-8.
147. Pecker, F., *Ghrelin in the heart and growth hormone: which is chicken, which is egg?* Cardiovasc Res, 2004. 62(3): p. 442-3.
148. Kojima, M., et al., *Ghrelin: discovery of the natural endogenous ligand for the growth hormone secretagogue receptor*. Trends Endocrinol Metab, 2001. 12(3): p. 118-22.
149. Nagaya, N., et al., *Chronic administration of ghrelin improves left ventricular dysfunction and attenuates development of cardiac cachexia in rats with heart failure*. Circulation, 2001. 104(12): p. 1430-5.



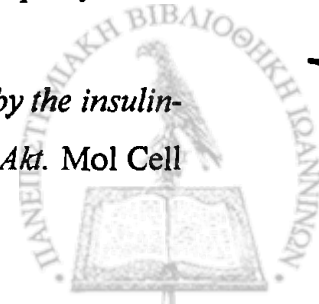
150. Tivesten, A., et al., *The growth hormone secretagogue hexarelin improves cardiac function in rats after experimental myocardial infarction.* Endocrinology, 2000. **141**(1): p. 60-6.
151. Frascarelli, S., et al., *Effect of ghrelin and synthetic growth hormone secretagogues in normal and ischemic rat heart.* Basic Res Cardiol, 2003. **98**(6): p. 401-5.
152. De Gennaro Colonna, V., et al., *Cardiac ischemia and impairment of vascular endothelium function in hearts from growth hormone-deficient rats: protection by hexarelin.* Eur J Pharmacol, 1997. **334**(2-3): p. 201-7.
153. Shen, Y.T., et al., *A growth hormone secretagogue prevents ischemic-induced mortality independently of the growth hormone pathway in dogs with chronic dilated cardiomyopathy.* J Pharmacol Exp Ther, 2003. **306**(2): p. 815-20.
154. von Lewinski, D., et al., *Insulin-like growth factor-1 exerts Ca²⁺-dependent positive inotropic effects in failing human myocardium.* Circ Res, 2003. **92**(2): p. 169-76.
155. Adamopoulos, S., et al., *Growth hormone administration reduces circulating proinflammatory cytokines and soluble Fas/soluble Fas ligand system in patients with chronic heart failure secondary to idiopathic dilated cardiomyopathy.* Am Heart J, 2002. **144**(2): p. 359-64.
156. Follath, F., *Nonischemic heart failure: epidemiology, pathophysiology, and progression of disease.* J Cardiovasc Pharmacol, 1999. **33 Suppl 3**: p. S31-5.
157. van Thiel, S.W., et al., *Six-months of recombinant human GH therapy in patients with ischemic cardiac failure.* Int J Cardiovasc Imaging, 2004. **20**(1): p. 53-60.
158. Fazio, S., et al., *A preliminary study of growth hormone in the treatment of dilated cardiomyopathy.* N Engl J Med, 1996. **334**(13): p. 809-14.
159. Osterziel, K.J., et al., *Randomised, double-blind, placebo-controlled trial of human recombinant growth hormone in patients with chronic heart failure due to dilated cardiomyopathy.* Lancet, 1998. **351**(9111): p. 1233-7.
160. Perrot, A., et al., *Growth hormone treatment in dilated cardiomyopathy.* J Card Surg, 2001. **16**(2): p. 127-31.
161. Jose, V.J., et al., *Growth hormone therapy in patients with dilated cardiomyopathy: preliminary observations of a pilot study.* Indian Heart J, 1999. **51**(2): p. 183-5.



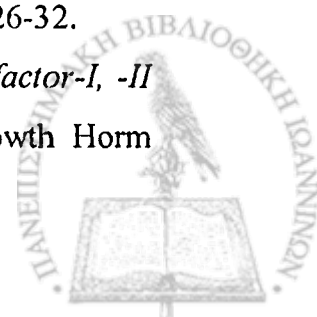
162. Adamopoulos, S., et al., *Effects of growth hormone on circulating cytokine network, and left ventricular contractile performance and geometry in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy*. Eur Heart J, 2003. 24(24): p. 2186-96.
163. O'Driscoll, J.G., et al., *Treatment of end-stage cardiac failure with growth hormone*. Lancet, 1997. 349(9058): p. 1068.
164. Genth-Zotz, S., et al., *Recombinant growth hormone therapy in patients with ischemic cardiomyopathy: effects on hemodynamics, left ventricular function, and cardiopulmonary exercise capacity*. Circulation, 1999. 99(1): p. 18-21.
165. Spallarossa, P., et al., *Evaluation of growth hormone administration in patients with chronic heart failure secondary to coronary artery disease*. Am J Cardiol, 1999. 84(4): p. 430-3.
166. Smit, J.W., et al., *Six months of recombinant human GH therapy in patients with ischemic cardiac failure does not influence left ventricular function and mass*. J Clin Endocrinol Metab, 2001. 86(10): p. 4638-43.
167. Isgaard, J., et al., *A placebo-controlled study of growth hormone in patients with congestive heart failure*. Eur Heart J, 1998. 19(11): p. 1704-11.
168. Acevedo, M., et al., *Administration of growth hormone to patients with advanced cardiac heart failure: effects upon left ventricular function, exercise capacity, and neurohormonal status*. Int J Cardiol, 2003. 87(2-3): p. 185-91.
169. Napoli, R., et al., *Growth hormone corrects vascular dysfunction in patients with chronic heart failure*. J Am Coll Cardiol, 2002. 39(1): p. 90-5.
170. Bisi, G., et al., *Cardiac effects of hexarelin in hypopituitary adults*. Eur J Pharmacol, 1999. 381(1): p. 31-8.
171. Imazio, M., et al., *GH-independent cardiotropic activities of hexarelin in patients with severe left ventricular dysfunction due to dilated and ischemic cardiomyopathy*. Eur J Heart Fail, 2002. 4(2): p. 185-91.
172. Enomoto, M., et al., *Cardiovascular and hormonal effects of subcutaneous administration of ghrelin, a novel growth hormone-releasing peptide, in healthy humans*. Clin Sci (Lond), 2003. 105(4): p. 431-5.
173. Nagaya, N., et al., *Hemodynamic, renal, and hormonal effects of ghrelin infusion in patients with chronic heart failure*. J Clin Endocrinol Metab, 2001. 86(12): p. 5854-9.



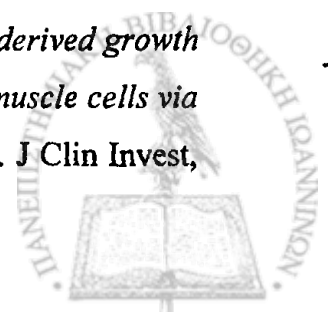
174. Capaldo, B., et al., *Sympathetic deactivation by growth hormone treatment in patients with dilated cardiomyopathy*. Eur Heart J, 1998. 19(4): p. 623-7.
175. Osterziel, K.J., et al., *The somatotrophic system in patients with dilated cardiomyopathy: relation of insulin-like growth factor-1 and its alterations during growth hormone therapy to cardiac function*. Clin Endocrinol (Oxf), 2000. 53(1): p. 61-8.
176. Donath, M.Y., et al., *Acute cardiovascular effects of insulin-like growth factor I in patients with chronic heart failure*. J Clin Endocrinol Metab, 1998. 83(9): p. 3177-83.
177. Bisi, G., et al., *Acute cardiovascular and hormonal effects of GH and hexarelin, a synthetic GH-releasing peptide, in humans*. J Endocrinol Invest, 1999. 22(4): p. 266-72.
178. McLaughlin, R., et al., *The role of apoptotic cell death in cardiovascular disease*. Ir J Med Sci, 2001. 170(2): p. 132-40.
179. Communal, C., et al., *Functional consequences of caspase activation in cardiac myocytes*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2002. 99(9): p. 6252-6.
180. Anversa, P., J. Kajstura, and G. Olivetti, *Myocyte death in heart failure*. Curr Opin Cardiol, 1996. 11(3): p. 245-51.
181. Gill, C., R. Mestril, and A. Samali, *Losing heart; the role of apoptosis in heart disease--a novel therapeutic target?* Faseb J, 2002. 16(2): p. 135-46.
182. Takemura, G., et al., *Characterization of ultrastructure and its relation with DNA fragmentation in Fas-induced apoptosis of cultured cardiac myocytes*. J Pathol, 2001. 193(4): p. 546-56.
183. Fiorina, P., et al., *Soluble antiapoptotic molecules and immune activation in chronic heart failure and unstable angina pectoris*. J Clin Immunol, 2000. 20(2): p. 101-6.
184. Wang, L., et al., *Regulation of cardiomyocyte apoptotic signaling by insulin-like growth factor I*. Circ Res, 1998. 83(5): p. 516-22.
185. Narula, J., et al., *Apoptosis in heart failure: release of cytochrome c from mitochondria and activation of caspase-3 in human cardiomyopathy*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999. 96(14): p. 8144-9.
186. Kulik, G., A. Klippel, and M.J. Weber, *Antiapoptotic signalling by the insulin-like growth factor I receptor, phosphatidylinositol 3-kinase, and Akt*. Mol Cell Biol, 1997. 17(3): p. 1595-606.



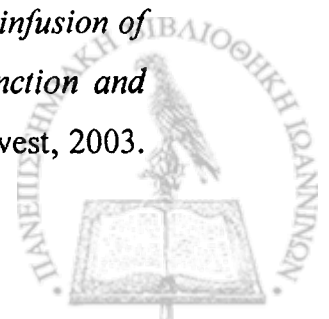
187. Shiraishi, I., et al., *Nuclear targeting of Akt enhances kinase activity and survival of cardiomyocytes*. *Circ Res*, 2004. **94**(7): p. 884-91.
188. Torella, D., et al., *Cardiac stem cell and myocyte aging, heart failure, and insulin-like growth factor-1 overexpression*. *Circ Res*, 2004. **94**(4): p. 514-24.
189. Wang, Y., et al., *Contribution of Akt and endothelial nitric oxide synthase to diazoxide-induced late preconditioning*. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2004. **287**(3): p. H1125-31.
190. Thum, T., et al., *Growth hormone induces eNOS expression and nitric oxide release in a cultured human endothelial cell line*. *FEBS Lett*, 2003. **555**(3): p. 567-71.
191. Lee, W.L., et al., *Insulin-like growth factor I improves cardiovascular function and suppresses apoptosis of cardiomyocytes in dilated cardiomyopathy*. *Endocrinology*, 1999. **140**(10): p. 4831-40.
192. Song, Y.H., et al., *Muscle-specific expression of IGF-1 blocks angiotensin II-induced skeletal muscle wasting*. *J Clin Invest*, 2005. **115**(2): p. 451-8.
193. Cittadini, A., et al., *Growth hormone prolongs survival in experimental postinfarction heart failure*. *J Am Coll Cardiol*, 2003. **41**(12): p. 2154-63.
194. Gu, Y., et al., *Growth hormone signalling and apoptosis in neonatal rat cardiomyocytes*. *Mol Cell Biochem*, 2001. **223**(1-2): p. 35-46.
195. Baldanzi, G., et al., *Ghrelin and des-acyl ghrelin inhibit cell death in cardiomyocytes and endothelial cells through ERK1/2 and PI 3-kinase/AKT*. *J Cell Biol*, 2002. **159**(6): p. 1029-37.
196. Filigheddu, N., et al., *Hexarelin protects H9c2 cardiomyocytes from doxorubicin-induced cell death*. *Endocrine*, 2001. **14**(1): p. 113-9.
197. Goodman-Gruen, D., E. Barrett-Connor, and C. Rosen, *IGF-1 and ischemic heart disease in older people*. *J Am Geriatr Soc*, 2000. **48**(7): p. 860-1.
198. Janssen, J.A., et al., *Serum total IGF-I, free IGF-I, and IGFB-1 levels in an elderly population: relation to cardiovascular risk factors and disease*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998. **18**(2): p. 277-82.
199. Conti, E., et al., *Markedly reduced insulin-like growth factor-1 in the acute phase of myocardial infarction*. *J Am Coll Cardiol*, 2001. **38**(1): p. 26-32.
200. Reeves, I., et al., *Age-related serum levels of insulin-like growth factor-I, -II and IGF-binding protein-3 following myocardial infarction*. *Growth Horm IGF Res*, 2000. **10**(2): p. 78-84.



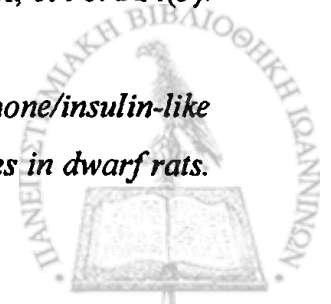
201. Juul, A., et al., *Low serum insulin-like growth factor I is associated with increased risk of ischemic heart disease: a population-based case-control study.* *Circulation*, 2002. **106**(8): p. 939-44.
202. Sandhu, M.S., et al., *Circulating concentrations of insulin-like growth factor-I and development of glucose intolerance: a prospective observational study.* *Lancet*, 2002. **359**(9319): p. 1740-5.
203. Schuler-Luttman, S., et al., *Insulin-like growth factor-binding protein-3 is associated with the presence and extent of coronary arteriosclerosis.* *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000. **20**(4): p. E10-5.
204. Spallarossa, P., et al., *Insulin-like growth factor-I and angiographically documented coronary artery disease.* *Am J Cardiol*, 1996. **77**(2): p. 200-2.
205. Botker, H.E., et al., *Insulin-like growth factor-I, insulin, and angina pectoris secondary to coronary atherosclerosis, vasospasm, and syndrome X.* *Am J Cardiol*, 1997. **79**(7): p. 961-3.
206. Ruotolo, G., et al., *Serum insulin-like growth factor-I level is independently associated with coronary artery disease progression in young male survivors of myocardial infarction: beneficial effects of bezafibrate treatment.* *J Am Coll Cardiol*, 2000. **35**(3): p. 647-54.
207. van den Beld, A.W., et al., *Endogenous hormones and carotid atherosclerosis in elderly men.* *Am J Epidemiol*, 2003. **157**(1): p. 25-31.
208. Friehs, I., et al., *Insulin-like growth factor-I improves postischemic recovery in hypertrophied hearts.* *Ann Thorac Surg*, 2001. **72**(5): p. 1650-6.
209. Li, Q., et al., *Overexpression of insulin-like growth factor-I in mice protects from myocyte death after infarction, attenuating ventricular dilation, wall stress, and cardiac hypertrophy.* *J Clin Invest*, 1997. **100**(8): p. 1991-9.
210. Bennett, M.R., G.I. Evan, and S.M. Schwartz, *Apoptosis of human vascular smooth muscle cells derived from normal vessels and coronary atherosclerotic plaques.* *J Clin Invest*, 1995. **95**(5): p. 2266-74.
211. Mallat, Z. and A. Tedgui, *Current perspective on the role of apoptosis in atherothrombotic disease.* *Circ Res*, 2001. **88**(10): p. 998-1003.
212. Bornfeldt, K.E., et al., *Insulin-like growth factor-I and platelet-derived growth factor-BB induce directed migration of human arterial smooth muscle cells via signaling pathways that are distinct from those of proliferation.* *J Clin Invest*, 1994. **93**(3): p. 1266-74.



213. Sidway, A.N., et al., *Insulin-like growth factor-I binding in injury-induced intimal hyperplasia of rabbit aorta*. J Vasc Surg, 1996. **23**(2): p. 308-13.
214. Emanuelsson, H., et al., *Long-term effects of angiopeptin treatment in coronary angioplasty. Reduction of clinical events but not angiographic restenosis*. European Angiopeptin Study Group. Circulation, 1995. **91**(6): p. 1689-96.
215. Eriksen, U.H., et al., *Randomized double-blind Scandinavian trial of angiopeptin versus placebo for the prevention of clinical events and restenosis after coronary balloon angioplasty*. Am Heart J, 1995. **130**(1): p. 1-8.
216. Weissberg, P.L., G.J. Clesham, and M.R. Bennett, *Is vascular smooth muscle cell proliferation beneficial?* Lancet, 1996. **347**(8997): p. 305-7.
217. Krettek, A., G.K. Sukhova, and P. Libby, *Elastogenesis in human arterial disease: a role for macrophages in disordered elastin synthesis*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003. **23**(4): p. 582-7.
218. Pfeifer, M., et al., *Growth hormone (GH) treatment reverses early atherosclerotic changes in GH-deficient adults*. J Clin Endocrinol Metab, 1999. **84**(2): p. 453-7.
219. Muniyappa, R., et al., *Insulin like growth factor 1 increases vascular smooth muscle nitric oxide production*. Life Sci, 1997. **61**(9): p. 925-31.
220. Capaldo, B., et al., *Abnormal vascular reactivity in growth hormone deficiency*. Circulation, 2001. **103**(4): p. 520-4.
221. Tsukahara, H., et al., *Direct demonstration of insulin-like growth factor-I-induced nitric oxide production by endothelial cells*. Kidney Int, 1994. **45**(2): p. 598-604.
222. Copeland, K.C. and K.S. Nair, *Recombinant human insulin-like growth factor-I increases forearm blood flow*. J Clin Endocrinol Metab, 1994. **79**(1): p. 230-2.
223. Khan, A.S., et al., *Growth hormone increases regional coronary blood flow and capillary density in aged rats*. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2001. **56**(8): p. B364-71.
224. Lorusso, R., et al., *Preliminary observations on the effects of acute infusion of growth hormone on coronary vasculature and on myocardial function and energetics of an isolated and blood-perfused heart*. J Endocrinol Invest, 2003. **26**(1): p. RC1-4.



225. Vacca, G., et al., *Haemodynamic effects of the intravenous administration of growth hormone in anaesthetized pigs*. Pflugers Arch, 1998. **436**(2): p. 159-67.
226. Molinari, C., et al., *The role of nitric oxide in the coronary vasoconstriction caused by growth hormone in anaesthetized pigs*. Exp Physiol, 2000. **85**(2): p. 203-8.
227. Hasdai, D., et al., *Insulin and insulin-like growth factor-I cause coronary vasorelaxation in vitro*. Hypertension, 1998. **32**(2): p. 228-34.
228. Oltman, C.L., et al., *Mechanism of coronary vasodilation to insulin and insulin-like growth factor I is dependent on vessel size*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2000. **279**(1): p. E176-81.
229. Reiss, K., et al., *Upregulation of IGF1, IGF1-receptor, and late growth related genes in ventricular myocytes acutely after infarction in rats*. J Cell Physiol, 1994. **158**(1): p. 160-8.
230. Anversa, P., et al., *Myocardial infarction and the myocyte IGF1 autocrine system*. Eur Heart J, 1995. **16 Suppl N**: p. 37-45.
231. Matthews, K.G., et al., *Changes in IGFs in cardiac tissue following myocardial infarction*. J Endocrinol, 1999. **163**(3): p. 433-45.
232. Saraste, A., et al., *Apoptosis in human acute myocardial infarction*. Circulation, 1997. **95**(2): p. 320-3.
233. Loennechen, J.P., et al., *Regional expression of endothelin-1, ANP, IGF-1, and LV wall stress in the infarcted rat heart*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2001. **280**(6): p. H2902-10.
234. Lee, W.L., et al., *Changes of the insulin-like growth factor I system during acute myocardial infarction: implications on left ventricular remodeling*. J Clin Endocrinol Metab, 1999. **84**(5): p. 1575-81.
235. Friberg, L., et al., *Growth hormone and insulin-like growth factor-1 in acute myocardial infarction*. Eur Heart J, 2000. **21**(18): p. 1547-54.
236. De Gennaro Colonna, V., et al., *Worsening of ischemic damage in hearts from rats with selective growth hormone deficiency*. Eur J Pharmacol, 1996. **314**(3): p. 333-8.
237. Cittadini, A., et al., *Importance of an intact growth hormone/insulin-like growth factor I axis for normal post-infarction healing: studies in dwarf rats*. Endocrinology, 2001. **142**(1): p. 332-8.



238. Palmen, M., et al., *Cardiac remodeling after myocardial infarction is impaired in IGF-1 deficient mice*. Cardiovasc Res, 2001. **50**(3): p. 516-24.
239. Castagnino, H.E., et al., *Cytoprotection by melatonin and growth hormone in early rat myocardial infarction as revealed by Feulgen DNA staining*. Neuro Endocrinol Lett, 2002. **23**(5-6): p. 391-5.
240. Chao, W., et al., *Strategic advantages of insulin-like growth factor-I expression for cardioprotection*. J Gene Med, 2003. **5**(4): p. 277-86.
241. Laguens, R.P., et al., *Reduced injury and scar in acute myocardial infarctions treated with human growth hormone*. Jpn Heart J, 1998. **39**(6): p. 809-17.
242. Kotlyar, A.A., et al., *Insulin-like growth factor I and II preserve myocardial structure in postinfarct swine*. Heart, 2001. **86**(6): p. 693-700.
243. Buerke, M., et al., *Cardioprotective effect of insulin-like growth factor I in myocardial ischemia followed by reperfusion*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1995. **92**(17): p. 8031-5.
244. Mehrhof, F.B., et al., *In cardiomyocyte hypoxia, insulin-like growth factor-I-induced antiapoptotic signaling requires phosphatidylinositol-3-OH-kinase-dependent and mitogen-activated protein kinase-dependent activation of the transcription factor cAMP response element-binding protein*. Circulation, 2001. **104**(17): p. 2088-94.
245. Jayasankar, V., et al., *Local myocardial overexpression of growth hormone attenuates postinfarction remodeling and preserves cardiac function*. Ann Thorac Surg, 2004. **77**(6): p. 2122-9; discussion 2129.
246. Mill, J.G., et al., *[The early administration of growth hormone results in deleterious effects on ventricular remodeling after acute myocardial infarction]*. Arq Bras Cardiol, 2005. **84**(2): p. 115-21.
247. Urbanek, K., et al., *Cardiac stem cells possess growth factor-receptor systems that after activation regenerate the infarcted myocardium, improving ventricular function and long-term survival*. Circ Res, 2005. **97**(7): p. 663-73.
248. Linke, A., et al., *Stem cells in the dog heart are self-renewing, clonogenic, and multipotent and regenerate infarcted myocardium, improving cardiac function*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005. **102**(25): p. 8966-71.
249. Sun, M.K., *Central neural organization and control of sympathetic nervous system in mammals*. Prog Neurobiol, 1995. **47**(3): p. 157-233.



250. Dampney, R.A., et al., *Central mechanisms underlying short- and long-term regulation of the cardiovascular system*. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2002. 29(4): p. 261-8.
251. Morrison, S.F., *Differential control of sympathetic outflow*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2001. 281(3): p. R683-98.
252. Sverrisdottir, Y.B., et al., *Intense sympathetic nerve activity in adults with hypopituitarism and untreated growth hormone deficiency*. J Clin Endocrinol Metab, 1998. 83(6): p. 1881-5.
253. Mann, D.L., et al., *Adrenergic effects on the biology of the adult mammalian cardiocyte*. Circulation, 1992. 85(2): p. 790-804.
254. Popovich, M.I., et al., *Myocardial alterations induced by prolonged noradrenaline administration in various doses*. Clin Cardiol, 1992. 15(9): p. 660-5.
255. Bohlooly, Y.M., et al., *Selective cerebral overexpression of growth hormone alters cardiac function, morphology, energy metabolism and catecholamines in transgenic mice*. Growth Horm IGF Res, 2005. 15(2): p. 148-55.
256. Coronel, R., et al., *Distribution of extracellular potassium and electrophysiologic changes during two-stage coronary ligation in the isolated, perfused canine heart*. Circulation, 1989. 80(1): p. 165-77.
257. Wilensky, R.L., et al., *The subendocardial border zone during acute ischemia of the rabbit heart: an electrophysiologic, metabolic, and morphologic correlative study*. Circulation, 1986. 74(5): p. 1137-46.
258. Verkerk, A.O., et al., *Biphasic response of action potential duration to metabolic inhibition in rabbit and human ventricular myocytes: role of transient outward current and ATP-regulated potassium current*. J Mol Cell Cardiol, 1996. 28(12): p. 2443-56.
259. Watanabe, I., et al., *Comparison of the effects of regional ischemia and hyperkalemia on the membrane action potentials of the in situ pig heart*. Experimental Cardiology Group, University of North Carolina at Chapel Hill. J Cardiovasc Electrophysiol, 1997. 8(11): p. 1229-36.
260. Schomig, A., et al., *Nonexocytotic release of endogenous noradrenaline in the ischemic and anoxic rat heart: mechanism and metabolic requirements*. Circ Res, 1987. 60(2): p. 194-205.



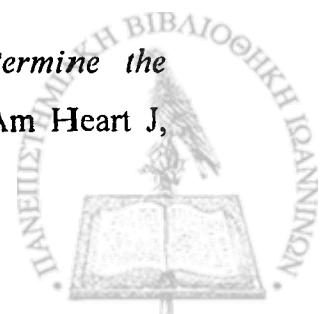
261. Antzelevitch, C., et al., *Heterogeneity within the ventricular wall. Electrophysiology and pharmacology of epicardial, endocardial, and M cells.* Circ Res, 1991. 69(6): p. 1427-49.
262. Gomez, A.M., et al., *Modulation of electrical heterogeneity by compensated hypertrophy in rat left ventricle.* Am J Physiol, 1997. 272(3 Pt 2): p. H1078-86.
263. Volders, P.G., et al., *Repolarizing K⁺ currents ITO1 and IKs are larger in right than left canine ventricular midmyocardium.* Circulation, 1999. 99(2): p. 206-10.
264. Coronel, R., et al., *Injury current and gradients of diastolic stimulation threshold, TQ potential, and extracellular potassium concentration during acute regional ischemia in the isolated perfused pig heart.* Circ Res, 1991. 68(5): p. 1241-9.
265. Johnson, T.A., et al., *Relationship between extracellular potassium accumulation and local TQ-segment potential during acute myocardial ischemia in the porcine.* J Mol Cell Cardiol, 1987. 19(10): p. 949-52.
266. Green, L.S., M.P. Fuller, and R.L. Lux, *Three-dimensional distribution of ST-T wave alternans during acute ischemia.* J Cardiovasc Electrophysiol, 1997. 8(12): p. 1413-9.
267. Watson, C.L. and M.R. Gold, *Effect of intracellular and extracellular acidosis on sodium current in ventricular myocytes.* Am J Physiol, 1995. 268(4 Pt 2): p. H1749-56.
268. Zhang, J.F. and S.A. Siegelbaum, *Effects of external protons on single cardiac sodium channels from guinea pig ventricular myocytes.* J Gen Physiol, 1991. 98(6): p. 1065-83.
269. Donoso, P., et al., *Fluorescence measurements of cytoplasmic and mitochondrial sodium concentration in rat ventricular myocytes.* J Physiol, 1992. 448: p. 493-509.
270. Robicsek, F., et al., *The application of thermography in the study of coronary blood flow.* Surgery, 1978. 84(6): p. 858-64.
271. Katzung, B.G., L.M. Hondeghem, and A.O. Grant, *Letter: Cardiac ventricular automaticity induced by current of injury.* Pflugers Arch, 1975. 360(2): p. 193-7.



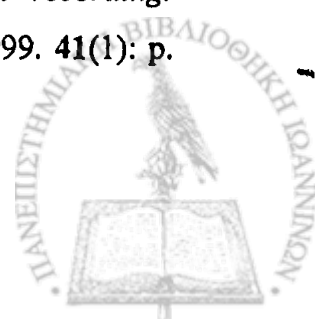
272. Gilmour, R.F., Jr. and D.P. Zipes, *Different electrophysiological responses of canine endocardium and epicardium to combined hyperkalemia, hypoxia, and acidosis*. *Circ Res*, 1980. **46(6)**: p. 814-25.
273. Schomig, A., M. Haass, and G. Richardt, *Catecholamine release and arrhythmias in acute myocardial ischaemia*. *Eur Heart J*, 1991. **12 Suppl F**: p. 38-47.
274. Gao, J., et al., *The effects of beta-stimulation on the Na(+)-K+ pump current-voltage relationship in guinea-pig ventricular myocytes*. *J Physiol*, 1996. **494 (Pt 3)**: p. 697-708.
275. Carmeliet, E. and J. Vereecke, *Adrenaline and the plateau phase of the cardiac action potential. Importance of Ca⁺⁺, Na⁺ and K⁺ conductance*. *Pflugers Arch*, 1969. **313(4)**: p. 300-15.
276. Cinca, J., et al., *Transmural DC electrograms after coronary artery occlusion and latex embolization in pigs*. *Am J Physiol*, 1984. **246(4 Pt 2)**: p. H475-82.
277. Undrovinas, A.I., I.A. Fleidervish, and J.C. Makielski, *Inward sodium current at resting potentials in single cardiac myocytes induced by the ischemic metabolite lysophosphatidylcholine*. *Circ Res*, 1992. **71(5)**: p. 1231-41.
278. Bhatnagar, A., S.K. Srivastava, and G. Szabo, *Oxidative stress alters specific membrane currents in isolated cardiac myocytes*. *Circ Res*, 1990. **67(3)**: p. 535-49.
279. Opthof, T., et al., *Interaction of sympathetic and parasympathetic nervous system on ventricular refractoriness assessed by local fibrillation intervals in the canine heart*. *Cardiovasc Res*, 1993. **27(5)**: p. 753-9.
280. Peters, N.S. and A.L. Wit, *Myocardial architecture and ventricular arrhythmogenesis*. *Circulation*, 1998. **97(17)**: p. 1746-54.
281. Kleber, A.G., *Conduction of the impulse in the ischemic myocardium--implications for malignant ventricular arrhythmias*. *Experientia*, 1987. **43(10)**: p. 1056-61.
282. Burt, J.M., *Block of intercellular communication: interaction of intracellular H⁺ and Ca²⁺*. *Am J Physiol*, 1987. **253(4 Pt 1)**: p. C607-12.
283. Wu, J., et al., *Inhibition of gap junctional conductance by long-chain acylcarnitines and their preferential accumulation in junctional sarcolemma during hypoxia*. *Circ Res*, 1993. **72(4)**: p. 879-89.



284. Kieval, R.S., J.F. Spear, and E.N. Moore, *Gap junctional conductance in ventricular myocyte pairs isolated from postischemic rabbit myocardium*. *Circ Res*, 1992. **71**(1): p. 127-36.
285. Clements-Jewery, H., D.J. Hearse, and M.J. Curtis, *Phase 2 ventricular arrhythmias in acute myocardial infarction: a neglected target for therapeutic antiarrhythmic drug development and for safety pharmacology evaluation*. *Br J Pharmacol*, 2005. **145**(5): p. 551-64.
286. Pogwizd, S.M. and P.B. Corr, *Reentrant and nonreentrant mechanisms contribute to arrhythmogenesis during early myocardial ischemia: results using three-dimensional mapping*. *Circ Res*, 1987. **61**(3): p. 352-71.
287. Janse, M.J., et al., *Flow of "injury" current and patterns of excitation during early ventricular arrhythmias in acute regional myocardial ischemia in isolated porcine and canine hearts. Evidence for two different arrhythmogenic mechanisms*. *Circ Res*, 1980. **47**(2): p. 151-65.
288. Smith, W.T.t., et al., *The Ib phase of ventricular arrhythmias in ischemic in situ porcine heart is related to changes in cell-to-cell electrical coupling*. *Experimental Cardiology Group, University of North Carolina*. *Circulation*, 1995. **92**(10): p. 3051-60.
289. Jennings, R.B., et al., *Development of cell injury in sustained acute ischemia*. *Circulation*, 1990. **82**(3 Suppl): p. II2-12.
290. Friedman, P.L., et al., *Survival of subendocardial Purkinje fibers after extensive myocardial infarction in dogs*. *Circ Res*, 1973. **33**(5): p. 597-611.
291. Horowitz, L.N., J.F. Spear, and E.N. Moore, *Subendocardial origin of ventricular arrhythmias in 24-hour-old experimental myocardial infarction*. *Circulation*, 1976. **53**(1): p. 56-63.
292. Fenoglio, J.J., Jr., et al., *Time course of infarct growth toward the endocardium after coronary occlusion*. *Am J Physiol*, 1979. **236**(2): p. H356-70.
293. Opitz, C.F., et al., *Arrhythmias and death after coronary artery occlusion in the rat. Continuous telemetric ECG monitoring in conscious, untethered rats*. *Circulation*, 1995. **92**(2): p. 253-61.
294. Bolli, R., D.J. Fisher, and M.L. Entman, *Factors that determine the occurrence of arrhythmias during acute myocardial ischemia*. *Am Heart J*, 1986. **111**(2): p. 261-70.



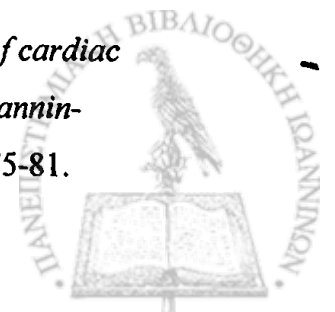
295. Maxwell, M.P., D.J. Hearse, and D.M. Yellon, *Species variation in the coronary collateral circulation during regional myocardial ischaemia: a critical determinant of the rate of evolution and extent of myocardial infarction*. *Cardiovasc Res*, 1987. **21**(10): p. 737-46.
296. Curtis, M.J., B.A. Macleod, and M.J. Walker, *Models for the study of arrhythmias in myocardial ischaemia and infarction: the use of the rat*. *J Mol Cell Cardiol*, 1987. **19**(4): p. 399-419.
297. Manoach, M., et al., *Factors influencing spontaneous initiation and termination of ventricular fibrillation*. *Jpn Heart J*, 1986. **27**(3): p. 365-75.
298. Fervenza, F.C., et al., *Response to growth hormone therapy in experimental ischemic acute renal failure*. *J Lab Clin Med*, 1999. **133**(5): p. 434-9.
299. Selye, H., et al., *Simple techniques for the surgical occlusion of coronary vessels in the rat*. *Angiology*, 1960. **11**: p. 398-407.
300. Johnston, K.M., B.A. MacLeod, and M.J. Walker, *Responses to ligation of a coronary artery in conscious rats and the actions of antiarrhythmics*. *Can J Physiol Pharmacol*, 1983. **61**(11): p. 1340-53.
301. Walker, M.J., et al., *The Lambeth Conventions: guidelines for the study of arrhythmias in ischaemia infarction, and reperfusion*. *Cardiovasc Res*, 1988. **22**(7): p. 447-55.
302. Curtis, M.J. and M.J. Walker, *Quantification of arrhythmias using scoring systems: an examination of seven scores in an in vivo model of regional myocardial ischaemia*. *Cardiovasc Res*, 1988. **22**(9): p. 656-65.
303. Hoffman, B.F., et al., *Comparison of cardiac monophasic action potentials recorded by intracellular and suction electrodes*. *Am J Physiol*, 1959. **196**(6): p. 1297-301.
304. Ino, T., et al., *Relation of monophasic action potential recorded with contact electrode to underlying transmembrane action potential properties in isolated cardiac tissues: a systematic microelectrode validation study*. *Cardiovasc Res*, 1988. **22**(4): p. 255-64.
305. Franz, M.R., *Current status of monophasic action potential recording: theories, measurements and interpretations*. *Cardiovasc Res*, 1999. **41**(1): p. 25-40.



306. Franz, M.R., *Bridging the gap between basic and clinical electrophysiology: what can be learned from monophasic action potential recordings?* J Cardiovasc Electrophysiol, 1994. 5(8): p. 699-710.
307. Franz, M., et al., *Simultaneous recording of monophasic action potentials and contractile force from the human heart.* Klin Wochenschr, 1980. 58(24): p. 1357-9.
308. Franz, M.R., *Long-term recording of monophasic action potentials from human endocardium.* Am J Cardiol, 1983. 51(10): p. 1629-34.
309. Baltogiannis, G.G., et al., *Endothelin receptor--a blockade decreases ventricular arrhythmias after myocardial infarction in rats.* Cardiovasc Res, 2005. 67(4): p. 647-54.
310. Tsalikakis DG, F.D., Kolettis T, Michalis LK, *Automated system for the analysis of heart monophasic action potentials.* Comput Cardiol, 2003. 30: p. 339-342.
311. Mohabir, R., M.R. Franz, and W.T. Clusin, *In vivo electrophysiological detection of myocardial ischemia through monophasic action potential recording.* Prog Cardiovasc Dis, 1991. 34(1): p. 15-28.
312. Downar, E., M.J. Janse, and D. Durrer, *The effect of acute coronary artery occlusion on subepicardial transmembrane potentials in the intact porcine heart.* Circulation, 1977. 56(2): p. 217-24.
313. Kurz, R.W., et al., *Ischaemia induced alternans of action potential duration in the intact-heart: dependence on coronary flow, preload and cycle length.* Eur Heart J, 1993. 14(10): p. 1410-20.
314. Franz, M., *Monophasic action potential recording by contact electrode technique: In vitro validation and clinical applications.* Clinical aspectw of ventricular repolarization. Vol. 81. 1989, London: Farrand Press. 92.
315. Franz, M.R., et al., *In vitro validation of a new cardiac catheter technique for recording monophasic action potentials.* Eur Heart J, 1986. 7(1): p. 34-41.
316. Nachlas, M.M. and T.K. Shnitka, *Macroscopic identification of early myocardial infarcts by alterations in dehydrogenase activity.* Am J Pathol, 1963. 42: p. 379-405.
317. Fishbein, M.C., et al., *Early phase acute myocardial infarct size quantification: validation of the triphenyl tetrazolium chloride tissue enzyme staining technique.* Am Heart J, 1981. 101(5): p. 593-600.



318. Ytrehus, K., et al., *Rat and rabbit heart infarction: effects of anesthesia, perfusate, risk zone, and method of infarct sizing*. Am J Physiol, 1994. **267**(6 Pt 2): p. H2383-90.
319. Vivaldi, M.T., R.A. Kloner, and F.J. Schoen, *Triphenyltetrazolium staining of irreversible ischemic injury following coronary artery occlusion in rats*. Am J Pathol, 1985. **121**(3): p. 522-30.
320. Mitsi, A.C., et al., *Early, intracoronary growth hormone administration attenuates ventricular remodeling in a porcine model of myocardial infarction*. Growth Horm IGF Res, 2006.
321. Young, L.H., et al., *Insulin-like growth factor I stimulates cardiac myosin heavy chain and actin synthesis in the awake rat*. Am J Physiol, 1999. **276**(1 Pt 1): p. E143-50.
322. Cascio, W.E., T.A. Johnson, and L.S. Gettes, *Electrophysiologic changes in ischemic ventricular myocardium: I. Influence of ionic, metabolic, and energetic changes*. J Cardiovasc Electrophysiol, 1995. **6**(11): p. 1039-62.
323. Guo, W., et al., *IGF-I regulates K(+)-channel expression of cultured neonatal rat ventricular myocytes*. Am J Physiol, 1997. **272**(6 Pt 2): p. H2599-606.
324. Li, D., et al., *Participation of PI3K and atypical PKC in Na⁺-K⁺-pump stimulation by IGF-I in VSMC*. Am J Physiol, 1999. **276**(6 Pt 2): p. H2109-16.
325. Dorup, I. and T. Clausen, *Insulin-like growth factor I stimulates active Na(+)-K⁺ transport in rat soleus muscle*. Am J Physiol, 1995. **268**(5 Pt 1): p. E849-57.
326. Ridderstrale, M., *Signaling mechanism for the insulin-like effects of growth hormone--another example of a classical hormonal negative feedback loop*. Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord, 2005. **5**(1): p. 79-92.
327. Ilback, N.G., K. Gunnarsson, and T. Stalhandske, *Effects of rhIGF-I and insulin-induced hypoglycaemia on cardiovascular parameters recorded with telemetry in the conscious dog*. Pharmacol Toxicol, 2002. **90**(2): p. 73-81.
328. Carmeliet, E., *Cardiac ionic currents and acute ischemia: from channels to arrhythmias*. Physiol Rev, 1999. **79**(3): p. 917-1017.
329. Otani, H., et al., *Insulin-like growth factor-I improves recovery of cardiac performance during reperfusion in isolated rat heart by a wortmannin-sensitive mechanism*. J Cardiovasc Pharmacol, 2000. **35**(2): p. 275-81.



330. • Huang, B., D. Qin, and N. El-Sherif, *Early down-regulation of K⁺ channel genes and currents in the postinfarction heart*. J Cardiovasc Electrophysiol, 2000. 11(11): p. 1252-61.
331. Lakireddy, V., et al., *Contrasting effects of ischemia on the kinetics of membrane voltage and intracellular calcium transient underlie electrical alternans*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005. 288(1): p. H400-7.
332. Sideris, D.A., *High blood pressure and ventricular arrhythmias*. Eur Heart J, 1993. 14(11): p. 1548-53.
333. Schwartz, P.J., M.T. La Rovere, and E. Vanoli, *Autonomic nervous system and sudden cardiac death. Experimental basis and clinical observations for post-myocardial infarction risk stratification*. Circulation, 1992. 85(1 Suppl): p. I77-91.
334. Gneccchi, M., et al., *Paracrine action accounts for marked protection of ischemic heart by Akt-modified mesenchymal stem cells*. Nat Med, 2005. 11(4): p. 367-8.
335. Guo, W., et al., *Paracrine hypertrophic factors from cardiac non-myocyte cells downregulate the transient outward current density and Kv4.2 K⁺ channel expression in cultured rat cardiomyocytes*. Cardiovasc Res, 1999. 41(1): p. 157-65.

//



ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

1) Growth hormone decreases phase II ventricular tachyarrhythmias during acute myocardial infarction in rats.

Clin Sci (Lond). 2007 Jun;112(7):385-91

•2) Endothelin receptor—a blockade decreases ventricular arrhythmias after myocardial infarction in rats.

Cardiovasc Res. 2005 Sep 1;67(4):647-54

