



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ – ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Β' ΠΡΟΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθυντής: Καθηγητής Ν. Νικητέας

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

“ Η ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΒΙΟΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΤΟΥ
ΙΝΣΟΥΛΙΝΟΜΙΜΗΤΙΚΟΥ ΑΥΞΗΤΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ 1 (IGF-1) ΣΤΗ
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΕΠΟΥΛΩΣΗ ΤΡΑΥΜΑΤΟΣ ”

Ζωή Γαρουφαλιά

Γενικός Χειρουργός

Αθήνα, 2023

Στοιχεία Διδακτορικής Διατριβής

Θέμα: Η μελέτη του βιορυθμιστικού συστήματος του ινσουλινομιμητικού αυξητικού παράγοντα 1 (IGF-1) στη φυσιολογική επούλωση του τραύματος

- Μέλη 3μελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Καθηγητής Δημήτριος Μαντάς (Επιβλέπον Μέλος ΔΕΠ)


Ομότιμος Καθηγητής Γρηγόριος Κουράκλης

Αναπληρωτής Καθηγητής Γεράσιμος Τσουρούφλης

Ημερομηνία ορισμού τριμελούς επιτροπής : 11/10/2016

- Ημερομηνία κατάθεσης 1ης Προόδου: 04/10/2019
- Ημερομηνία κατάθεσης 2ης Προόδου: 11/12/2020
- Ημερομηνία κατάθεσης 3ης Προόδου: 15/06/2023

Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ


 ΜΜΥΜΙ ΔΙΠΟΛΛΥΝΑ ΙΗΤΡΟΝ ΚΑΙ ΔΣΚΛΗΠΙΟΝ
 ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝ
 ΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ ΕΠΙ
 ΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ
 ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ ΗΉΣΑΣΘ
 ΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΜ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗ
 Ν ΙΣΑ ΤΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΗΣΑΣΘΑΙ Κ
 ΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ Κ
 ΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΕΥΤΕΟΥ ΑΔΕΛΦΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΜ
 ΕΣΙΝ ΑΡΡΕΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ
 ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥ
 ΓΓΡΑΦΗΣ ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ
 ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣ
 ΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝ
 ΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΞΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΛΡ
 ΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ ΙΗΤΡΙΚΩ ΑΛΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕΜΙ
 ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΜΟ
 ΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ ΕΠΙ ΔΗΛΗ
 ΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗΝ ΕΙΡΨΕΙΝ. ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ
 ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΜΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ ΟΥΔΕΥ
 ΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥ
 ΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΟΝ ΔΩΣΩ. ΑΓΝΩΣ Δ
 Ε ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝ
 ΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. ΟΥ ΤΕΜΕΛ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘ
 ΙΛΝΤΑΣ ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙ ΠΡ
 ΗΕΙΟΣ ΤΗΣΔΕ. ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΩ
 ΕΞΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ ΚΑΜΜΟΝΤΩΝ ΕΚΤ
 ΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΗΣ Τ
 ΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΔΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΞΥ
 ΝΔΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡ
 ΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ. Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ
 Η ΙΔΩ Η ΔΚΟΥΣΩ Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΗΗΣ ΚΑΤΑ Β
 ΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ
 ΕΞΩ ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΜΑΙ ΤΑ ΤΟ
 ΙΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕ
 Α ΠΟΙΕΟΝΤΙ ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘ
 ΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ ΠΑΡΑ Π
 ΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΔΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙ
 ΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, δεν υποδηλώνει ότι αποδέχεται τις γνώμες του συγγραφέα. (Νόμος 5343/1932, άρθρο 202, παράγραφος 2).

Στον παππού και τις γιαγιάδες μου

Με ευγνωμοσύνη και αγάπη

<u>ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ</u>	<u>ΣΕΛ</u>
Πρόλογος	8
Σύντομο Βιογραφικό Σημείωμα	9
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
<i>A. Ινσουλινομιμητικός παράγοντας 1 (IGF-1)</i>	12
• Ορισμός	13
• Σύνθεση και κυκλοφορία IGF1 και ισομορφών	14
• Γονιδίωμα	15
• Μηχανισμός δράσης	16
• Δράσεις στον ανθρώπινο οργανισμό	19
<i>B. Φυσιολογία επούλωσης τραύματος</i>	31
<i>Γ. Επίδραση του IGF-1 στη επούλωση τραύματος</i>	47
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	51
Σκοπός	52
Υλικό και Μέθοδοι	55
Αποτελέσματα	63
Συζήτηση	70
Συμπεράσματα	80

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

81

ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ

94

Πρόλογος

Για πάντα ευγνώμων στους γονείς μου, Μαριάνθη και Βασίλη, μου έμαθαν όσα χρειάζομαι για να είμαι ευτυχισμένη και τους οφείλω τα πάντα. Το στήριγμα μου, ο άνθρωπος μου, ο Γιώργος – συμπρωταγωνιστής και συνοδοιπόρος – χάρη σε εκείνον προσπαθώ να ‘φτάσω όπου δεν μπορώ’.

Οφείλω ένα εγκάρδιο ευχαριστώ στον Καθηγητή κ. Δημήτριο Μαντά ως επιβλέπον μέλος ΔΕΠ, στον Ομότιμο Καθηγητή κ. Γρηγόριο Κουράκλη και τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Γεράσιμο Τσουρούφλη, που με αγκάλιασαν από την πρώτη στιγμή αυτής της διδακτορικής διατριβής και με βοηθούσαν επιστημονικά μέχρι τη στιγμή της ολοκλήρωσης αυτής της έρευνας. Πάντα εκεί, μια νέα οικογένεια για εμένα από την έναρξη της χειρουργικής ειδικότητας και θερμοί υποστηρικτές σε κάθε νέο βήμα μου. Οφείλω ευγνωμοσύνη και δεν ξεχνώ ποτέ τους μέντορες μου.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω τον Αναπληρωτή Καθηγητή Αναστάσιο Φιλίππου καθώς και την υποψήφια διδάκτορα κ. Αργυρώ Παπαδοπετράκη, οι οποίοι στάθηκαν αρωγοί στην προσπάθειά μου να ολοκληρωθεί η παρούσα διατριβή και χωρίς την υποστήριξη τους το έργο μου θα είχε καταστεί δυσχερές.

Σύντομο Βιογραφικό Σημείωμα

Ζωή Γαρουφαλιά

Χειρουργός

Είμαι πτυχιούχος της Ιατρικής Σχολής Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης.
(8.35/10- Λίαν Καλώς- 2013)

Ολοκλήρωσα την υπηρεσία υπαίθρου στις νήσους Σύρο , Κέα και Ανάφη και ακολούθως την ειδικότητα της Γενικής Χειρουργικής στη Β' Προπαιδευτική Χειρουργική Κλινική του Λαϊκού Νοσοκομείου Αθηνών (Καθηγητής Γρηγόριος Κουράκλης).

Κατά την διάρκεια του 6^{ου} έτους της ειδικότητας μου, με άδεια μετ' αποδοχών από το ΚΕ.Σ.Υ, διετέλεσα Honorary Clinical Fellow στο Τμήμα Παχέος Εντέρου και Ορθού (επιστημονικά υπεύθυνος Mr. Michael Powar), στο Νοσοκομείο Addenbrookes, στο Cambridge του Ηνωμένου Βασιλείου.

Έχω ολοκληρώσει μαθήματα και σεμινάρια με αντικείμενο τη βασική και προηγμένη ανοικτή, λαπαροσκοπική, ρομποτική και διαπρωκτική χειρουργική στην Ελλάδα, Ευρώπη και ΗΠΑ

Είμαι μέλος επιτροπών στο American Society of Colon and Rectal Surgeons (Αντιπρόεδρος με πρόσκληση στη επιτροπή επικοινωνιών, Μέλος της επιτροπής ΙΦΝΕ με εκλογή), European Society of Coloproctology (Μέλος της επιτροπής επικοινωνιών με εκλογή, μέλος της επιτροπής επιστημονικού προγράμματος με εκλογή, μέλος της επιτροπής έρευνας με εκλογή και αναπληρωτής πρόεδρος της επιτροπής νέων χειρουργών της ESCP) , μέλος της United European Gastroenterology, μέλος της ευρωπαϊκής εταιρείας ενδοσκοπικής χειρουργικής

(EAES) καθώς και τακτικό μέλος της Ελληνικής Χειρουργικής Εταιρείας. Αποτελώ προσκεκλημένο μέλος στο online κανάλι advances in surgery (AIS channel) και παρουσιάζω θέματα της εξειδίκευσης μου για χειρουργούς και άλλους επαγγελματίες υγείας. Είχα την τιμή να παρουσιάσω σε ένα ευρύ κοινό τα αποτελέσματα της διατριβής μου μαζί με μία περιεκτική παρουσίαση για όλα τα νεότερα δεδομένα στη φυσιολογία της επούλωσης τραύματος. Παράλληλα μαζί είμαι ο lead investigator για τις νέες κατευθυντήριες οδηγίες της ESCP για την αντιμετώπιση του T1 καρκίνου του ορθού.

Έχω περισσότερες από 91 δημοσιεύσεις σε ξενόγλωσσα περιοδικά, περισσότερες από 939 αναφορές στη διεθνή βιβλιογραφία (H-index 14), 26 ανακοινώσεις σε διεθνή και ελληνικά συνέδρια και περισσότερα από 51 posters σε ελληνικά και διεθνή συνέδρια.

Από το 2017 είμαι υποψήφια διδάκτωρ της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Από τον Ιούλιο του 2021 κατέχω έμμισθη θέση ως Clinical Research Fellow, στο Τμήμα Παχέος Εντέρου και Ορθού (επιστημονικά υπεύθυνος Dr. Steven D. Wexner) και από τον Αύγουστο του 2023 έμμισθη θέση για 2 έτη ως Clinical Fellow in Minimally Invasive Colorectal Surgery στο Τμήμα Παχέος Εντέρου και Ορθού (επιστημονικά υπεύθυνος Dr. Steven D. Wexner)

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A. Ινσουλινομιμητικός παράγοντας 1 (IGF-1)

Ορισμός

Ο ινσουλινομιμητικός αυξητικός παράγοντας 1 (IGF-1) είναι μια ορμόνη η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη κατά την παιδική ηλικία και έχει αναβολικά αποτελέσματα σε ενήλικες. Ο IGF-1 , ο οποίος έχει μοριακό βάρος 7.649 Daltons αποτελείται από 70 αμινοξέα σε μία μόνο αλυσίδα με τρεις ενδομοριακές γέφυρες δισουλφιδίου. [1,2]

Το γονίδιο υπεύθυνο για την έκφραση του παράγοντα αυτού βρίσκεται στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 12 και αποτελείται από έξι εξόνια. Τα εξόνια αυτά δημιουργούν διάφορες ισομορφές μέσω πολλαπλών, μεταγραφών mRNA με συνδυασμό των ακόλουθων διαδικασιών: πολλαπλών θέσεων έναρξης μεταγραφής (εναλλακτική χρήση προαγωγού), εναλλακτικού ματίσματος και διαφορετικές θέσεις/σήματα πολυαδενυλίωσης. Αυτές οι πολλαπλές μεταγραφές mRNA κωδικοποιούν διαφορετικές ισομορφές IGF-1 , οι οποίες επίσης υφίστανται μετα-μεταφραστική τροποποίηση . [1,2]

Σύνθεση και κυκλοφορία

Ο IGF-1 παράγεται κυρίως από το ήπαρ. Η παραγωγή του διεγείρεται από αυξητική ορμόνη (GH). Το μεγαλύτερο μέρος του IGF-1 συνδέεται με μία από τις 6 πρωτεΐνες δέσμησης (IGF-BP). Η έκφραση του IGF-1 και των ισομορφών του ρυθμίζεται με αρκετά πολύπλοκα μονοπάτια . Η οικογένεια αυτή των πρωτεϊνών είναι επίσης γνωστή βιβλιογραφικά και ως σωματομεδίνες. [1,2]

Ο IGF -1 δρα ως κύριος μεσολαβητής στις δράσεις της αυξητικής ορμόνης μετά την γέννηση. Ανήκει στην ίδια οικογένεια με τις δομικά ομόλογες πρωτεΐνες, την ινσουλίνη και τον ινσουλινομιμητικό παράγοντα.

Οι δράσεις του IGF-1 μεσολαβούνται κυρίως από τους υποδοχείς IGF τύπου 1 (IGF-1 receptor, IGF-1R) που ανήκουν στην οικογένεια των μεμβρανικών υποδοχέων τύπου τυροσινικής κινάσης .

Η δράσεις του είναι ενδοκρινείς αλλά και αυτοκρινείς/παρακρινείς. Η παραγωγή διεγείρεται από την αυξητική ορμόνη (GH) και μπορεί να καθυστερήσει λόγω υποσιτισμού, έλλειψη υποδοχέων αυξητικής ορμόνης ή διαταραχές στην σηματοδοτική οδό μετά τον GH υποδοχέα, συμπεριλαμβανομένων των SHP2 και STAT5B. Περίπου το 98% του IGF-1 συνδέεται πάντα με μία από τις 6 πρωτεΐνες

δέσμευσης (IGF-BP). Η IGFBP-3, αντιπροσωπεύει το 80% όλων των συμπλεγμάτων IGF. Ο IGF-1 συνδέεται με τον IGFBP-3 σε αναλογία 1: 1. [2,3]

Ο IGF-1 παράγεται καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του ανθρώπου. Τα υψηλότερα ποσοστά παραγωγής IGF-1 συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της εφηβείας. Τα χαμηλότερα επίπεδα εμφανίζονται στη βρεφική και την τρίτη ηλικία. [2,3]

Η πρόσληψη πρωτεΐνης αυξάνει τα επίπεδα IGF-1 στους ανθρώπους, ανεξάρτητα από τη συνολική κατανάλωση θερμίδων. Οι παράγοντες που είναι γνωστό ότι προκαλούν διακύμανση στα επίπεδα της αυξητικής ορμόνης (GH) και του IGF-1 στην κυκλοφορία περιλαμβάνουν: επίπεδα ινσουλίνης, ώρα της ημέρας, ηλικία, φύλο, άσκηση, επίπεδα στρες, διατροφή και δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ), κατάσταση νόσου και επίπεδα οιστρογόνων. [4-12]

Γονιδίωμα

Στο ανθρώπινο γονιδίωμα, το γονίδιο του IGF-1 εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 12 (12q22-23). Το υπεύθυνο γονίδιο για την έκφραση του IGF-1 αποτελείται από πέντε εξόνια. Το γονίδιο αυτό μεταγράφεται σε πολλαπλά mRNAs.

Η ποικιλομορφία στο 3' άκρο του γονιδίου έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή mRNAs που ποικίλουν σε μέγεθος (διαφορετικό μήκος της 3' μη μεταφραζόμενης περιοχής, 3'UTR) και κωδικοποιούν διαφορετικές καρβοξυτελικές περιοχές E των πρόδρομων πεπτιδίων. Το προφίλ έκφρασης των mRNA διαφοροποιείται, πιθανώς λόγω διαφορετικών υποκινητών ή ρυθμιστικών στοιχείων, ανάλογα με τον ιστό και το αναπτυξιακό στάδιο. [2-9]

Μηχανισμός Δράσης

Ο IGF-1 είναι ένας πρωταρχικός μεσολαβητής των επιδράσεων της αυξητικής ορμόνης (GH). Η αυξητική ορμόνη παράγεται στον πρόσθιο λοβό της υπόφυσης, απελευθερώνεται στην κυκλοφορία του αίματος και στη συνέχεια διεγείρει το ήπαρ ώστε να παραχθεί IGF-1. Ο IGF-1 στη συνέχεια διεγείρει τη συστηματική ανάπτυξη του σώματος και έχει επιδράσεις προαγωγής της ανάπτυξης σε σχεδόν όλα τα κύτταρα του σώματος, ιδιαίτερα στους σκελετικούς μύες, τους χόνδρους, τα οστά, το ήπαρ, τα νεφρά, το νευρικό σύστημα, το δέρμα, τα αιμοποιητικό και αναπνευστικό σύστημα. Ο IGF-1 συμμετέχει επίσης στη σύνθεση του κυτταρικού DNA. [11-15]

Ο IGF-1 συνδέεται με τουλάχιστον δύο υποδοχείς στην επιφάνεια των κυττάρων με δράση τυροσινικής κινάσης : τον υποδοχέα IGF-1 (IGF1R) και τον υποδοχέα ινσουλίνης. Η πρωταρχική του δράση διαμεσολαβείται από τη σύνδεση με τον

συγκεκριμένο υποδοχέα του, τον IGF1R, ο οποίος υπάρχει στην επιφάνεια κυττάρων σε πολλούς ιστούς. Η σύνδεση με το IGF1R ξεκινά την ενδοκυττάρια σηματοδότηση.

Οι υποδοχείς IGF-1R αποτελούνται από υπομονάδες γλυκοπρωτεϊνικής σύστασης: δύο εξωκυττάρια α-αλυσίδες που περιέχουν την περιοχή δέσμευσης του IGF-1 και δύο διαμεμβρανικές β-υπομονάδες που περιέχουν την ενδοκυττάρια περιοχή με δράση τυροσινικής κινάσης. [5-10]

Οι περισσότερες δράσεις των IGF σε κυτταρικό επίπεδο ασκούνται μέσω της πρόσδεσης των πεπτιδίων στον υποδοχέα IGF-1R. Ο υποδοχέας αυτός συντίθεται στα ριβοσώματα ως μία πρωτεϊνική αλυσίδα, η οποία τροποποιείται μεταμεταφραστικά με την απομάκρυνση τμήματος του πεπτιδίου και τη διάσπαση της πρόδρομης μορφής του υποδοχέα σε μια εξωκυττάρια α-υπομονάδα και μια διαμεμβρανική β-υπομονάδα. Οι α και β υπομονάδες συνδέονται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς σχηματίζοντας ένα σύμπλοκο, το οποίο στη συνέχεια συνδέεται με έναν άλλο υποδοχέα, με αποτέλεσμα τη δημιουργία της ώριμης μορφής του υποδοχέα. Η θέση δέσμευσης των μορίων εντοπίζεται στην εξωκυττάρια περιοχή της α-υπομονάδας, είναι πλούσια σε κυστεΐνες (cysteine-rich domain) και καθορίζει την ειδικότητα των μορίων που θα συνδεθούν. Στο ενδοκυττάριο τμήμα της β-υπομονάδας ανήκει η περιοχή με δράση τυροσινικής κινάσης. [4-6]

Η πρόσδεση του IGF-1 στον υποδοχέα προκαλεί αυτοφωσφορυλίωση του υποδοχέα. Στη συνέχεια, ο υποδοχέας συνδέεται με συγκεκριμένες ενδοκυττάρια πρωτεΐνες που αναφέρονται ως πρωτεΐνες IRS (insulin receptor substrate). Οι πρωτεΐνες αυτές με τη σειρά ενεργοποιούν άλλα μόρια εντός του κυττάρου. Εκτός από τις πρωτεΐνες IRS, ο υποδοχέας IGF-1R συνδέεται άμεσα και με άλλα μόρια, ενεργοποιώντας το μονοπάτι της κινάσης Akt/PKB και αποτρέποντας τα κύτταρα να εισέλθουν στην διαδικασία της απόπτωσης. Σε αυτό το μονοπάτι στηρίζονται και οι θεωρίες για τον ρόλο του IGF-1 στην διαδικασία της καρκινογένεσης.[2,4-6]

Τόσο η δράση τυροσινικής κινάσης όσο και η αυτοφωσφορυλίωση του υποδοχέα είναι καθοριστικές για την επίτευξη των λειτουργιών που εκτελούνται από τον υποδοχέα του IGF-1. [9-11]

Ο IGF-1R διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στη ρύθμιση των μεταβολικών επιδράσεων του IGF-1 στην κυτταρική γήρανση και επιβίωση. Μετά την ενεργοποίησή του, ξεκινά η ενδοκυττάρια σηματοδότηση.[9-11]

Δράσεις στον ανθρώπινο οργανισμό

Διάφορες μελέτες έχουν δείξει την επίδραση του IGF στη σύνθεση DNA. Έχει διαπιστωθεί ότι ο IGF-1 συμβάλλει στην πρόοδο του κυτταρικού κύκλου.

Κύτταρα που βρίσκονται στη φάση G0 του κυτταρικού κύκλου εισέρχονται στη φάση G1 υπό την επίδραση διαφόρων παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων του αυξητικού παράγοντα των αιμοπεταλίων PDGF (Platelet-derived growth factor) και του αυξητικού παράγοντα των ινοβλαστών FGF-2 (Fibroblast growth factor-2). [16,17]

Τα κύτταρα υπό την συνεργεία του IGF-1 και έναν από τους παραπάνω παράγοντες εισέρχονται στην φάση G1 του κυτταρικού κύκλου με αποτέλεσμα τη σύνθεση DNA και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Ο κυτταρικός μηχανισμός μετάδοσης σήματος που ενεργοποιείται παρουσία του IGF-1 περιλαμβάνει τις πρωτεΐνες Ras. Ο IGF-1 διεγείρει τον πολλαπλασιασμό διαφόρων κυτταρικών υποτύπων, όπως ινοβλαστών, χονδροκυττάρων, οστεοβλαστών και άλλων κυττάρων. [16-18]

Συμπληρωματική της δράσης των IGF στη διέγερση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού είναι η ικανότητά τους να αναστέλλουν τον κυτταρικό θάνατο τόσο κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής ανάπτυξης, όσο και σε καταστάσεις στρες ή ασθενειών. Παρ' όλα αυτά, δεν είναι γνωστό αν οι αντιαποπτωτικές δράσεις του IGF-1 πραγματοποιούνται μόνο μέσω της

ενεργοποίησης του υποδοχέα IGF-1R. Η κατανόηση των κυτταρικών μηχανισμών μέσω των οποίων ο IGF-1 ενισχύει την κυτταρική επιβίωση, μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων τον καρκίνο και όχι μόνο.[17,18]

Ο ινσουλινομιμητικός αυξητικός παράγοντας IGF-1 όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, ευοδώνει τη διαφοροποίηση πολλών κυτταρικών τύπων, όπως μυοβλαστών , οστεοκλαστών , χονδροκυττάρων , κυττάρων του νευρικού συστήματος και άλλων. Σε πολλούς ιστούς (ωοθήκες, κύτταρα Leydig, θύμος αδένας, κ.ά.) η ορμονική έκκριση ρυθμίζεται από τους ινσουλινομιμητικούς αυξητικούς παράγοντες IGF. Οι παράγοντες αυτοί φαίνεται να επηρεάζουν διάφορες κυτταρικές λειτουργίες.[18-20]

Ο IGF δρα στον κυτταρικό μεταβολισμό και κυρίως στις αναβολικές διαδικασίες. Στα περισσότερα κύτταρα με λειτουργικούς υποδοχείς IGF-1R, οι IGF διεγείρουν την πρόσληψη αμινοξέων και γλυκόζης και τη σύνθεση πρωτεϊνών. [19,20]

Παρόλο που οι ακριβείς μηχανισμοί του τρόπου δράσης του IGF-1 δεν έχουν διευκρινιστεί πλήρως, ο IGF-1 συμβάλλει στην μυϊκή υπερτροφία. Η ισομορφή IGF-1Ec ενεργοποιείται και αυξάνουν τα επίπεδα της σε απάντηση σε μηχανικά ερεθίσματα όπως η άσκηση. Μέσα σε μια ημέρα περίπου από την αύξηση των επιπέδων , ο IGF-1Ec συνδέεται πλήρως προς τις συστηματικές ισομορφές IGF-1

(IGF-1Ea και IGF-1Eb). Ακολούθως, τα επίπεδα του IGF-1 παραμένουν αυξημένα στον μυϊκό ιστό, με αυξητικές επιδράσεις να παρατηρούνται έως και 72 ώρες μετά την άσκηση. Ο οργανισμός ενεργοποιεί τους μηχανισμούς για μυϊκή υπερτροφία και τους διατηρεί ενεργούς τουλάχιστον 72 ώρες μετά την ύπαρξη του μηχανικού ερεθίσματος.[18-22]

Ο IGF-1 δρα τόσο με αυτοκρινείς όσο και με παρακρινείς μηχανισμούς. Καταρχάς, ο IGF-1 προωθεί τον αναβολισμό αυξάνοντας τον ρυθμό σύνθεσης πρωτεϊνών σε διαφοροποιημένες μυϊκές ίνες όπως αναφέρθηκε προηγουμένως. Επιπλέον, ο τοπικά εκφραζόμενος IGF-1Ec έχει αποδειχθεί ότι ενεργοποιεί κύτταρα που συνεπικουρούν την μυϊκή υπερτροφία και μεσολαβεί στον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίησή τους . [23-23]

Η κύρια μεταβλητή που ρυθμίζει τις συγκεντρώσεις IGF-1 στο πλάσμα είναι η πρόσληψη θρεπτικών συστατικών. Τόσο η συνολική θερμιδική όσο και η πρόσληψη πρωτεΐνης είναι σημαντικές ρυθμιστές της έκφρασης IGF-1. Η επίδραση της θερμιδικής πρόσληψης είναι τέτοια που εάν μειωθεί κατά περίπου 50% υπάρχει σημαντική μείωση στην έκκριση IGF-1. Για κάθε μείωση 25% στην πρόσληψη πρωτεΐνης υπάρχει ισοδύναμη μείωση του IGF-1. Η πλειονότητα του IGF-1 στο πλάσμα συντίθεται στο ήπαρ. Τόσο η προσλαμβανόμενη ποσότητα πρωτεΐνης όσο και οι συνολικές προσλαμβανόμενες θερμίδες συμμετέχουν στη ρύθμιση της ηπατικής σύνθεσης με τη μεταγραφή του γονιδίου IGF-1. Μια παράλληλη επίδραση των αλλαγών αυτών στην πρόσληψη υδατανθράκων είναι η έμμεση επίδραση που εμφανίζεται ως αποτέλεσμα αλλαγών στην έκκριση ινσουλίνης. Εάν παρέχεται

ενέργεια με την μορφή υδατανθράκων λιγότερο από 700 kcal/ημέρα, ακόμη και η συμπληρωματική πρόσληψη λίπους δεν θα αποκαταστήσει έναν φυσιολογικό IGF-1. Αυτό συμβαίνει επειδή η σύνθεση IGF-1 στο ήπαρ ρυθμίζεται επίσης από την ινσουλίνη. Μελέτες σε πειραματόζωα έχουν επίσης δείξει ότι ο αποκλεισμός της δράσης της ινσουλίνης στο ήπαρ μειώνει τον IGF-1 του ορού. Ως εκ τούτου, η πρόσληψη υδατανθράκων λειτουργεί όχι μόνο για να αυξήσει τη συνολική ποσότητα ενέργειας που είναι διαθέσιμη αυξάνοντας έτσι τη σύνθεση IGF-1, αλλά και από την άμεση επίδραση της ινσουλίνης στη μεταγραφή του γονιδίου IGF-1, ιδιαίτερα την ικανότητα της αυξητικής ορμόνης να διεγείρει τη μεταγραφή του γονιδίου IGF-1.

Η αυξητική ορμόνη (GH) είναι η δεύτερη μεταβλητή που ρυθμίζει τη σύνθεση και την έκκριση IGF-1, αλλά για να ανταποκριθεί το ήπαρ στην αυξητική ορμόνη απαιτείται επαρκής διατροφή. Η GH είναι ένα ισχυρό διεγερτικό της σύνθεσης IGF-1 και η χορήγηση GH σε ζώα με έλλειψη GH έχει ως αποτέλεσμα μια γρήγορη αύξηση της μεταγραφής του γονιδίου IGF-1 στο ήπαρ που οδηγεί σε σημαντική αύξηση του IGF-1 ορού. Η αύξηση στον ορό IGF-1 στη συνέχεια ανατροφοδοτεί την υπόφυση για να καταστείλει την έκκριση της GH και να διατηρήσει την ομοιόσταση. Οι πρωτεΐνες που δεσμεύουν τον IGF-1 είναι μια άλλη μεταβλητή που ρυθμίζει τις συγκεντρώσεις IGF-1 στον ορό. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, υπάρχουν έξι πρωτεΐνες που δεσμεύουν IGF-1. Η IGFBP-3 είναι η κύρια πρωτεΐνη δέσμευσης στον ορό και η συγκέντρωσή της αυξάνεται επίσης ως απόκριση στην GH και αυτή η αλλαγή ευθύνεται για ένα σημαντικό κλάσμα της αύξησης του συνολικού IGF-1 που εμφανίζεται ως απόκριση στην GH. Η αύξηση της IGFBP-3 ως απόκριση στην GH ρυθμίζεται επίσης από αλλαγές στη διατροφή. Όταν ο IGF-1 συνδέεται με τον IGFBP-3, το σύμπλοκο δεσμεύεται σε μια τρίτη πρωτεΐνη που ονομάζεται ασταθής

σε οξύ υπομονάδα ή ALS. Οι συγκεντρώσεις ALS εξαρτώνται επίσης από την GH. Αυτό το τριμερές σύμπλεγμα παρατείνει την ημιζωή του IGF-1 στον ορό από 5 λεπτά σε 16 ώρες. Ο IGFBP-5 συναντάται σε μικρότερη ποσότητα από τον IGFBP-3, αλλά συνδέεται επίσης με το ALS και η συγκέντρωσή του αυξάνεται ως απόκριση στην GH. Έτσι, οι αλλαγές στα IGFBP-3, IGFBP-5 και ALS λειτουργούν για να αυξήσουν τη συγκέντρωση του IGF-1 στον ορό παρατείνοντας την ημιζωή του. Δύο άλλες πρωτεΐνες δέσμευσης IGF-1, η IGFBP-1 και IGFBP-2 δεν συνδέονται με την ALS και επομένως παρατείνουν την ημιζωή του IGF-1 σε περιόδους που κυμαίνονται μεταξύ 90 λεπτών και 2 ωρών. Επομένως έχουν ελάχιστες επιδράσεις στην αύξηση των ολικών συγκεντρώσεων IGF-1 στον ορό. Ωστόσο, η ρύθμιση των συγκεντρώσεων αυτών των πρωτεϊνών στον ορό είναι σημαντική για τη ρύθμιση των δράσεων του IGF-1.

Άλλες ορμόνες που ρυθμίζουν τη βιοδραστικότητα του IGF-1 περιλαμβάνουν την κορτιζόλη που ανταγωνίζεται τις δράσεις του IGF-1 και τη θυροξίνη που είναι απαραίτητη για τη φυσιολογική βιοσύνθεση του IGF-1. Τα οιστρογόνα λειτουργούν για να ανταγωνίζονται την ικανότητα της αυξητικής ορμόνης να διεγείρει τη σύνθεση IGF-1 στο ήπαρ και η τεστοστερόνη μεταβάλλει τις συγκεντρώσεις της πρωτεΐνης που δεσμεύει τον IGF. Επιπλέον, το ανάλογο της αυξητικής ορμόνης, η πλακουντιακή ανθρώπινη αυξητική ορμόνη είναι ένα σημαντικό διεγερτικό της σύνθεσης IGF-1 στην εγκυμοσύνη. Όλες αυτές οι ορμόνες λειτουργούν συντονισμένα με τις αλλαγές στην πρόσληψη θρεπτικών συστατικών επηρεάζοντας την ικανότητα του IGF-1 να ρυθμίζει τόσο την ανάπτυξη όσο και τον μεταβολισμό.

Αν και ο IGF-1 θεωρείται κλασικά ένας σημαντικός αυξητικός παράγοντας καθώς διεγείρει την ανάπτυξη όλων των τύπων κυττάρων, έχει σημαντικές μεταβολικές επιδράσεις. Αυτή η πρωταρχική επίδραση του IGF-1 στον μεταβολισμό είναι να παρέχει ένα σήμα στα κύτταρα ότι επαρκές θρεπτικό συστατικό είναι διαθέσιμο για να αποφευχθεί η απόπτωση, να ενισχυθεί η κυτταρική πρωτεϊνική σύνθεση, να επιτραπεί στα κύτταρα να υποστούν υπερτροφία ως απόκριση σε ένα κατάλληλο ερέθισμα και να επιτραπεί η διέγερση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού.

Επομένως, ακόμη και σε ενήλικους ιστούς που δεν διαιρούνται πια όπως οι νευρώνες, ο IGF-1 μπορεί να προσφέρει σημαντικά τροφικά αποτελέσματα που οδηγούν σε αλλαγές στον κυτταρικό μεταβολισμό. Δεδομένου ότι οι υποδοχείς IGF-1 είναι πανταχού παρόντες, η ανταπόκριση στον IGF-1 μπορεί να εμφανιστεί σε όλους τους τύπους κυττάρων. Το σήμα που προκαλείται από τη διέγερση του υποδοχέα του IGF-1 ενεργοποιεί παρέχει έναν μηχανισμό για τον συντονισμό του μεταβολισμού πρωτεϊνών, υδατανθράκων ή λίπους μεταξύ των διαφόρων τύπων κυττάρων. Είναι σημαντικό ότι κάθε μία από αυτές τις διεργασίες ρυθμίζεται συντονισμένα με την ινσουλίνη και στον κατάλληλο ιστό στόχο, είτε η ινσουλίνη είτε ο IGF-1 μπορεί να είναι ο κύριος καθοριστικός παράγοντας καθεμιάς από αυτές τις διεργασίες. Παρομοίως, η αυξητική ορμόνη ρυθμίζει συντονισμένα την ικανότητα καθεμιάς από αυτές τις ορμόνες να ρυθμίζουν και τις τρεις διαδικασίες.

Έχει βρεθεί σε μελέτες με κυτταρικές καλλιέργειες, ότι ο IGF-1 είναι ενεργοποιεί τη πρωτεϊνοσύνθεση. Μετά την ενεργοποίηση του υποδοχέα IGF-1, ο υποδοχέας τυροσινικής κινάσης φωσφορυλιώνει τις τυροσίνες στην πρωτεΐνη προσαρμογής που

ονομάζεται υπόστρωμα υποδοχέα ινσουλίνης-1 (IRS-1) . Ακολουθεί μία διεργασία ενεργοποίησης και καταστολής πολλαπλών πρωτεϊνικών μορίων καταλήγοντας σε σημαντική αύξηση της πρωτεϊνοσύνθεσης. Η διαδικασία αυτή ρυθμίζεται από την ευαίσθητη σε θρεπτικά συστατικά κινάση AMP, η οποία ενεργοποιείται σε έλλειψη θρεπτικών συστατικών και φωσφορυλιώνει τη σερίνη 794 στο IRS-1, η οποία αναστέλλει την ικανότητά της να ενεργοποιείται, οδηγώντας έτσι στην αναστολή της κινάσης PI-3 και στην αναστολή της πρωτεϊνικής σύνθεσης που διεγείρεται από IGF-1. Στους σκελετικούς μυς, ο IGF-1 διεγείρει τη μεταφορά αμινοξέων, αλλά είναι επίσης άμεσος διεγέρτης της πρωτεϊνοσύνθεσης και σημαντικός αναστολέας της διάσπασης των πρωτεϊνών . [21-23]

Ο IGF-1 λειτουργεί τόσο υπό κανονικές συνθήκες αλλά και σε συνθήκες στέρησης πρωτεΐνης ή σε καταρράκτη κυτταροκινών για να μετριάσει τον καταβολισμό. Όταν ο IGF-1 χορηγείται σε υγιείς οργανισμούς διεγείρει την πρωτεϊνοσύνθεση αλλά εάν δεν έχει διεγερθεί ο καταβολισμός έχει ελάχιστες επιδράσεις στην πρωτεόλυση. Ωστόσο, σε υψηλές συγκεντρώσεις μπορεί να καταστείλει την πρωτεόλυση ακόμη και σε άτομα που τρέφονται κανονικά. Η χορήγηση GH οδηγεί επίσης σε αύξηση της πρωτεϊνικής σύνθεσης αλλά ο βαθμός στον οποίο η GH διεγείρει αυτή την απόκριση εντελώς ανεξάρτητα από τον IGF-1 δεν έχει προσδιοριστεί. Η συγχορήγηση αυξητικής ορμόνης και IGF-1 σε φυσιολογικά άτομα που τρέφονται κανονικά δεν οδηγεί σε μεγαλύτερη ανταπόκριση σε σύγκριση με την ατομική απόκριση σε κάθε ορμόνη που χορηγείται χωριστά. Ωστόσο, μετά από στέρηση θερμίδων, η χορήγηση αυξητικής ορμόνης και IGF-1 έχει ως αποτέλεσμα μια συνεργική αύξηση της ισορροπίας των πρωτεϊνών. Σε ενήλικες με ανεπάρκεια αυξητικής ορμόνης τόσο η GH όσο και ο IGF-1 δρουν αναβολικά και ενισχύουν την πρωτεϊνοσύνθεση. Η

ινσουλίνη μπορεί να αναστείλει την πρωτεόλυση στους μύες σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, αλλά οι συγκεντρώσεις που απαιτούνται για την αύξηση της πρωτεϊνικής σύνθεσης είναι υψηλότερες. Επομένως, θα ήταν λογικό να συμπεράνουμε ότι ο IGF-1 είναι ο κύριος παράγοντας διατήρησης της πρωτεϊνικής σύνθεσης κατά τη διάρκεια σχετικά μεγάλων διαστημάτων μεταξύ των γευμάτων, αλλά η ινσουλίνη είναι ένας πρωταρχικός παράγοντας που διεγείρει τις αναβολικές διεργασίες στους σκελετικούς μύες μετά την κατανάλωση ενός συνηθισμένης περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη γεύματος. [22-24]

Τόσο η αυξητική ορμόνη όσο και ο IGF-1 έχουν χρησιμοποιηθεί πειραματικά σε ασθενείς με αυξημένο καταβολισμό και έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνουν την κατακράτηση αζώτου και τη σύνθεση πρωτεϊνών όταν χορηγούνται σε περιπτώσεις σοβαρών εγκαυμάτων και νεφρικής ανεπάρκειας . Παρομοίως, οι ασθενείς που λαμβάνουν υψηλές δόσεις κορτικοστεροειδών ανταποκρίνονται στον IGF-1 με επαγωγή αναβολικής απόκρισης . [24-26]

Ο IGF-1 δρα και στον μεταβολισμό του λίπους. Αν και τα ώριμα λιποκύτταρα δεν εκφράζουν υποδοχείς IGF-1, οι πρόδρομες μορφές των λιποκυττάρων έχουν άφθονους υποδοχείς IGF-1 και ο IGF-1 διεγείρει τη διαφοροποίηση τους σε ώριμα λιποκύτταρα. Ωστόσο, καθώς τα πρόδρομα κύτταρα διαφοροποιούνται σε ώριμα, μειώνουν σημαντικά τον αριθμό των υποδοχέων IGF-1 και κυριαρχούν οι υποδοχείς ινσουλίνης. Έτσι, σε καλά σχηματισμένα στρώματα λιπώδους ιστού, οι φυσιολογικές συγκεντρώσεις του IGF-1 δεν ασκούν ιδιαίτερη επίδραση στη σύνθεση λιπιδίων ή στη λιπόλυση . Αντίθετα, τόσο η GH όσο και η ινσουλίνη είναι ισχυροί ρυθμιστές

αυτών των διεργασιών. Η GH έχει άμεσες επιδράσεις στα ώριμα λιποκύτταρα που έχουν ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση ελεύθερων λιπαρών οξέων μετά τη διάσπαση των τριγλυκεριδίων και την αυξημένη οξείδωση των ελεύθερων λιπαρών οξέων στο ήπαρ. Η GH ενισχύει επίσης τη λιπολυτική δράση των κατεχολαμινών αυξάνοντας τον αριθμό των αδρενεργικών υποδοχέων στα λιποκύτταρα. Ο IGF-1 είναι ένα ισχυρό διεγερτικό της πρόσληψης και οξείδωσης των ελεύθερων λιπαρών οξέων στους σκελετικούς μύες. Επομένως, μια σημαντική μεταβολική επίδραση του IGF-1 είναι η μείωση της ροής των ελεύθερων λιπαρών οξέων μέσω του ήπατος, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την ενίσχυση της ικανότητας της ινσουλίνης να καταστέλλει την ηπατική παραγωγή γλυκόζης. Οι αυξημένες συγκεντρώσεις του IGF-1 καταστέλλουν επίσης την έκκριση ινσουλίνης και αυτό μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της λιπογονικής δράσης της ινσουλίνης στο λίπος. Επομένως, οι δύο κύριες επιδράσεις του IGF-1 που μπορεί να είναι η ενίσχυση της χρήσης των ελεύθερων λιπαρών οξέων από τους μύες, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση και την απώλεια της λιπογονικής δράσης της ινσουλίνης στο λίπος.[28-30]

Η καταστολή της GH από τον IGF-1 έχει επίσης ως αποτέλεσμα μειωμένη μεταφορά λιπαρών οξέων στο ήπαρ και μειώνει την ποσότητα του διαθέσιμου υποστρώματος για ενίσχυση της οξείδωσης των λιπιδίων απευθείας στους σκελετικούς μύες, μειώνοντας έτσι τη συνολική ροή ελεύθερων λιπαρών οξέων. Αυτός ο μηχανισμός πιθανότατα λειτουργεί υπό κανονικές συνθήκες για να ρυθμίζει την ομοιόσταση της γλυκόζης και την επαγόμενη από την GH αντίσταση στην ινсуλίνη. Η χρόνια χορήγηση IGF-1 σε ενήλικες με έλλειψη GH, έχει αποδειχθεί ότι μειώνει το ποσοστό μάζας λίπους σε ενήλικες με έλλειψη GH. Η χρόνια χορήγηση IGF-1 σε ασθενείς που

είχαν ελαττωματικό υποδοχέα GH οδήγησε σε αυξημένους ρυθμούς λιπόλυσης και οξείδωσης λιπιδίων και απώλεια συνολικής μάζας λίπους. Η επίδραση ήταν παρόμοια με την επίδραση της GH όταν χορηγήθηκε σε άτομα με έλλειψη GH.[26-32]

Ο IGF-1 επηρεάζει επίσης τον μεταβολισμό των υδατανθράκων. Ο IGF-1 μειώνει τις συγκεντρώσεις της GH στον ορό και επίσης μειώνει τις άμεσες επιδράσεις της GH στην καταστολή της ηπατικής γλυκονεογένεσης, αυξάνοντας την πρόσληψη ελεύθερων λιπαρών οξέων στους μύες (ενισχύοντας έτσι έμμεσα τη δράση της ηπατικής ινσουλίνης) . Επομένως, ο IGF-1 μπορεί να ρυθμίσει έμμεσα τον μεταβολισμό των υδατανθράκων μέσω της καταστολής της GH και της ενίσχυσης της δράσης της ινσουλίνης. Μετά την κατανάλωση ενός γεύματος, υπάρχει σημαντική αύξηση του ελεύθερου IGF-1. Αυτό συμβαίνει μέσω της επαγόμενης από την ινσουλίνη καταστολής της έκκρισης IGFBP-1 . Το γονίδιο IGFBP-1 ρυθμίζεται μεταγραφικά από την ινσουλίνη και έτσι η επαγόμενη από το γεύμα αύξηση στην ινσουλίνη οδηγεί σε αύξηση του ελεύθερου IGF-1. Αυτή η αλλαγή μπορεί να είναι επαρκής για την αύξηση του ρυθμού της οξείδωσης των λιπαρών οξέων στους μύς και την καταστολή της GH και αυτές οι αλλαγές μπορεί να συμβούν σε φυσιολογικά επίπεδα IGF-1. Αυξημένα επίπεδα IGF-1 (με εξωγενή χορήγηση) σε φυσιολογικά άτομα έχει ως αποτέλεσμα περαιτέρω αλλαγές στο μεταβολισμό των υδατανθράκων. [24-32]

Σε μια μελέτη κοορτής, η έγχυση ενός ανταγωνιστή υποδοχέα GH σε ασθενείς με ακρομεγαλία, βελτίωσε την ευαισθησία τους στην ινσουλίνη. [33] Όταν εγχύθηκε συνδυαστικά GH και IGF-1 (αν και ο IGF-1 εγχύθηκε σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες

από τις φυσιολογικές), η ευαισθησία στην ινσουλίνη βελτιώθηκε περαιτέρω και η γλυκόζη μειώθηκε ακόμη και όταν η δραστηριότητα της GH είχε κατασταλεί πλήρως. Έτσι, η κυρίαρχη επίδραση του IGF-1 στον μεταβολισμό των υδατανθράκων φαίνεται να είναι δευτερεύουσα σε σχέση με τις επιδράσεις του στον μεταβολισμό των λιπιδίων. Επειδή η καταστολή της έκκρισης ινσουλίνης και GH συμβαίνει σε φαρμακολογικά επίπεδα του IGF-1, είναι δύσκολο να γίνει προέκταση από τα αποτελέσματα των περισσότερων δημοσιευμένων μελετών και να συμπεράνουμε ότι αυτές οι επιδράσεις εμφανίζονται επίσης σε φυσιολογικά επίπεδα του παράγοντα. [26-33]

Οι συγκεντρώσεις IGF-1 στον ανθρώπινο ορό δεν είναι σταθερές αλλά ποικίλλουν. Η ηλικία είναι ένας καθοριστικός παράγοντας. Τα επίπεδα στον ορό είναι χαμηλά κατά τη γέννηση και αυξάνονται προοδευτικά με μια κορύφωση κατά την εφηβεία και στη συνέχεια μειώνονται προοδευτικά με τη μεγαλύτερη μείωση να εμφανίζεται κατά τη δεύτερη δεκαετία της ζωής. Αυτές οι αλλαγές είναι παράλληλες με τις εξαρτώμενες από την ηλικία αλλαγές στην έκκριση της GH. Αλλαγές στις συγκεντρώσεις των πρωτεϊνών δέσμευσης IGFBP-3 και -5, είναι παράλληλες με τις αλλαγές που συμβαίνουν στην συγκέντρωση του IGF-1 στον ορό. Τα επίπεδα των IGFBP-1 και -2 εξαρτώνται από την άλλη πλευρά σε μεγάλο βαθμό από τα επίπεδα ινσουλίνης. Οι αλλαγές στις συγκεντρώσεις αυτών των δύο πρωτεϊνών μπορεί να έχουν σημαντικές επιπτώσεις στη συγκέντρωση του ελεύθερου IGF-1 στο πλάσμα. Αν και η ρύθμιση της έκκρισης IGF-1 γίνεται κυρίως μέσω των οξέων αλλαγών στην διατροφή, η ρύθμιση επηρεάζεται επίσης από τις χρόνιες αλλαγές στη διατροφική πρόσληψη που οδηγούν σε μεταβολές της ποσότητας του λιπώδους ιστού. Γενικά, όταν ο δείκτης μάζας σώματος αυξάνεται πάνω από 24, υπάρχει σημαντική αύξηση στις

συγκεντρώσεις IGF-1 στον ορό . Αυτή η αλλαγή παραμένει σχετικά σταθερή έως ότου ο δείκτης μάζας σώματος φτάσει στο 36. Σε αυτό το σημείο, αν και διατηρείται η αυξημένη ευαισθησία στην GH, υπάρχει μείωση στην έκκριση της GH. Επομένως, οι παχύσαρκοι ασθενείς έχουν χαμηλότερους ρυθμούς παραγωγής αίματος 24 ωρών GH. Συνέπεια της παχυσαρκίας είναι επίσης και η διαταραχές στις συγκεντρώσεις των δεσμευτικών πρωτεϊνών που περαιτέρω επηρεάζουν τα επίπεδα του κυκλοφορούντος IGF-1.[23-34]

B. Φυσιολογία Επούλωσης Τραύματος

Η επούλωση του τραύματος είναι μία φυσιολογική αντίδραση του ανθρώπινου οργανισμού σε τραυματισμό. Πρόκειται για ένα εξαιρετικά πολύπλοκο φαινόμενο, το οποίο περιλαμβάνει την ενεργοποίηση ενός καταρράκτη κυτταροκινών και κυτταρικών πληθυσμών. Υπάρχουν διάφορες ταξινομήσεις για την περιγραφή των τραυμάτων. Μία χρήσιμη κλινικά είναι διάκριση σε οξέα, χρόνια τραύματα και επιπλεγμένα τραύματα. Οξέα τραύματα είναι αυτά που επουλώνονται με τις αναμενομένες διαδικασίες στον προβλεπόμενο χρονικό διάστημα. Τα χρόνια τραύματα από την άλλη πλευρά αποτυγχάνουν να ακολουθήσουν αυτή την φυσιολογική διαδικασία και εμφανίζουν σημεία παρατεταμένης φλεγμονής. Ενώ δεν υπάρχει καταγεγραμμένο σαφές χρονικό όριο διάκρισης μεταξύ οξέων και χρόνιων τραυμάτων, οι 4-6 εβδομαδες χρησιμοποιούνται συχνά σαν όριο στην κλινική πράξη για την ταξινόμηση ενός τραύματος ως χρόνιο. [35-37]

Μπορούν να διακριθούν οι εξής 4 φάσεις στην διαδικασία επούλωσης ενός οξέος τραύματος: [35-39]

1. Αιμόσταση
2. Φλεγμονώδης φάση
3. Φάση πολλαπλασιασμού
4. Ωρίμανση ουλώδους ιστού

Αξίζει να αναφερθεί στο σημείο αυτό ότι οι φάσεις αυτές δεν είναι ξεκάθαρα διακριτές αλλά συχνά επικαλύπτουν η μία την άλλη και η συνολική διάρκεια αυτών των διαδικασιών μπορεί να ξεπεράσει το έτος.

Αιμόσταση

Πρωταρχικός σκοπός της φάσης αιμόστασης είναι η διακοπή την αιμορραγίας. Αμέσως μετά το τραυματισμό, τα μικρά αγγεία στην περιοχή του τραύματος συσπώνται με αποτέλεσμα την διακοπή απώλειας αίματος. Η διαδικασία αυτή ολοκληρώνεται εντός 5-10 λεπτών. Η σύσπαση των λείων μυϊκών κυττάρων των αιμοφόρων αγγείων επαρκεί για την διακοπή της αιμορραγίας σε αρτηρίδια με διάμετρο μικρότερη των 0.5ψμ. Η διαδικασία αυτή είναι αποτελεσματική αν τραυματισμός του αγγείου είναι εγκάρσιος και όχι συνήθως επιμήκης. Η αγγεισύσπαση είναι χρήσιμη όπως αναφέρθηκε μόνο για τα πρώτα λεπτά καθώς στη συνέχεια οι συνθήκες υποξίας και οξέωσης του τραύματος προκαλούν διαστολή και ως συνέπεια επανέναρξη της αιμορραγίας. Αυτό αποτρέπεται με την συγκέντρωση ινικής και την δημιουργία θρόμβου.

Μαζί με τα αιμοσταστικά φαινόμενα, ο καταρράκτης της αιμόστασης εμπεριέχει εξωγενή και ενδογενή μονοπάτια που οδηγούν στην συγκέντρωση αιμοπεταλίων δημιουργία θρόμβου ώστε να μειωθεί η απώλεια αίματος. Η έναρξη της διαδικασίας γίνεται με τη επαφή συστατικών του αίματος και κυρίως των αιμοπεταλίων με το εκτεθειμένο κολλαγόνο στην περιοχή του τραύματος. Αυτή η επαφή ενεργοποιεί του παράγοντες πήξης με αποτέλεσμα την δημιουργία θρόμβου. Ο θρόμβος αυτός πέρα από την αιμοστατική δράση, επιτελεί και ρόλο ‘σκελετού’ ή ‘δικτύου’ για την

μετανάστευση κυττάρων που επιτελούν σημαντικούς ρόλους στην μετέπειτα διαδικασία της επούλωσης.

Επιπλέον το κυτταρόπλασμα των αιμοπεταλίων περιέχει τα α κοκκία. Τα κοκκία αυτά μεταφέρουν αυξητικούς παράγοντες και κυτταροκίνες όπως τον επαγόμενο από αιμοπετάλια αυξητικό παράγοντα (platelet derived growth factor – PDGF), μετατρεπτικό αυξητικό παράγοντα β (transforming growth factor β -TGFβ), επιδερμικό αυξητικό παράγοντα και τον IGF-1. Αυτοί οι παράγοντες δρουν ως επαγωγείς της διαδικασίας επούλωσης ενεργοποιώντας και προσελκύοντας ουδετερόφιλα, μακροφάγα, ενδοθηλιακά κύτταρα και ινοβλάστες. Τα αιμοπετάλια επίσης περιέχουν αγγειοδραστικές πρωτεΐνες όπως η σεροτονίνη, η οποία προκαλεί αγγειοδιαστολή και αυξημένη αγγειακή διαπερατότητα οδηγώντας σε εξαγγείωση υγρών στον εξωαγγειακό χώρο και οίδημα. Επιπλέον προϊόντα του μεταβολισμού του αραχιδονικού οξέος που απελευθερώνονται σε απάντηση στον τραυματισμό της κυτταρικής μεμβράνης επισπεύδουν την φλεγμονώδη φάση. [37-39]

Φλεγμονώδης φάση

Η φλεγμονώδης φάση στην επούλωση του τραύματος μέσω χυμικών και κυτταρικών μηχανισμών θέτει τα θεμέλια για την ανταπόκριση του οργανισμού στους εισερχόμενους μικροοργανισμούς μέσω του τραύματος.

Αρχικά ενεργοποιείται ο καταρράκτης του συμπληρώματος και με μοριακούς μηχανισμούς οδηγεί στην διήθηση του τραύματος από κυκλοφορούντα ουδετεροφίλα. Κύριος σκοπός των ουδετεροφίλων είναι ή αποτροπή της μόλυνσης. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της φαγοκυττάρωσης προκειμένου να απομακρύνουν βακτήρια, ξένα σώματα και τμήματα τραυματισμένου ιστού. Η φαγοκυτταρική δραστηριότητα των ουδετεροφίλων παίζει καθοριστικό ρόλο στην επούλωση του τραύματος καθώς τραύματα με αυξημένο μικροβιακό πληθυσμό θα αποτύχουν να επουλωθούν φυσιολογικά και θα μεταπέσουν σε χρονιότητα.

Τα ουδετερόφιλα συγκεντρώνονται στο τραύματος εντός 24-36 ωρών από την έναρξη του τραυματισμού μέσω χημειοτακτικών παραγόντων όπως ο TGF-β, παράγοντες του συμπληρώματος όπως ο C3a και C5a, ο IGF-1 και άλλα παράγωγα των αιμοπεταλίων. Οι παραπάνω παράγοντες μετατρέπουν τα μόρια προσκόλλησης ρόσο στην επιφάνεια των ουδετεροφίλων όσο και στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων. Οι χημειοκίνες ενεργοποιούν επίσης το σύστημα των ιντεγκρινών, οι οποίες δρουν ως ενισχυτές της προσκόλλησης των εισερχόμενων κυττάρων. Τα ουδετερόφιλα καταφθάνουν στο σημείο του τραύματος μέσω διαπήδησης διαμέσου του τοιχώματος των αγγείων. Μόλις εισέλθουν στο τραύμα φαγοκυτταρώνουν ξένο υλικό και βακτήρια απελευθερώνοντας πρωτεολυτικά ένζυμα. [35-36]

Η δράση των ουδετεροφίλων σταδιακά αλλάζει τις επομένες ημέρες, μετά την απομάκρυνση όλων των βακτηρίων και ξένων σωμάτων. Τα υπολειπόμενα ουδετερόφιλα απομακρύνονται ως ρυπαρό υλικό (πύον) από την επιφάνεια του

τραύματος ή μέσω απόπτωσης. Τα υπολείμματα θα φαγοκυτταρωθούν στην πορεία από τα μακροφάγα.

Στη συνέχεια της φλεγμονώδους φάσης, 48-72 ώρες μετά τον τραυματισμό, ξεκινά η είσοδος των μακροφάγων στο τραύμα. Αυτά τα κύτταρα προέρχονται από μονοκύτταρα τα οποία υπόκεινται σε φαινοτυπική διαφοροποίηση για να εισέλθουν στην περιοχή του τραύματος. Προσέλκυνται στο τραύμα από διάφορους παράγοντες όπως παράγοντες πήξης, συμπληρώματος, PDGF, TGF- β και προϊόντα αποδόμησης κολλαγόνου και ελαστίνης. Το πλεονέκτημα το μακροφάγων σε αυτή τη φάση σε σχέση με τα ουδετερόφιλα είναι η μεγαλύτερη διάρκεια ζωής και δράσης καθώς και η δυνατότητα τα δουλεύουν σε πιο όξινο περιβάλλον. Πέρα από την φαγοκυττάρωση ενεργοποιούν άλλα κύτταρα όπως ινοβλάστες, κερατινοκύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα. Η μείωση των μονοκυττάρων και μακροφάγων προκαλεί διαταραχές στην επούλωση και καθυστέρηση στον πολλαπλασιασμό και ωρίμανση των ινοβλαστών, καθυστέρηση στην αγγειογένεση και ανεπαρκή παραγωγή κολλαγόνου. [32-40]

Τα τελευταία κύτταρα που εισέρχονται στο τραύμα κατά την φλεγμονώση φάση είναι τα λεμφοκύτταρα μετά της 72 ώρες μέσω της δράσης της ιντερλευκίνης 1 και παραγώγων του συμπληρώματος. Η ιντερλευκίνη 1 διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο την ρύθμιση της κολλαγενάσης η οποία είναι απαραίτητη για την αναδόμηση του κολλαγόνου. [32-40]

Φάση πολλαπλασιασμού

Η φάση πολλαπλασιασμού ξεκινάει την 3^η ημέρα περίπου μετά τον τραυματισμό και διαρκεί για 2 εβδομάδες. Απαραίτητη προϋπόθεση για το τραύμα να εισέλθει στη φάση πολλαπλασιασμού είναι ο τραυματικός παράγοντας να έχει σταματήσει, η αιμόσταση να είναι επιτυχής όπως επίσης και η φλεγμονώδης φάση να έχει ολοκληρωθεί με επιτυχία. Η φάση αυτή χαρακτηρίζεται από την εισροή ινοβλαστών, και παραγωγή εξωκυττάριας ουσίας αποτελούμενη από ινική. Σε μακροσκοπικό επίπεδο αυτή η φάση της επούλωσης φαίνεται ως εφελκίδα. [41-43]

Οι ακόλουθες διαδικασίες παίρνουν χώρα κατά την φάση πολλαπλασιασμού:

1. Μετανάστευση ινοβλαστών

Αμέσως μετά από τραυματισμό διεγείρεται ο πολλαπλασιασμός των ινοβλαστών και μυοϊνοβλαστών στους περιβάλλοντες ιστούς για τις πρώτες 3 ημέρες. Στη συνέχεια μεταναστεύουν στο σημείο του τραύματος. Παράγοντες όπως ο TGF- β και ο PDGF, που απελευθερώνονται από τα φλεγμονώδη κύτταρα και αιμοπετάλια δρουν χημειοτακτικά για τους ινοβλάστες.

Μόλις οι ινοβλάστες καταφθάσουν στο τραύμα, ξεκινούν και πολλαπλασιάζονται παράγοντας ένα πλέγμα από ένα συνδυασμό πρωτεϊνών όπως το υαλουρονικό οξύ, φιβρονεκτίνη, πρωτεογλυκάνες και τύπου 1 και τύπου 3 και προκολλαγόνο.

Μέχρι το τέλος της πρώτης εβδομάδας, αυτό το πλέγμα των νέων πρωτεϊνών παραγόμενων από τους ινοβλάστες λειτουργεί ως στρώμα για τη περαιτέρω κυττάρων απαραίτητων για την διαδικασία επούλωσης του τραύματος.

Στη συνέχεια οι ινοβλάστες μετατρέπονται φαινοτυπικά σε μυοϊνοβλάστες. Σε αυτό το στάδιο, μέσω δεσμών ακτίνης επεκτείνουν ενεργά ψευδοπόδια κάτω από την πλασματική μεμβράνη, προσκολλώντας στην ινοδονεκτίνη και το κολλαγόνο. Μέσω την συστολή των ψευδοποδίων πραγματοποιείται η συστολή τραύματος, ένα σημαντικό γεγονός στην διαδικασία επούλωσης καθώς συμπλησιάζει τα άκρα του τραύματος. Ακολούθως οι περιττοί οι ινοβλάστες απομακρύνονται μέσω απόπτωσης.[40-43]

3. Σύνθεση κολλαγόνου

Το κολλαγόνο είναι ένα σημαντικό συστατικό σε όλες τις φάσεις της επούλωσης των τραυμάτων. Συντίθεται από ινοβλάστες και προσδίδει ακεραιότητα και αντοχή σε όλους τους ιστούς. Το κολλαγόνο παίζει βασικό ρόλο στην επούλωση του τραύματος,

ιδιαίτερα στο φάση πολλαπλασιασμού και διαμόρφωσης της ουλής. Το κολλαγόνο λειτουργεί ως θεμέλιο του σκελετού για την επούλωση του τραύματος. Η ανθρώπινη επιδερμίδα περιέχει 80% κολλαγόνο τύπου 1 και 25% κολλαγόνο τύπου 3, ενώ ο κοκκιώδης νεοσυντιθέμενος ιστός εκφράζει 40% τύπου 3 κολλαγόνο. [40-43]

4. Αγγειογένεση και κοκκιώδης ιστός

Η δημιουργία νέων αιμοφόρων αγγείων είναι κρίσιμης σημασίας για την επούλωση του τραύματος. Η αγγειογένεση ξεκινά από την φάση της αιμόσταση με την έκκριση πολυάριθμων αγγειογενετικών παραγόντων. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα ανταποκρίνονται σε αυτούς παράγοντες. Διάφοροι ανασταλτικοί και διεγερτικοί παράγοντες δρουν άμεσα ή έμμεσα στον πολλαπλασιασμό των ενδοθηλιακών κυττάρων προάγοντας τη μίτωση. Σε συνθήκες υποξίας παράγονται ουσίες από τα περιβάλλοντα κύτταρα που ευοδώνουν τον πολλαπλασιασμό και ανάπτυξη των ενδοθηλιακών κυττάρων. Νεόπλαστα αγγεία εισχωρούν από την περιφέρεια του τραύματος εντός του θρόμβου.[42-46]

5. Προέκταση

Ο κυτταροσκελετός αποτελείται από 3 διαφορετικούς τύπους αλληλοεπιδρώντων πρωτεϊνών, συμμετέχει στη μηχανική υποστήριξη του κυττάρου τόσο με σύνδεση με άλλα κύτταρα όσο και με των εξωκυττάριο χώρο. Το δίκτυο ακτίνης παίζει καθοριστικό ρόλο στον συντονισμό της κυτταρικής κίνησης και μετανάστευσης.

Αρχικά στο λαμβάνει χώρα πολυμερισμός ακτίνης στο άκρο του κυττάρου που πρόκειται να προεκταθεί, ο οποίος πολυμερισμός καθορίζεται από χημειοκίνες και κυτταροκίνες. Η πλασματική μεμβράνη ωθείται προς τα έξω, σχηματίζοντας μια προεξέχουσα δομή, γνωστή ως φιλοπόδιο. Έτσι με κυκλική συναρμολότητα και αποσυναρμολότητα νηματίων ακτίνης, διατηρείται η προέκταση προς μία κατεύθυνση παίζοντας καθοριστικό ρόλο στην μορφολογία και μετανάστευση των κυττάρων.[39-43]

6. Προσκόλληση

Η προσκόλληση του κυττάρου που μεταναστεύει σε στέρεο υπόστρωμα είναι το επόμενο σημαντικό βήμα της φάσης του πολλαπλασιασμού. Διαμεσολαβείται από ιντεγκρίνες, που λειτουργούν ως οι κύριοι υποδοχείς για πρωτεΐνες εξωκυττάριας ουσίας. Επιπλέον, τα οι πρωτεΐνες αυτές εμπλέκονται στη μεταγωγή του σήματος και ευόδωση της μεταναστευτικής διαδικασίας. Η διαδικασία της προσκόλλησης και της κυτταρικής μετανάστευσης είναι αντιστρόφως ανάλογες: η κινητικότητα των κυττάρων μειώνεται όσο αυξάνει η προσκόλλησή τους.

Μετά την προσάρτηση τους στο νέο εξωκυττάριο περιβάλλον, τα κύτταρα αλλάζουν μορφολογία. Οι αλλαγές στο σχήμα διέπονται από την ιντεγκρίνη και εξαρτώνται από τις επαφές ιντεγκρίνης με το εξωκυττάριο περιβάλλον. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα μεταναστεύουν ταχύτερα αμέσως μετά τον τραυματισμό και στη συνέχεια

αδιατηρούν έναν βραδύτερο σταθερό ρυθμό καθόλη την διάρκεια της επούλωσης.[35-43]

7. Έλξη

Συσταλτικές δυνάμεις, που μεταδίδονται μέσω των συμπλεγμάτων ιντεγκρίνης και κυτταροσκελετικών συνδέσεων, επιτρέπουν στο κύτταρο για να τραβήξει το κυτταρόπλασμα προς τα εμπρός δημιουργώντας έλξη προς το υπόστρωμα. Η ενέργεια για κίνηση παρέχεται από τη μυοσίνη, που συνδέεται με δέσμες ακτίνης κατά μήκος του κυττάρου. Κατά τη μετακίνηση, η έλξη που δημιουργείται μεταξύ των πρωτεϊνικών συμπλεγμάτων είναι τόσο ισχυρή που μπορεί να αναδιαμορφώσει το σχήμα του τραύματος.[35-46]

Σε αυτή την φάση ο προσωρινός σκελετός ινικής αντικαθίσταται με ένα υπόστρωμα κολλαγόνου, ινωδογόνου, υαλουρονικού οξέος μαζί με μακροφάγα και πολλαπλασιαζόμενους ινοβλάστες που αποτελούν τον νέο κοκκιώδη ιστό. Σταδιακά η συσσώρευση του κολλαγόνου αυξάνει και ο κοκκιώδης ιστός παίρνει την μορφή ώριμου ουλώδους ιστού.

8. Επιθηλιοποίηση

Η μετανάστευση των επιθηλιακών κυττάρων ξεκινά από τις άκρες του τραύματος μέσα σε λίγες ώρες μετά από τον τραυματισμό. Ένα στρώμα επιθηλιακών κυττάρων καλύπτει αρχικά την περιοχή του τραύματος, και συνοδεύεται από αξιοσημείωτη αύξηση του πολλαπλασιασμού των επιθηλιακών κυττάρων στις περιοχές γύρω από τις άκρες του τραύματος. Όταν τα επιθηλιακά κύτταρα που μεταναστεύουν από την μία άκρη συναντούν τα επιθηλιακά κύτταρα που μεταναστεύουν από άλλη περιοχή του τραύματος, τότε διακόπτεται η περαιτέρω μεταφορά και σχηματίζεται η βασική μεμβράνη. [35-46]

Ωρίμανση ουλώδους ιστού

Ως τελική φάση της επούλωσης του τραύματος, η ωρίμανση του ουλώδους ιστού είναι υπεύθυνη για την ανάπτυξη νέου επιθηλίου και τον τελικό σχηματισμό ουλώδους ιστού. Αυτή η φάση μπορεί να διαρκέσει έως και 1-2 χρόνια, ή μερικές φορές ακόμη περισσότερο. Η τελική φάση της επούλωσης ενός οξέος τραύματος ρυθμίζεται μέσω μίας λεπτής ισορροπίας αποδόμησης και σύνθεσης που οδηγεί στο τελικό αποτέλεσμα. Μαζί με την ωρίμανση του στρώματος, οι ίνες κολλαγόνου αυξάνουν σε διάμετρο ενώ το υαλουρονικό οξύ και η ινωδονεκτίνη αποικοδομούνται. Η ελαστικότητα και η αντοχή του νέου ιστού αυξάνεται παράλληλα με τη αύξηση της συγκέντρωσης του κολλαγόνου.

Με την επούλωση το τραύμα μπορεί να ανακτήσει περίπου το 80% της αρχικής αντοχής αλλά ποτέ δεν θα είναι ίδιο με τον μη τραυματισμένο ιστό.

Μεταλλοπρωτεΐνάσες και ινοβλάστες συμμετέχουν σε διάσπαση και σύνθεση κολλαγόνου. Ενώ οι αρχικές ίνες κολλαγόνου είναι άτακτα βαλμένες, σε αυτή τη φάση το συντιθέμενο κολλαγόνο έχει συγκεκριμένη κατεύθυνση και δομή, και το τραύμα συστέλλεται ακόμη περισσότερο, συμπλησιάζοντας τα ελεύθερα- μία διαδικασία που έχει ξεκινήσει ήδη από την φάση του πολλαπλασιασμού. Η διαδικασία αυτή ρυθμίζεται με διάφορους παράγοντες όπως οι PDGF, TGF-β , IGF-1 και FGF. Καθώς η πληγή επουλώνεται, η πυκνότητα των ινοβλαστών και τα μακροφάγα μειώνονται περαιτέρω με την διαδικασία της απόπτωσης. Παράλληλα παρατηρείται σταδιακή μείωση έως διακοπή της νεοαγγειογένεσης, μειώνοντας έτσι τις μεταβολικές διαδικασίες στο σημείο του τραύματος. Το τελικό αποτέλεσμα είναι μία ώριμη μειωμένο αριθμό κυττάρων και αιμοφόρων αγγείων και αυξημένη αντοχή σε δυνάμεις τάσεως.[38-47]

Χρόνια τραύματα

Τα χρόνια τραύματα όπως αναφέρθηκε προηγουμένως είναι τα τραύματα που αποτυγχάνουν να ακολουθήσουν όλες τις φάσεις της επούλωσης που μόλις παρατέθηκαν, σε ένα συγκεκριμένο και αναμενόμενο χρονικό διάστημα. Στα τραύματα αυτά η φυσιολογική διαδικασία διαταράσσεται και παρατείνονται ένα ή

περισσότερα στάδια της επούλωσης. Παράγοντες που συμβάλλουν στη διαταραχή αυτή είναι μόλυνση, υποξία, νέκρωση, ακτινοβολία, φλεβική στάση, αρτηριοπάθεια, σακχαρώδης διαβήτης, εγκαύματα καθώς και υπερβολική αντίδραση του οργανισμού με υπέρμετρη παραγωγή κυτταροκινών και χημειοκινών. Το τραύμα παραμένει έτσι σε μία συνεχή κατάσταση φλεγμονής από την οποία δεν μπορεί να εξέλθει. Η επούλωση στα τραύματα αυτά λειτουργεί ασυντόνιστα.

Επιπλεγμένα τραύματα

Τα τραύματα αυτά αποτελούν μία ειδική οντότητα που περιλαμβάνουν λοίμωξη σε συνδυασμό με έλλειμα ιστού. Κάθε πληγή είναι μολυσμένη ανεξάρτητα από την αιτία, το μέγεθος, το σημείο του τραυματισμού και την διαχείριση του τραύματος. Η εκδήλωση λοίμωξης εξαρτάται από την μολυσματικότητα, τον αριθμό και το είδος των μικροοργανισμών, τις τοπικές συνθήκες παροχής αίματος και την εγγενή αντίσταση του ασθενούς. [35-39]

Επούλωση κατά πρώτο, δεύτερο και τρίτο σκοπό

Αξίζει να αναφερθεί στο σημείο αυτό η ταξινόμηση της διαδικασίας της επούλωσης βάσει της χειρουργικής ή μη προσέγγισης των χειλέων του τραύματος. Η επιτυχής επούλωση των τραυμάτων εξαρτάται από την έγκαιρη και βέλτιστη λειτουργία πολλών και ποικίλων διεργασιών, τύπων κυττάρων, μοριακών μεσολαβητών και δομικών στοιχείων. Διαφορετικά κύτταρα κυριαρχούν σε διάφορες φάσεις της

επιδιόρθωσης, και τα κυτταρικά μοτίβα ποικίλλουν ανάλογα με το διαφορετικούς τύπους τραυματισμού και την έκταση του τραυματισμού.

Έτσι λοιπόν κατά την επούλωση κατά πρώτο σκοπό, περιγράφεται η διαδικασία επούλωση ενός καθαρού τραύματος χωρίς απώλεια ιστού του οποίου τα χείλη συμπλησιάζουν με χειρουργική παρέμβαση (ράμματα). Σε περιπτώσεις απώλειας ιστού, μολυσμένων τραυμάτων και πρόθεση, η επανορθωτική διαδικασία είναι περισσότερο περίπλοκη. Θα πρέπει με την πάροδο του χρόνου να αποκατασταθούν απώλειες ιστών εάν και εφόσον το τραύμα είναι ελεύθερο μόλυνσης. Αυτή η διαδικασία περιγράφεται ως επούλωση κατά δεύτερο σκοπό. Η επούλωση κατά τρίτο σκοπό αποτελεί ένα συνδυασμό των δύο προηγούμενων κατηγοριών: τραύματα τα οποία χαρακτηρίζονται από μεγάλη έλλειψη ιστού σε συνδυασμό με λοίμωξη, αφήνονται αρχικά να επουλωθούν κατά δεύτερο σκοπό και όταν το τραύμα ωριμάσει και όντας ελεύθερο φλεγμονής, τα χείλη συμπλησιάζονται χειρουργικά [35-39]

Συγκριτικά με την επούλωση κατά πρώτο σκοπό οι δύο άλλες κατηγορίες παίρνουν πολύ μεγαλύτερο χρονικό διάστημα να ολοκληρωθούν, καθώς μεγαλύτερες ποσότητες κοκκιώδους ιστού είναι αναγκαίες για γεμίσουν το ιστικό έλλειμα.

Τοπικά αίτια, όπως οίδημα, ισχαιμία, υποξία ιστών, μόλυνση, νέκρωση, μειωμένες συγκεντρώσεις IGF 1 και GF, καθώς και συστηματικά αίτια συμπεριλαμβανομένων σακχαρώδους διαβήτη, διατροφικής κατάστασης, αιμάτωσης και συνύπαρξης άλλων ασθενειών μπορούν επηρεάσουν αρνητικά την ταχύτητα ή ακόμη και την δυνατότητα

επούλωσης του τραύματος. Παίζουν σημαντικό ρόλο στην μετατροπή ενός οξέος τραύματος σε χρόνια. [35-39]

Γ. Επίδραση του IGF-1 στη επούλωση τραύματος

Η επούλωση τραυμάτων είναι μια πολύπλοκη διαδικασία η οποία περιλαμβάνει πολλαπλές διαφορετικές φάσεις , οι οποίες πολλές φορές επικαλύπτονται. Όπως προαναφέρθηκε, ο IGF-1 είναι μια ορμόνη που παίζει σημαντικό ρόλο κατά την ανάπτυξη, και εκφράζεται σε αρκετούς ιστούς στον άνθρωπο όπου ασκεί αρκετές αναβολικές επιδράσεις . Το ήπαρ είναι η κύρια πηγή παραγωγής του κυκλοφορούντος IGF-1 , αν και τοπική έκκρισή του έχει παρατηρηθεί σε πολλούς διαφορετικούς τύπους ιστών . Πέρα από τον κεντρικό ρόλο του ως προαγωγέα της ανάπτυξης, ο IGF-1 εμπλέκεται στη φυσιολογική λειτουργία πολλών οργάνων, όπως των νεφρών, του εγκεφάλου, των σκελετικών μυών και των οστών, μεταξύ άλλων. Επιπλέον, ο IGF-1 κατέχει έναν κρίσιμο ρόλο στην επούλωση πληγών μέσω πολλαπλών μηχανισμών. Δρα ως χημειοτακτικός παράγοντας για τα ενδοθηλιακά κύτταρα, διεγείρει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των κερατινοκυττάρων και των ινοβλαστών και αυξάνει την αντοχή του τραύματος .[1-3]

Έχουν διεξαχθεί αρκετές μελέτες σε ζώα για την αξιολόγηση του ρόλου του IGF-1 στη διαδικασία επούλωσης του τραύματος, χρησιμοποιώντας τόσο τοπική όσο και συστηματική χορήγηση. Οι Lynch et al [50] κατέδειξαν αύξηση 132% στο πάχος του δέρματος και 300% αύξηση στον αριθμό των κυττάρων συνδετικού ιστού εντός της θέσης του τραύματος καθώς και στην περιεκτικότητα και την ωριμότητα κολλαγόνου, μετά την εφαρμογή ανασυνδυσμένου IGF-1 και αυξητικού παράγοντας-2 που προέρχεται από αιμοπετάλια σε τραύματα μερικού πάχους, τα οποία προκλήθηκαν χειρουργικά στην πλάτη και την θωρακική χώρα νεαρών χοίρων. Επιπλέον, οι Skottner et al [55] μελέτησαν τις αναβολικές δράσεις του IGF-1 μετά από συστηματική και τοπική χορήγηση σε μεταλλαγμένους αρουραίους. Τα αποτελέσματα της μελέτης τους έδειξαν ότι η τοπική χορήγηση του IGF-1 είχε

σημαντική θετική επίδραση στην αναγέννηση του τραύματος. Επιπλέον, μια άλλη τυχαιοποιημένη έδειξε ότι η εξάντληση του IGF-1 σε αρουραίους με έλλειψη υπόφυσης μείωσε τα επίπεδα πρωτεΐνης του τραύματος και την περιεκτικότητα σε υδροξυπρολίνη κατά 50% και ότι η έγχυση IGF-1 επέστρεψε τα επίπεδα αυτών των μεταβλητών στο φυσιολογικό .[1-3, 47-56]

Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω ευρήματα σε ζωικά μοντέλα, διεξήχθησαν περαιτέρω μελέτες σχετικά με τον βέλτιστο μέσο παροχής IGF-1 στο μικρο-περιβάλλον του τραύματος. Οι Jeschke et al [57] κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η λιποσωμική μεταφορά γονιδίου IGF-1 μπορεί να επιταχύνει την ανάπλαση του τραύματος. Επιπλέον, μια άλλη μελέτη που εξέταζε τον ρόλο της συστηματικής χορήγησης IGF-1 σε αρουραίους κατέληξε στο συμπέρασμα ότι ο IGF-1 βελτίωσε τη διαδικασία επούλωσης ιδιαίτερα στην ποσότητα του κολλαγόνου του ιστού υπό ανάπλαση.

Αρκετές άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι ο IGF-1 συμβάλλει στην επούλωση διαφόρων τύπων ιστών. Οι Lu et al [58] κατέδειξαν την ικανότητα του IGF-1 να προάγει την ανάπλαση του σκελετικού μυϊκού ιστού και οι Kluge et al του μυοκαρδίου. [59] Επιπλέον, η σημασία του IGF-1 στην αναδιαμόρφωση των αεραγωγών έχει επίσης βρεθεί σε ασθενείς με φλεγμονώδη διαταραχή του εντέρου και ο IGF-1 αποδείχθηκε ότι μειώνει την παραγωγή TNF-α και IL-1β σε τραύματα εγκαυμάτων αρουραίων.

Υπάρχουν αρκετές μελέτες που δείχνουν ότι ο IGF-1 παίζει σημαντικό ρόλο στην αναγέννηση αρκετών διαφορετικών ιστών μετά από τραυματισμό. Είναι ενδιαφέρον ότι, παρά την αυξανόμενη βιβλιογραφία που δείχνει τις επουλωτικές επιδράσεις του IGF-1 σε ζώα, υπάρχουν μόνο λίγες μελέτες που διερευνούν τα αποτελέσματά του στους ανθρώπους. Σε αυτό το πλαίσιο σκοπός της εργασίας αυτής ήταν η *in vivo* μελέτη της επίδρασης του βιορυθμιστικού συστήματος του IGF-1 και των ισομορφών του στην ανάπλαση του τραύματος στο ανθρώπινο δέρμα. [12,61-64]

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Σκοπός

Η ανάπλαση τραύματος είναι μια δυναμική, πολύπλοκη διαδικασία που περιλαμβάνει διαφορετικούς τύπους κυττάρων και μια ποικιλία βιολογικών διεργασιών, όπως ο πολλαπλασιασμός, η διαφοροποίηση και η μετανάστευση. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ αυτών των κυττάρων ξεκινούν και διαμεσολαβούνται κυρίως από αυξητικούς παράγοντες. Ένας από αυτούς τους παράγοντες είναι ο IGF-1.

Όπως αναφέρθηκε στο γενικό μέρος, ο IGF-1 είναι μια πρωτεΐνη με παρόμοια μοριακή δομή με την ινσουλίνη, η οποία έχει αποδειχθεί ότι παίζει κρίσιμο ρόλο κατά την ανάπτυξη και ασκεί αρκετές αναβολικές επιδράσεις στον άνθρωπο. Η κύρια πηγή του IGF-1 είναι το ήπαρ και η έκκριση του ρυθμίζεται από την αυξητική ορμόνη. Παράγεται επίσης από άλλα όργανα, όπως οι σκελετικοί μύες, τα νεφρά και ο εγκέφαλος. Το γονίδιο IGF-1 μπορεί να ακολουθήσει διαφορετικούς τρόπους μεταγραφής μέσω εναλλακτικού ματίσματος. Αυτό το φαινόμενο έχει ως αποτέλεσμα τρεις διαφορετικές μορφές mRNA IGF-1, συγκεκριμένα IGF-1Ea, IGF-1Eb και IGF-1Ec, που κωδικοποιούν τις ισόμορφες πρωτεΐνης IGF-1.[1-15]

Περίπου το 98% του IGF-1 συνδέεται πάντα με μία από τις έξι πρωτεΐνες δέσμησης (IGF-BP). Ο IGF-BP3 αντιπροσωπεύει το 80% του συνόλου της δέσμησης του IGF. Ο IGF-1 ασκεί τα αποτελέσματά του δεσμεύοντας σε συγκεκριμένους υποδοχείς στην κυτταρική επιφάνεια. Όπως αναφέρθηκε εκτενώς στο γενικό μέρος αυτής της διατριβής, υπάρχουν αυξανόμενα στοιχεία που δείχνουν ότι ο IGF-1 παίζει κύριο

ρόλο στην αναγέννηση διαφορετικών ιστών μετά από τραυματισμό. Αξίζει ωστόσο να σημειωθεί, παρά τον αυξανόμενο αριθμό μελετών σε ζώα, υπάρχουν λιγότερες μελέτες που διερευνούν το ρόλο του IGF-1 στη διαδικασία επούλωσης τραυμάτων στους ανθρώπους.

Στο πλαίσιο αυτό, η παρούσα μελέτη στοχεύει να αξιολογήσει τις εναλλαγές στην έκφραση των ισομορφών IGF-1 (IGF1-Ea, IGF1-Eb και IGF1-Ec), καθώς και στην πρωτεΐνη και τον υποδοχέα δέσμευσης (IGF-BP3 και IGF-1R) κατά την επούλωση του ανθρώπινου τραύματος.

Προκειμένου να καταστεί αυτό δυνατό επιλέχθηκαν ασθενείς που επρόκειτο να υποβληθούν σε ανοικτού τύπου εξαίρεση τριχοφωλεακού συριγγίου ιεροκοκκυγικής χώρας. Η επιλογή αυτή έγινε λόγω του τύπου του τραύματος στους ασθενείς αυτούς (επούλωση κατά δεύτερο σκοπό) που επέτρεπε τις διαδοχικές δειγματοληψίες για την αξιολόγηση της έκφρασης των ισομορφών IGF-1 (IGF1-Ea, IGF1-Eb και IGF1-Ec), καθώς και στην πρωτεΐνη και τον υποδοχέα δέσμευσης (IGF-BP3 και IGF-1R) κατά τις διάφορες φάσεις της επούλωσης. [1-13,65]

*Έγκριση Επιστημονικού Συμβουλίου και Επιτροπή Βιοηθικής και Δεοντολογίας
της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών*

Όλοι οι ασθενείς έδωσαν τη γραπτή συγκατάθεσή τους για συμμετοχή στη μελέτη. Η συγκατάθεση δόθηκε ύστερα από λεπτομερή επεξήγηση του πρωτοκόλλου στους ασθενείς κατά τη διάρκεια της επίσκεψης στη κλινική για τον προεγχειρητικό έλεγχο. Η κλινική φροντίδα για την αντιμετώπιση της νόσου τους δεν απείχε καθόλου από την συνηθισμένη πρακτική. Οι συμμετέχοντες είχαν αρκετό χρόνο να ρωτήσουν όποιες πιθανές απορίες. Ύστερα από συζήτηση και επιβεβαίωση από πλευράς των ασθενών ότι κατανόησαν το πρωτόκολλο πραγματοποιούνταν η γραπτή συγκατάθεση από την κύρια ερευνήτρια αυτής της διατριβής. Οι ασθενείς ήταν ενήμεροι ότι οποιαδήποτε στιγμή μπορούν να ακυρώσουν την συμμετοχή τους στη μελέτη χωρίς αυτό να έχει καμία επίπτωση στη συνήθη κλινική του φροντίδα.

Δεν προβλέφθηκε κάποια χρηματική ή άλλου είδους αποζημίωση για τους συμμετέχοντες. Οποιαδήποτε επιπλοκή ή ανεπιθύμητο αποτέλεσμα έπρεπε να καταγραφεί σε ειδικό κατάλογο με αναφορά αν η επιπλοκή αυτή είναι σχετική με την παρέμβαση της μελέτης. Σε περίπτωση σχετικής με την μελέτη επιπλοκής αυτή θα έπρεπε να αναφερθεί στην Επιτροπή Βιοηθικής και Δεοντολογίας της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών προκειμένου να επανεξεταστεί το πρωτόκολλο και οι πειραματικές διαδικασίες.

Η μελέτη διεξάχθηκε ακολουθώντας τις οδηγίες του Ελσίνκι του 1975 και εγκρίθηκε από την Επιτροπή Βιοηθικής και Δεοντολογίας της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (13-3-2017/αριθ. Πρωτοκόλλου 255).

Υλικό και Μέθοδος

Στην παρούσα μελέτη εντάχθηκαν συνολικά 21 ασθενείς, που παρουσίασαν το πρώτο επεισόδιο τριχοφωλεακού συριγγίου στην ιεροκοκκυγική χώρα , από τον Δεκέμβριο του 2017 έως τον Δεκέμβριο του 2018.

Όπως αναφέρθηκε, η ταυτοποίηση των κατάλληλων υποψηφίων για την μελέτη γινόταν κατά την διάρκεια του προεγχειρητικού ελέγχου, στα εξωτερικά ιατρεία της κλινικής ή κατά την διάρκεια της γενικής εφημερίας (τουλάχιστον μία εβδομάδα πριν το προγραμματισμένο χειρουργείο ώστε να δοθεί στους υποψηφίους ο κατάλληλος χρόνος να συγκροτήσουν μία ώριμη απόφαση για την συμμετοχή τους στη μελέτη.

Χρονοδιάγραμμα παρέμβασης:

1 ^η επίσκεψη	2 ^η επίσκεψη	3 ^η επίσκεψη	4 ^η επίσκεψη	5 ^η επίσκεψη
Ενημέρωση του ασθενούς για το πρωτόκολλο και υπογραφή της συναίνεσης για συμμετοχή στη μελέτη (μέσω των εξωτερικών ιατρείων της κλινικής ή της γενικής εφημερίας του Νοσοκομείου ή κατά την διάρκεια του προεγχειρητικού ελέγχου)	Ημέρα χειρουργείου – Χρόνος 0- Λήψη του 1 ^{ου} δείγματος διεγχειρητικά	Ημέρα αλλαγής- 2 ^η MTX ημέρα- Χρόνος 2 – Λήψη δείγματος ιστού κατά την αλλαγή του τραύματος	Ημέρα αλλαγής - 7 ^η MTX ημέρα - Χρόνος 7 - Λήψη δείγματος ιστού κατά την αλλαγή του τραύματος	Ημέρα αλλαγής - 14 ^η MTX ημέρα- Χρόνος 14 - Λήψη δείγματος ιστού κατά την αλλαγή του τραύματος

MTX: μετεγχειρητική

Κριτήρια ένταξης στη μελέτη:

- Ηλικία $> \acute{\eta} = 18$ ετών
- 1^η εμφάνιση τριχοφωλεακού συριγγίου ιεροκοκκυγικής χώρας
- Απουσία φλεγμονής (με μακροσκοπικά κριτήρια: άλγος, ερυθρότητα, οίδημα, θερμότητα)
- Σε κατάλληλη νοητική κατάσταση για χορήγηση συναίνεσης στην μελέτη
- Ικανότητα συμμόρφωσης στο πρωτόκολλο της μετεγχειρητικής παρακολούθησης.

Κριτήρια αποκλεισμού από την μελέτη:

Ηλικία < 18 ετών

Παρουσία φλεγμονής

>1 επεισοδίων τριχοφωλεακού συριγγίου ιεροκοκκυγικής χώρας

Το πρωτόκολλο περιελάμβανε δειγματοληψία των ιστών στα διάφορα στάδια επούλωσης, η οποία παραγματοποιήθηκε στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Λαϊκό (Αθήνα, Ελλάδα). Δείγματα ιστών ελήφθησαν κατά τη διάρκεια της χειρουργικής επέμβασης (χρόνος 0), καθώς και την ημέρα 2, 7 και 14 μετεγχειρητικά. Οι ημέρες δειγματοληψίας επιλέχθηκαν με βάση τις φάσεις της διαδικασίας επούλωσης, έχοντας πάντα κατά νου ότι οι διαφορετικές φάσεις επούλωσης τείνουν να αλληλεπικαλύπτονται

Ο πληθυσμός της παρούσας μελέτης επιλέχθηκε λόγω της παρουσίας ανοιχτού τραύματος και της δυνατότητας δειγματοληψίας σε διαδοχικές ημέρες. Όλοι οι ασθενείς έδωσαν τη γραπτή συγκατάθεσή τους για συμμετοχή στη μελέτη, η οποία ακολούθησε τις οδηγίες του Ελσίνκι του 1975 και εγκρίθηκε από την Επιτροπή Βιοηθικής της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (13-3-2017/αριθ. Πρωτοκόλλου 255). Μόνο ενήλικες ασθενείς συμπεριλήφθηκαν στην παρούσα μελέτη και αυτοί ήταν ασθενείς με πρώτο επεισόδιο τριχοφωλεακού συριγγίου.

Δείγματα ιστών

Το μέγεθος των δειγμάτων ήταν 0,5 cm (βάθος), αποτελούμενο από βιοψίες πλήρους πάχους του τραύματος (δέρματος και υποδόριου ιστού). Τα δείγματα βιοψίας μεταφέρθηκαν αμέσως στο Ambion RNAlater (Thermo Fisher Scientific Inc.) και κατασκευάστηκαν επί τόπου στους -80°C.

Απομόνωση RNA και σύνθεση cDNA

Αφού συλλέχθηκαν όλοι οι ιστοί, πραγματοποιήθηκε εκχύλιση RNA. Το συνολικό RNA εκχυλίστηκε από τα δείγματα ιστού χρησιμοποιώντας το πρωτόκολλο TRIidty (αντιδραστήριο TRIidty GTM, PanReac AppliChem). Σύμφωνα με αυτό το πρωτόκολλο, το συνολικό RNA ελήφθη στην υδατική φάση κατά την όξινη εκχύλιση. Μετά την απομόνωση RNA, πραγματοποιήθηκε αντίδραση αντίστροφης μεταγραφής χρησιμοποιώντας το τυπικό πρωτόκολλο του kit σύνθεσης cDNA First Strand Protoscript II [ProtoScript® II First Strand cDNA Synthesis kit (#E6560L; New England BioLabs, Inc.)].

Αντίστροφη μεταγραφή-ποσοτική αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (RT-qPCR)

Συνολικά, πέντε σετ εκκινητών (Πίνακας I) χρησιμοποιήθηκαν για την ενίσχυση πέντε διαφορετικών mRNA στόχων, IGF1-Ea, IGF1-Eb, IGF1-Ec, IGF-BP3 και IGF-1R. Το 18S ριβοσωμικό RNA (rRNA) χρησιμοποιήθηκε ως housekeeping γονίδιο (αναφοράς). Σε κάθε qPCR plate χρησιμοποιήθηκε ένα δείγμα χωρίς γενετικό υλικό ως negative control. Τα δείγματα ενισχύθηκαν χρησιμοποιώντας έναν Thermal Cycler (Bio-Rad iCycler Thermal Cycler IQ5 Multicolor Real-Time PCR Detection System; Bio-Rad Laboratories, Inc.) και κάθε αντίδραση PCR είχε συνολικό όγκο 20 μl που περιείχε 12,5 μl iQTM SYBR- Green Supermix (Bio-Rad Laboratories, Inc.), 50 ng cDNA, 0,4 μM από κάθε εκκινητή και νερό χωρίς νουκλεάση. Χρησιμοποιήθηκαν οι

ακόλουθες συνθήκες thermocycling: Αρχική μετουσίωση στους 95°C για 4 λεπτά ακολουθούμενη από 45 κύκλους των 12 δευτερολέπτων στους 95°C, 30 δευτερολέπτων στους 61°C για ανόπτηση και 30 δευτερολέπτων στους 72°C για επέκταση. Ένα τελικό βήμα επέκτασης χρησιμοποιήθηκε στους 72°C για 5 λεπτά.

Προκειμένου να ποσοτικοποιηθούν και να συγκριθούν τα επίπεδα έκφρασης κάθε γονιδίου μεταξύ των συνθηκών, χρησιμοποιήθηκε ο αυτόματα υπολογισμένος αριθμός κύκλων που απαιτούνται για να υπερβεί ο μετρούμενος φθορισμός το όριο αντίχενωσης (C_q). Η σχετική ανάλυση των δεδομένων γονιδιακής έκφρασης και ο υπολογισμός του ΔΔC_q, πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με την καθιερωμένη μέθοδο 2-ΔΔC_t, όπως περιγράφεται αλλού.[66] Κάθε δείγμα αναλύθηκε εις διπλούν και η σχετική ποσοτικοποίηση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το γονίδιο της 3-φωσφορική αφυδρογονάση της γλυκεραλδεΐδης (GAPDH) ως εσωτερικό μάρτυρα. Οι χρησιμοποιούμενοι εκκινητές παρουσιάζονται στον Πίνακα I.

Πίνακας Ι

Ακολουθίες των εκκινητών που χρησιμοποιήθηκαν στην RT-qPCR

Γονίδιο	Ακολουθία εκκινητή (5'-3')
IGF1-Ea F	GTGGAGACAGGGGCTTTTATTTTC
IGF1-Ea R	CTTGTTTCCTGCACTCCCTCTACT
IGF1-Eb F	ATGTCCTCCTCGCATCTCT
IGF1-Eb R	CCTCCTTCTGTTCCCCTC
IGF1-Ec F	CGAAGTCTCAGAGAAGGAAAGG
IGF1-Ec R	ACAGGTAACTCGTGCAAGAGC
IGF-1R F	ACCTCTTCCCCAACCTCAC
IGF-1R R	CAGGCAGGCACACAGACAC
IGF-BP3 F	AGTGAGTCGGAGGAGACCGCA
IGF-BP3 R	CCTTGGTGGTGTAGCCTGGGAGA

Συντομογραφίες: RT-qPCR, reverse transcription-quantitative PCR; IGF, insulin-like growth factor; F, forward; R, reverse.

Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το λογισμικό GraphPad Prism (GraphPad Prism έκδοση 8.0.0 για Windows, GraphPad Software, Inc., www.graphpad.com). Η στατιστική ανάλυση των σχετικών ποσοτικών δεδομένων ($\Delta\Delta Cq$) περιελάμβανε το μη παραμετρικό τεστ Kruskal-Wallis με πολλαπλές συγκρίσεις των τριών χρονικών σημείων μετά την επέμβαση (χρόνος 2,7,14) σε σύγκριση με την αρχική (ημέρα χειρουργείου) και τη μέθοδο Dunn ως post-hoc δοκιμή. Η τιμή $P < 0,05$ θεωρήθηκε ότι υποδεικνύει μια στατιστικά σημαντική διαφορά.

Αποτελέσματα

Η διάμεση ηλικία του πληθυσμού της μελέτης ήταν τα 25 έτη (εύρος, 18-33 έτη), με σχεδόν το 80% (17/21) να είναι άρρενες. Κανένας ασθενής δεν είχε λάβει κορτικοστεροειδή ή οποιοδήποτε άλλο ανοσοκατασταλτικό φάρμακο. Όλοι οι ασθενείς είχαν βαθμολογία ASA [67] (American Society of Anesthesiologists) I. Δεν συνταγογραφήθηκαν αντιβιοτικά ή άλλα φάρμακα μετεγχειρητικά εκτός από την παρακεταμόλη. Η περιποίηση του τραύματος γινόταν σε καθημερινή βάση-με μηχανικό καθαρισμό με φυσιολογικό ορό και απλές γάζες από τον ασθενή ή τα μέλη της οικογένειάς του εκτός από τις ημέρες που συμμετείχαν στο πρωτόκολλο της μελέτης (ημέρες 0,2,4,7).

Ισομορφες IGF-1 (IGF1-Ea, IGF1-Eb, IGF1-Ec)

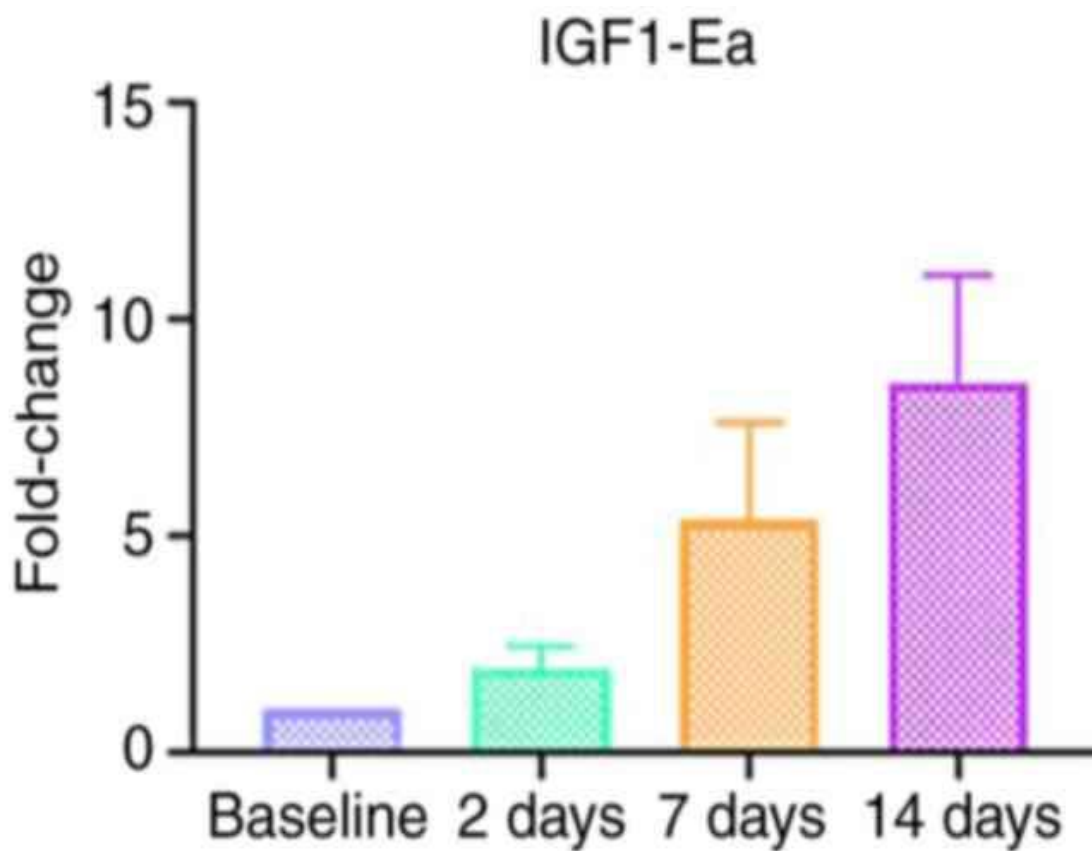
Η έκφραση των ισομορφών IGF-1 (IGF-1Ea, IGF-1Eb και IGF-1Ec) δεν μεταβλήθηκε σημαντικά κατά τη διάρκεια της διαδικασίας επούλωσης τραυμάτων στον πληθυσμό της παρούσας μελέτης. Όλες οι πληγές ήταν καθαρές και επουλώνονταν με τον αναμενόμενο τρόπο. Παρόλα αυτά, δεν παρατηρήθηκαν αξιοσημείωτες διαφορές στην έκφραση αυτών των αυξητικών παραγόντων (***Εικόνα 1,2,3***).

IGF-BP3

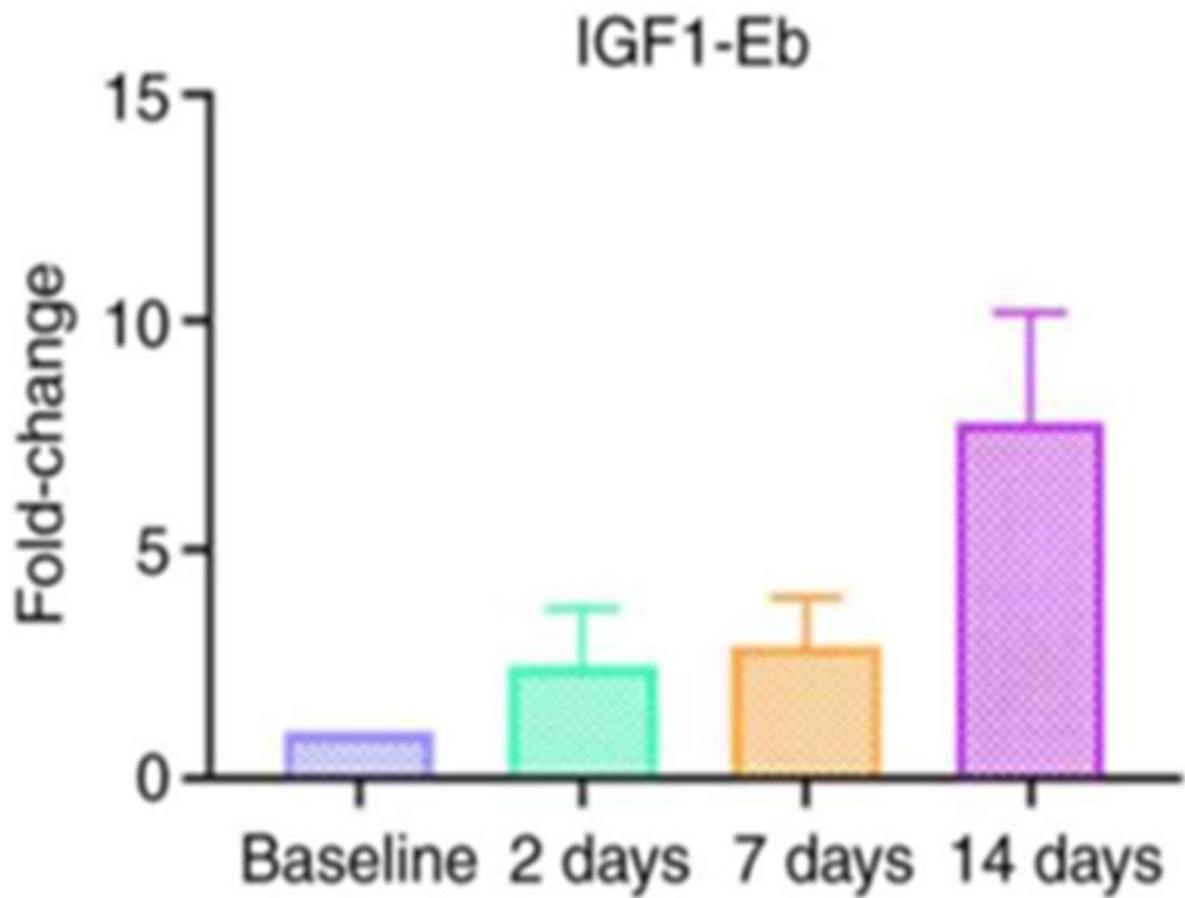
Η έκφραση του IGF-BP3 ήταν σημαντικά μειωμένη κατά τη μετεγχειρητική περίοδο ($P=0,014$) σε σύγκριση με την αρχική τιμή. Το post-hoc Dunn τεστ έδειξε ότι μειώθηκε σημαντικά την ημέρα 2 μετεγχειρητικά σε σύγκριση με την ημέρα της χειρουργικής επέμβασης (ημέρα 0) (Εικόνα 4).

IGF-1R

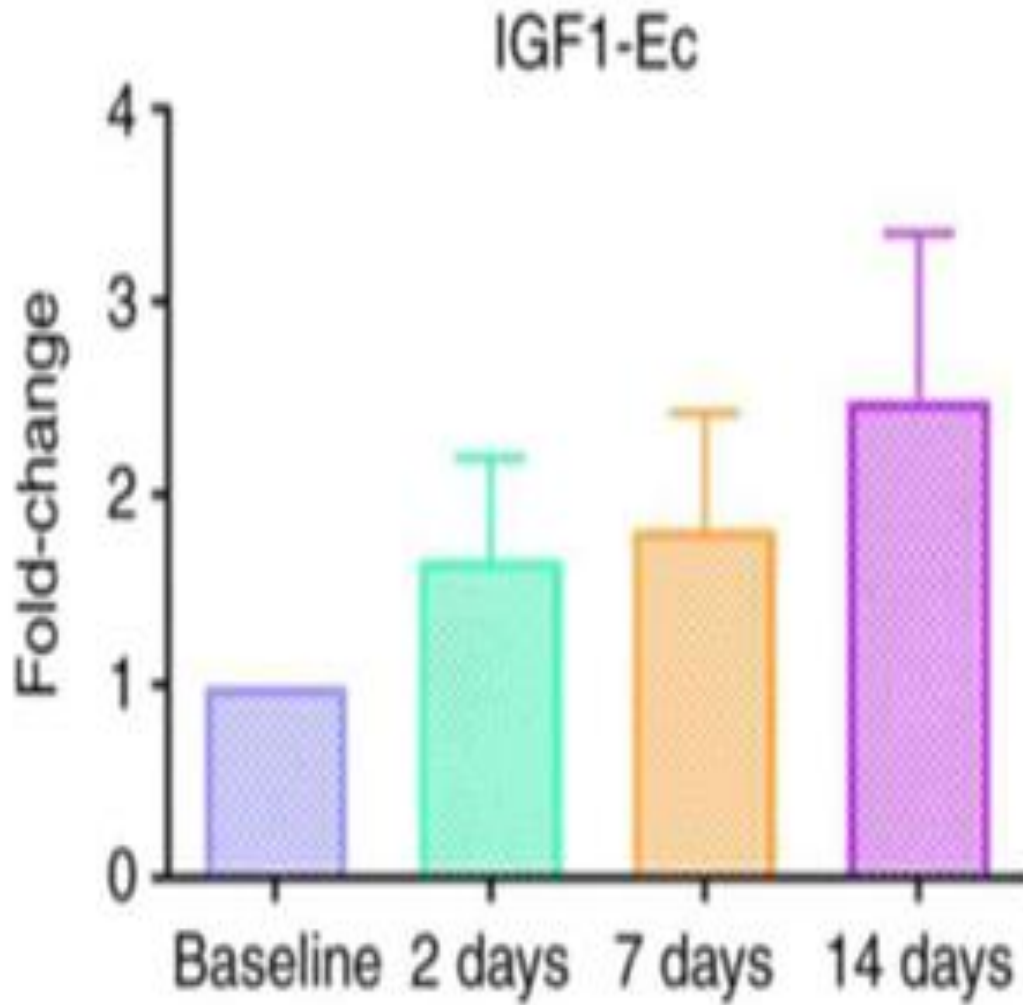
Η έκφραση του IGF-1R αυξήθηκε επίσης μετεγχειρητικά ($P=0,018$), με σημαντική αύξηση να παρατηρείται τη 14η μετεγχειρητική ημέρα σε σύγκριση με την ημέρα της επέμβασης (Εικόνα 5).



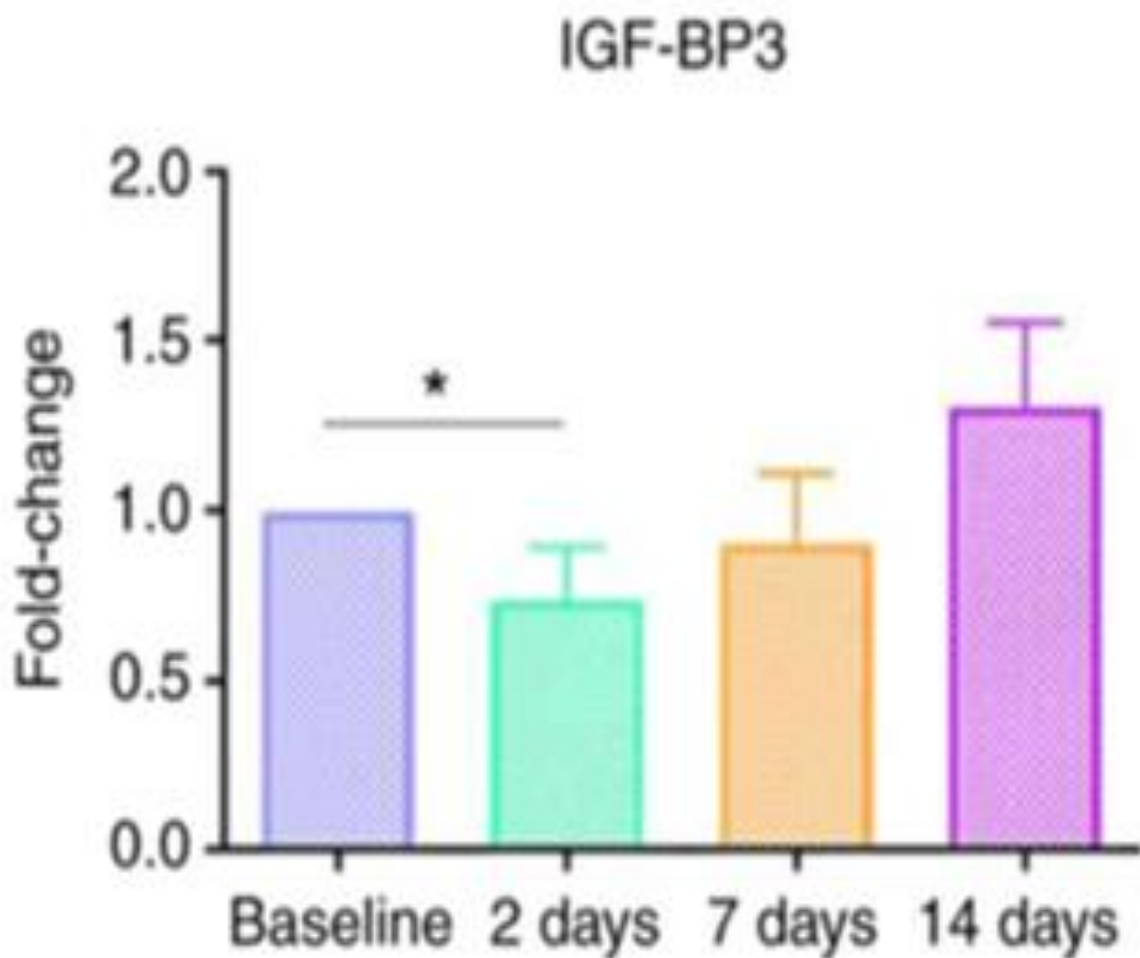
Εικόνα 1: Έκφραση των IGF1-Ea καθ' όλη τη διάρκεια της περιόδου επούλωσης 2 εβδομάδων. Όλα τα δεδομένα εκφράζονται ως πολλαπλάσιες αλλαγές σε σύγκριση με τη πρώτη μέτρηση (χρόνος 0) και αντιπροσωπεύονται ως ο μέσος όρος \pm SE (* $P < 0,05$).



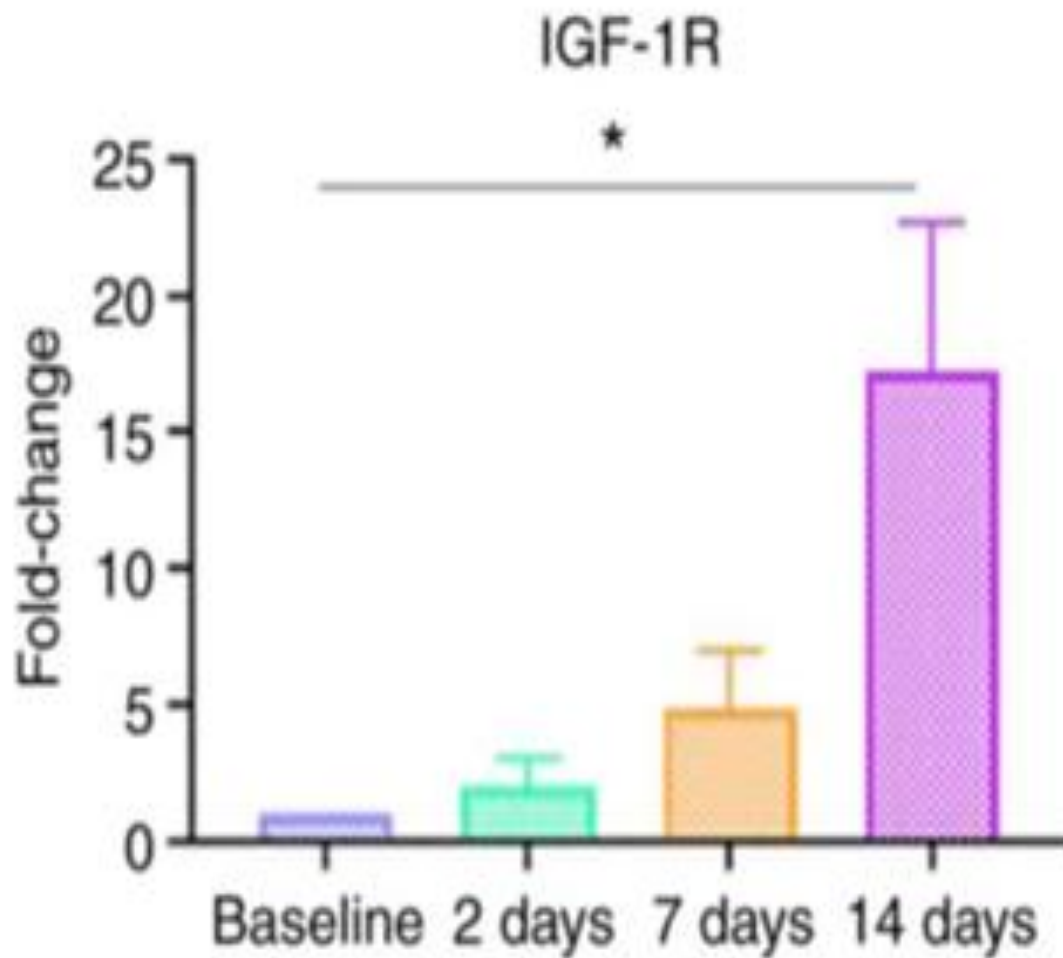
Εικόνα 2: Έκφραση IGF1-Eb, καθ' όλη τη διάρκεια της περιόδου επούλωσης 2 εβδομάδων. Όλα τα δεδομένα εκφράζονται ως πολλαπλάσιες αλλαγές σε σύγκριση με τη πρώτη μέτρηση (χρόνος 0) και αντιπροσωπεύονται ως ο μέσος όρος \pm SE



Εικόνα 3: Έκφραση IGF1-Ec, καθ' όλη τη διάρκεια της περιόδου επούλωσης 2 εβδομάδων. Όλα τα δεδομένα εκφράζονται ως πολλαπλάσιες αλλαγές σε σύγκριση με τη πρώτη μέτρηση (χρόνος 0) και αντιπροσωπεύονται ως ο μέσος όρος ± SE



Εικόνα 4: Έκφραση IGF-BP3, καθ' όλη τη διάρκεια της περιόδου επούλωσης 2 εβδομάδων. Όλα τα δεδομένα εκφράζονται ως πολλαπλάσιες αλλαγές σε σύγκριση με τη πρώτη μέτρηση (χρόνος 0) και αντιπροσωπεύονται ως ο μέσος όρος \pm SE, ($P < 0,05$).*



Εικόνα 5: Έκφραση IGF-BP3, καθ' όλη τη διάρκεια της περιόδου επούλωσης 2 εβδομάδων. Όλα τα δεδομένα εκφράζονται ως πολλαπλάσιες αλλαγές σε σύγκριση με τη πρώτη μέτρηση (χρόνος 0) και αντιπροσωπεύονται ως ο μέσος όρος \pm SE, ($P < 0,05$).*

s

Συζήτηση

Η επούλωση τραυμάτων είναι μια πολύπλοκη διαδικασία που διαδραματίζεται σε διάφορες φάσεις και περιλαμβάνει πολλούς παράγοντες. Η IGF-1 είναι μια ορμόνη που παίζει καθοριστικό ρόλο κατά την ανάπτυξη και εκφράζεται σε αρκετούς ιστούς στον άνθρωπο όπου ασκεί αναβολικές επιδράσεις. Περίπου το 98% του IGF-I δεσμεύεται σε μία από τις έξι πρωτεΐνες δέσμησης. Το IGFBP-3 αντιπροσωπεύει το 80% του συνόλου της δέσμησης του IGF. Ο IGF-I προάγει την επίδρασή του δεσμεύοντας σε συγκεκριμένους υποδοχείς στην κυτταρική επιφάνεια. [2-10]

Ο IGF-1 και οι ισομορφές του διαδραματίζουν κρίσιμους ρόλους στις διαδικασίες επούλωσης τραυμάτων. Έχουν μελετηθεί εκτενώς για τις πιθανές εφαρμογές τους στην ενίσχυση της επούλωσης των ιστών και της επούλωσης τραυμάτων. Ορισμένες βασικές εφαρμογές και διαθέσιμη έρευνα για τον IGF-1 και τις ισομορφές του στην επούλωση τραύματος είναι οι παρακάτω:

1. Διέγερση κυτταρικού πολλαπλασιασμού και μετανάστευσης: Ο IGF-1 προάγει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση διαφόρων τύπων κυττάρων που εμπλέκονται στην επούλωση του τραύματος, όπως ινοβλάστες, κερατινοκύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα. Αυτό επιταχύνει το σχηματισμό κοκκιώδους ιστού και την επανεπιθηλιοποίηση, οδηγώντας σε ταχύτερη επούλωση του τραύματος.

2. Ενίσχυση της σύνθεσης κολλαγόνου: Ο IGF-1 διεγείρει την παραγωγή κολλαγόνου, του κύριου συστατικού της εξωκυττάριας μήτρας (ECM) στα τραύματα. Η αυξημένη σύνθεση κολλαγόνου βοηθά στη βελτίωση της αντοχής του τραύματος σε εφελκυσμό και στη διευκόλυνση της σωστής αναδόμησης των ιστών.
3. Διέγερση αγγειογένεσης: Ο IGF-1 ενισχύει τον σχηματισμό νέων αιμοφόρων αγγείων εντός της κλίνης του τραύματος. Αυτό είναι απαραίτητο για την παροχή οξυγόνου και θρεπτικών συστατικών στον θεραπευτικό ιστό και την απομάκρυνση των άχρηστων προϊόντων, διευκολύνοντας έτσι τη διαδικασία επούλωσης.
4. Τροποποίηση της φλεγμονής: Ο IGF-1 έχει βρεθεί ότι ασκεί αντιφλεγμονώδη αποτελέσματα ρυθμίζοντας την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών και προάγοντας τη σύνθεση αντιφλεγμονωδών μορίων. Αυτό βοηθά στον έλεγχο της φλεγμονώδους απόκρισης, στην πρόληψη της υπερβολικής βλάβης των ιστών και στην προώθηση ενός ευνοϊκού περιβάλλοντος για την επούλωση των πληγών.
5. Επιτάχυνση της επιθηλιοποίησης: Ο IGF-1 προάγει τη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό των κερατινοκυττάρων, των κυττάρων που είναι υπεύθυνα για την επανεπιθηλιοποίηση. Αυτό οδηγεί στο σχηματισμό ενός νέου επιθηλίου πάνω από το τραύμα, διευκολύνοντας την επούλωση του τραύματος.

Η έρευνα για τις εφαρμογές του IGF-1 και των ισομορφών του στην επούλωση του τραύματος βρίσκεται σε εξέλιξη και αρκετές μελέτες έχουν δώσει πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα. Ακολουθούν μερικά παραδείγματα:

Μια μελέτη που δημοσιεύτηκε στο περιοδικό «Wound Repair and Regeneration» το 2013 διερεύνησε τις επιδράσεις του IGF-1 στα έλκη του διαβητικού ποδιού.[68] Οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι η τοπική εφαρμογή του IGF-1 βελτίωσε σημαντικά τα ποσοστά κλεισίματος του τραύματος και αύξησε την αγγειογένεση σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου.

Η επαγωγή της επούλωσης τραυμάτων από τον IGF-1 έχει αποδειχθεί σε αρκετές μελέτες σε ζώα. Μια πρόσφατα δημοσιευμένη βιβλιογραφική ανασκόπηση [65] παρείχε μια περιεκτική περίληψη όλων των διαθέσιμων στοιχείων που σχετίζονται με τις επιδράσεις της χορήγησης IGF-I στη διαδικασία ανάπλασης τραυμάτων, τόσο σε ανθρώπινους ιστούς *in vivo* όσο και σε κύτταρα *in vitro*. Υπάρχει ένας αυξανόμενος όγκος στοιχείων που δείχνουν ότι ο IGF-I παίζει σημαντικό ρόλο στην αναγέννηση αρκετών διαφορετικών ιστών μετά από τραυματισμό .[69] Είναι ενδιαφέρον ότι, παρά την αυξανόμενη βιβλιογραφία που δείχνει τις επουλωτικές επιδράσεις του IGF-I σε ζώα , υπάρχουν μόνο λίγες μελέτες που διερευνούν τα αποτελέσματά του στους ανθρώπους. Η ανασκόπηση αυτή λοιπόν συμπεριέλαβε συνολικά 11 μελέτες. Από αυτές, 2 μελέτες πραγματοποιήθηκαν σε ανθρώπους [70,71], ενώ οι υπόλοιπες πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας *in vitro* μοντέλα ανθρώπινων κυτταρικών σειρών.[72-78] Όλες οι μελέτες κατέδειξαν θετική συσχέτιση μεταξύ του IGF-I και της ανάπλασης του τραύματος. Ο IGF-I προώθησε τη μετανάστευση των

κερατινοκυττάρων, παίζοντας έτσι σημαντικό ρόλο στην επιθηλιοποίηση του τραύματος καθώς και επιτρέποντας τη συστολή του τραύματος. Επίσης διέγειρε τη σύνθεση υαλουρονών. Το αποτέλεσμα επούλωσης πληγών του IGF-I μπορεί να είναι ένα μεγάλο πλεονέκτημα στην αντιμετώπιση της επούλωσης δύσκολων πληγών. Στον πίνακα II, αναφέρονται επιγραμματικά όλες οι μελέτες της βιβλιογραφίας που αναφέρουν επιδράσεις του IGF-1 σε ανθρώπινο τραύμα.

Έχουν διεξαχθεί αρκετές μελέτες σε ζώα για την αξιολόγηση του ρόλου του IGF-1 στη διαδικασία της ανάπλασης του τραύματος, χρησιμοποιώντας τόσο τοπική όσο και συστηματική χορήγηση. Οι Lynch et al [50] μελέτησαν την εφαρμογή ανασυνδυασμένου IGF-I και αυξητικού παράγοντα-2 που προέρχεται από αιμοπετάλια σε τραύματα μερικού πάχους, τα οποία προκλήθηκαν χειρουργικά στην πλάτη και τις θωρακικές περιοχές νεαρών λευκών χοίρων του Yorkshire. Ανέφεραν αύξηση 132% στο πάχος του δέρματος και αύξηση 300% στον αριθμό των κυττάρων του συνδετικού ιστού εντός της θέσης του τραύματος καθώς και στην περιεκτικότητα και την ωριμότητα κολλαγόνου. Επιπλέον, placebo-controlled μελέτη [56] έδειξε ότι η εξάντληση του IGF-1 σε αρουραίους που είχαν υποβληθεί σε υποφυσεκτομή οδήγησε σε μείωση κατά 50% των επιπέδων πρωτεΐνης του τραύματος και της περιεκτικότητας σε υδροξυπρολίνη και ότι όταν χορηγήθηκε ο IGF-1 τα επίπεδα αυτών των μεταβλητών επέστρεψαν στα φυσιολογικά επίπεδα .

Συγγραφέας/Έτος	In vitro /in vivo	Μέθοδος	Είδος ιστού (προέλευση)	Αυξητικοί παράγοντες	Αποτελέσματα
Barreca et al, 1992 [68]	In vitro	Northern blot	Καλλιέργεια κυττάρων (ανθρώπινα κερατινοκύτταρα-βιοψία δέρματος)	IGF-I, IGF-II	Ανθρώπινοι ινοβλάστες συνθέτουν IGF πεπτιδία, ενώ τα κερατινοκύτταρα όχι. Τα IGF πεπτιδία ενεργοποιούν την αύξηση των κερατινοκυττάρων με παρακρινική τρόπο, τονίζοντας τον πιθανό ρόλο τους στην ρύθμιση των κερατινοκυττάρων, και στην επούλωση του τραύματος.
Tsuboi et al, 1992 [69]	In vitro	Sato and Rifkin	Καλλιέργεια κυττάρων (ανθρώπινα κερατινοκύτταρα-βιοψία δέρματος πόσθης νεογνών)	IGF-I, TGF-α, aFGF, bFGF, KGF	TGF-α, aFGF, bFGF, KGF and IGF-I ενεργοποιούν την μετανάστευση των κερατινοκυττάρων, ενώ ο TGF-β2 την καταστέλλει.
Kratz et al, 1994 [70]	In vitro	Εκτίμηση της επαναθηλοποίησης	Στείο ανθρώπινο δέρμα	IGF-I, IGF-II, IGFBP-1 (mastectomy specimens)	IGF-1 ενεργοποιεί την επαναθηλοποίηση τόσο μόνος όσο και παρουσία ανασυνδυασμένου IGFBP-1.
Bhora et al, 1995 [73]	In vitro	Ανοσοιστοχημία	Ολικό πάχος ανθρώπινο δέρμα (άκρωτηριασμένα κάτω άκρα)	IGF-I, FGF	Μιτογόνα
Lee et al, 1996 [72]	In vitro	Εκτίμηση της συστολής του τραύματος	Καλλιέργεια κυττάρων (ανθρώπινα κερατινοκύτταρα-βιοψία δέρματος πόσθης νεογνών)	IGF-I, IGFBP-1	Ο συνδυασμός IGF-I and IGFBP-1 ενεργοποιεί την σύσπαση του πειραματικού gel
Vogt et al, 1998 [71]	In vivo	ELISA	Μερικό πάχος ανθρώπινο δέρμα (επανορθωτική χειρουργική)	IGF-I, TGF-β2	Ενεργοποίηση της επιθηλοποίησης την 1 ^η ημέρα
Kuroda et al, 2001 [74]	In vitro	PCR	Καλλιέργεια κυττάρων (φυσιολογικό δέρμα ενήλικα)	IGF-I, FGF	Ενεργοποίηση της σύνθεσης υαλουρονικού οξέος
Wicke et al, 2002 [75]	In vivo	ELISA	Χειρουργικό τραύμα (ορθοπεδικό χειρουργείο)	IGF-I, IGF-II, IGFBP-3	Αυξημένη ηλικία → μικρότερα επίπεδα των αυξητικών παραγόντων τόσο τοπικά όσο και συστηματικά
Haase et al, 2003 [76]	In vitro	PCR	Καλλιέργεια κυττάρων (ανθρώπινα κερατινοκύτταρα-βιοψία δέρματος πόσθης νεογνών)	IGF-I	IGF-I μπορεί να επηρεάσει τα κερατινοκύτταρα με τρόπο τέτοιο που καθορίζει την ταχύτητα επαναθηλοποίησης
Hyde et al, 2004 [77]	In vitro	PCR	Καλλιέργεια κυττάρων (ανθρώπινα κερατινοκύτταρα- HaCAT-human keratinocytes)	IGF-II:VN and IGF-I: IGFBP-5:VN	Σημαντικά αυξημένη πρωτεϊνσύνθεση και μετανάστευση κυττάρων στον πληθυσμό των κερατινοκυττάρων
Lee et al, 2010 [78]	In vitro	PCR	Καλλιέργεια κυττάρων (ανθρώπινα κερατινοκύτταρα-βιοψία δέρματος πόσθης νεογνών)	GH	GH ενισχύει τον τοπικό σχηματισμό IGF-I, που ενεργοποιεί με τη σειρά του πολλαπλασιασμό των ινοβλαστών και μετανάστευση των κερατινοκυττάρων

Πίνακας II: Περίληψη όλων των διαθέσιμων ανθρώπινων μελετών πάνω στην επίδραση του IGF-1 στην επούλωση του τραύματος

aFGF, acidic fibroblast growth factor; bFGF, basic FGF; TGF, transforming growth factor; KGF, keratinocyte growth factor; HGF, hepatocyte growth factor; IGF, insulin-like growth factor; PDGF, platelet derived growth factor; IGFBP, insulin-like growth factor binding protein; GH, growth hormone; VN, vitronectin.

Δεδομένων των προαναφερθέντων ευρημάτων σε ζωικά μοντέλα, [50, 56] έχουν διεξαχθεί περαιτέρω μελέτες σχετικά με τα βέλτιστα μέσα παροχής IGF-I στο μικρο-περιβάλλον του τραύματος. Οι Jeschke et al [57] κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η ανάπλαση του τραύματος μπορεί να επιταχυνθεί με λιποσωμική μεταφορά γονιδίου IGF-1. Επιπλέον, μια άλλη μελέτη ανέφερε μια βελτιωμένη διαδικασία επούλωσης σε κολλαγόνο ιστό μετά τη συστηματική χορήγηση IGF-1 σε αρουραίους.[55]

Αρκετές άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι ο IGF-1 συμβάλλει στην ανάπλαση μιας ποικιλίας ιστών. Οι Lu et al [32] κατέδειξαν την ικανότητα του IGF-1 να προάγει την επισκευή του σκελετικού μυϊκού ιστού και οι Kluge et al τον μυοκαρδιακό ιστό. [59] Επιπλέον, η ο IGF-1 αποδείχθηκε ότι μειώνει την παραγωγή TNF- α και IL-1 β σε τραύματα εγκαυμάτων αρουραίων.[79] Οι Kim et al ανέδειξαν βελτιωμένη επούλωση τραύματος σε χοίρους με την τοποθέτηση γέλης ανασυνδυσμένου IGF-1 στην περιοχή του τραύματος [80]

Μία αρκετά ενδιαφέρουσα μελέτη από τους Lin et al [81] ανέδειξε βελτιωμένη επούλωση τραύματος σε διαβητικούς αρουραίους μετά από τοποθέτηση ειδικών επιθεμάτων εμβλαπτισμένων σε IGF-1. Σε σύγκριση με τα τραύματα που προκαλούνται από τραύμα ή έγκαυμα, τα χρόνια διαβητικά τραύματα παρουσιάζουν ελλιπή αγγειογένεση και έλλειψη βασικών αυξητικών παραγόντων όπως οι ινσουλινοειδείς αυξητικοί παράγοντες (IGF). Μια πρόιμη αναφορά έχει δείξει ότι ο IGF-1 απουσιάζει στα όρια των ελκών του διαβητικού ποδιού, γεγονός που υποδηλώνει ότι σημασία στην επούλωση χρόνιων διαβητικών πληγών.[82] Η ενεργοποίηση του υποδοχέα IGF-1 έχει ως αποτέλεσμα φωσφορυλίωση των

υποστρωμάτων των υποδοχέων ινσουλίνης και του Shc, ξεκινώντας έτσι την οδό πολλαπλασιασμού των κυττάρων. Αν και ο IGF-1 είναι μία πολλά υποσχόμενη αγωγή για τη θεραπεία της επούλωσης τραυμάτων, η αδιευκρίνιστη δοσολογία και ο μικρός χρόνος ημιζωής του (< 15 λεπτά) περιορίζει την εφαρμογή του .[83,84]

Ο ρόλος του IGF-1 στην προώθηση της επούλωσης τραυμάτων στους ανθρώπους είναι ένας τομέας ενεργούς έρευνας. Ενώ υπάρχουν στοιχεία που υποδηλώνουν ότι ο IGF-1 μπορεί να έχει ευεργετικές επιδράσεις στην επούλωση τραυμάτων σε ορισμένα πλαίσια, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι τα αποτελέσματα δεν είναι ακόμη οριστικά και απαιτείται περαιτέρω έρευνα.

Κάποιες μελέτες έχουν διερευνήσει τις επιδράσεις του IGF-1 στην επούλωση τραυμάτων σε ανθρώπους, ιδιαίτερα στο πλαίσιο των χρόνιων τραυμάτων και των ελκών του διαβητικού ποδιού

Ωστόσο, αξίζει να αναφερθεί ότι η αποτελεσματικότητα του IGF-1 στην επούλωση τραυμάτων μπορεί να εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως ο τύπος και η σοβαρότητα του τραύματος, οι υποκείμενες συνθήκες υγείας του ατόμου και η ειδική θεραπευτική προσέγγιση που χρησιμοποιείται (π.χ. τοπική εφαρμογή, συστηματική χορήγηση). Επιπλέον, η βέλτιστη δόση, η διάρκεια και η μέθοδος χορήγησης του IGF-1 για εφαρμογές επούλωσης πληγών εξακολουθούν να διερευνώνται.

Συνολικά, ενώ η προκαταρκτική έρευνα υποδηλώνει ότι ο IGF-1 μπορεί να έχει δυνατότητες στην ενίσχυση της επούλωσης τραυμάτων σε ανθρώπους, περαιτέρω μελέτες, συμπεριλαμβανομένων καλά σχεδιασμένων κλινικών δοκιμών, είναι απαραίτητες για να διαπιστωθεί η ασφάλεια, η αποτελεσματικότητα και η βέλτιστη χρήση του σε διαφορετικά σενάρια επούλωσης τραυμάτων.

Σχετικά με τη δράση του IGF-1 στην επούλωση του ανθρώπινου τραύματος, υπάρχουν περιορισμένες διαθέσιμες πληροφορίες σχετικά με την έκφραση του IGF-1 ή των διαφορετικών ισομορφών του μετά από τραύμα και επούλωση τραυμάτων. Έχουν αναφερθεί διάφορες αποκρίσεις σε μεταγραφικά επίπεδα IGF-1 μετά από άσκηση με αντίσταση. Έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία, μετά από 2,5 ώρες άσκησης με αντίσταση, ότι η ισομορφή IGF-1Ea φαίνεται να είναι σταθερή ή να μειώνεται κατά το αρχικό μέρος της ξεκούρασης (έως και 2 ημέρες μετά την άσκηση). Επιπλέον, τα επίπεδα mRNA της ισομορφής IGF-1Eb και IGF-1Ec έχει βρεθεί ότι δεν επηρεάζονται έως και 2 ημέρες μετά την άσκηση.[85,86]

Αξίζει να σημειωθεί ότι η παρούσα μελέτη έχει αρκετούς περιορισμούς. Πρώτον, δεν υπήρχε ομάδα ελέγχου και δεν επιτεύχθηκε το επιδιωκόμενο μέγεθος δείγματος (n=30). Επιπλέον, δεν υπήρχε τυποποιημένη μέθοδος εκτίμησης της διαδικασίας επούλωσης του τραύματος, η οποία περιόριζε σοβαρά τη μετάφραση των αποτελεσμάτων. Επιπλέον, δεν χρησιμοποιήθηκαν πρόσθετα πειραματικές μέθοδοι, όπως ανάλυση western blot και ανοσοϊστοχημεία.

Όλα τα παραπάνω μαρτυρούν μία πολλά υποσχόμενη πρακτική που περιλαμβάνει τη χρήση του IGF-I στην αντιμετώπιση ασθενών με μεγάλης έκτασης εγκαύματα, χρόνια διαβητικά έλκη και ασθενών με προβληματική επούλωση τραυμάτων, καθώς ο IGF-I φαίνεται ότι επηρεάζει σημαντικά θετικά της διαδικασία της επούλωσης. [87-102]

Ωστόσο, πολλά ζητήματα σχετικά με τη χορήγηση IGF-1 σε αυτούς τους ασθενείς απομένουν να διευκρινιστούν, όπως η οδός χορήγησης του ανασυνδυσμένου IGF-1, η συνιστώμενη δόση, καθώς και οι ενδείξεις για την κλινική χρήση του. Ως εκ τούτου, απαιτούνται πιο στοχευμένες κλινικές δοκιμές, εστιάζοντας στην ιατρική χρήση του ανασυνδυσμένου IGF-1 σε ασθενείς των οποίων η διαδικασία επούλωσης δεν είναι η αναμενόμενη.

Συμπερασματικά, ο IGF-1 είναι μια ορμόνη με ποικίλες αναβολικές δραστηριότητες και καθοριστικό ρόλο στην ανάπλαση του τραύματος. Η επαγόμενη από τον IGF-1 διέγερση της επούλωσης τραυμάτων έχει αποδειχθεί σε αρκετές μελέτες σε ζώα. Μια πρόσφατη συστηματική βιβλιογραφική ανασκόπηση [91] έδειξε μια δυνητικά πολλά υποσχόμενη πρακτική που ευνοεί τη χρήση του IGF-I στην αντιμετώπιση ασθενών με μεγάλης έκτασης εγκαύματα, χρόνια διαβητικά έλκη και ασθενείς με διαταραχή στην επούλωση τραυμάτων. Η μελέτη των παραλλαγών της έκφρασης του IGF-1 μπορεί να βοηθήσει στη διαδικασία επούλωσης του τραύματος ανιχνεύοντας την αποκλειστικά υπεύθυνη δεσμευτική πρωτεΐνη και υποδοχέα στην κυτταρική επιφάνεια, με αποτέλεσμα περισσότερες στοχευμένες θεραπείες στο μέλλον. [91] Επομένως, είναι απαραίτητες περαιτέρω στοχευμένες κλινικές δοκιμές, με επίκεντρο την ιατρική χρήση του ανασυνδυσμένου IGF-1 σε ασθενείς των οποίων η διαδικασία επούλωσης είναι αναποτελεσματική.

Συμπεράσματα

Η μελέτη των παραλλαγών της έκφρασης του IGF-1 μπορεί να βοηθήσει στη διαδικασία επούλωσης του τραύματος ανιχνεύοντας την αποκλειστικά υπεύθυνη δεσμευτική πρωτεΐνη και υποδοχέα στην κυτταρική επιφάνεια, με αποτέλεσμα περισσότερες στοχευμένες θεραπείες στο μέλλον. Επομένως, είναι απαραίτητες περαιτέρω στοχευμένες κλινικές δοκιμές, με επίκεντρο την ιατρική χρήση του ανασυνδυασμένου IGF-1 σε ασθενείς των οποίων η διαδικασία επούλωσης είναι αναποτελεσματική.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Rinderknecht E, Humbel RE. The amino acid sequence of human insulin-like growth factor I and its structural homology with proinsulin. *J Biol Chem.* 1978; 253:2769–2776.
2. Jansen M, van Schaik FM, Ricker AT, Bullock B, Woods DE, Gabbay KH, Nussbaum AL, Sussenbach JS, Van den Brande JL. Sequence of cDNA encoding human insulin-like growth factor I precursor. *Nature.* 1983; 306:609–611.
3. Philippou A, Maridaki M, Pneumaticos S, Koutsilieris M. The complexity of the IGF1 gene splicing, posttranslational modification and bioactivity. *Mol Med.* 2014; 20:202–214.
4. Liu JP, Baker J, Perkins AS, Robertson EJ, Efstratiadis A. Mice carrying null mutations of the genes encoding insulin-like growth factor I (Igf-1) and type 1 IGF receptor (Igf1r) *Cell.* 1993; 75:59–72.
5. Laviola L, Natalicchio A, Giorgino F. The IGF-I signaling pathway. *Curr Pharm Des.* 2007; 13:663–9.
6. Siddle K, et al. Specificity in ligand binding and intracellular signalling by insulin and insulin-like growth factor receptors. *Biochem Soc Trans.* 2001; 29:513–25.
7. Lund PK. Insulin-like growth factor I: molecular biology and relevance to tissue-specific expression and action. *Recent Prog Horm Res.* 1994; 49:125–48
8. Woelfle J, Chia DJ, Rotwein P. Mechanisms of growth hormone (GH) action. Identification of conserved Stat5 binding sites that mediate GH-induced insulin-like growth factor-I gene activation. *J Biol Chem.* 2003; 278:51261–6.
9. Chia DJ, Young JJ, Mertens AR, Rotwein P. Distinct alterations in chromatin organization of the two IGF-I promoters precede growth hormone-induced activation of IGF-I gene transcription. *Mol Endocrinol.* 2010; 24:779–89.

10. Taguchi A, White MF. Insulin-like signaling, nutrient homeostasis, and life span. *Annu Rev Physiol.* 2008; 70:191–212.
11. Gilmour RS. The implications of insulin-like growth factor mRNA heterogeneity. *J Endocrinol.* 1994; 140:1–3.
12. Fletcher PA, Smiljanic K, Maso Previde R, Iben JR, Li T, Rokic MB, et al. Cell type- and sex-dependent transcriptome profiles of rat anterior pituitary cells. *Front Endocrinol.* 2019; 10:623.
13. Hymer WC, Mc SW. Isolation of rat pituitary granules and the study of their biochemical properties and hormonal activities. *J Cell Biol.* 1963; 17:67–86.
14. Dannies P. Manipulating the reversible aggregation of protein hormones in secretory granules: potential impact on biopharmaceutical development. *BioDrugs.* 2003; 17:315–24.
15. Farrington M, Hymer WC. Growth hormone aggregates in the rat adenohypophysis. *Endocrinology.* 1990; 126:1630–8.
16. Al-Samerria S, Radovick S. The Role of Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1) in the Control of Neuroendocrine Regulation of Growth. *Cells.* 2021;10(10):2664.
17. Hanwright PJ, Qiu C, Rath J, Zhou Y, von Guionneau N, Sarhane KA, Harris TGW, Howard GP, Malapati H, Lan MJ, Reddy S, Hoke A, Mao HQ, Tuffaha SH. Sustained IGF-1 delivery ameliorates effects of chronic denervation and improves functional recovery after peripheral nerve injury and repair. *Biomaterials.* 2022 ; 280:121244.
18. Jones JI, Clemmons DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocr Rev.* 1995; 16:3–34.
19. Kraemer WJ, Ratamess NA, Hymer WC, Nindl BC, Fragala MS. Growth Hormone(s), Testosterone, Insulin-Like Growth Factors, and Cortisol: Roles and

- Integration for Cellular Development and Growth With Exercise. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020; 11:33.
20. Kraemer WJ, Ratamess NA, Nindl BC. Recovery responses of testosterone, growth hormone, and IGF-1 after resistance exercise. *J Appl Physiol* (1985). 2017 ;122(3):549-558
21. Feng L, Li B, Xi Y, Cai M, Tian Z. Aerobic exercise and resistance exercise alleviate skeletal muscle atrophy through IGF-1/IGF-1R-PI3K/Akt pathway in mice with myocardial infarction. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2022; 322(2):C164-C176.
22. Kraemer WJ, Nindl BC, Marx JO, Gotshalk LA, Bush JA, Welsch JR, et al.. Chronic resistance training in women potentiates growth hormone in vivo bioactivity: characterization of molecular mass variants. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. (2006) 291:E1177–87.
23. Kraemer WJ, Kennett MJ, Mastro AM, McCarter RJ, Rogers CJ, DuPont WH, et al.. Bioactive growth hormone in older men and women: it's relationship to immune markers and healthspan. *Growth Horm IGF Res*. 2017; 34:45–54.
24. Kappeler, L.; De Magalhaes Filho, C.; Dupont, J.; Leneuve, P.; Cervera, P.; Périn, L.; Loudes, C.; Blaise, A.; Klein, R.; Epelbaum, J.; et al. Brain IGF-1 receptors control mammalian growth and lifespan through a neuroendocrine mechanism. *Plos Biol* 2008; 6, e254.
25. Clemmons, D.R. Metabolic actions of insulin-like growth factor-I in normal physiology and diabetes. *Endocrinol Metab Clin. North.Am*. 2012; 41, 425.
26. Clemmons, D.R. Role of insulin-like growth factor in maintaining normal glucose homeostasis. *Horm Res*. 2004; 62 Suppl 1, 77–82.

27. Bondy, C.; Werner, H.; Roberts, C.T.; LeRoith, D. Cellular pattern of type-I insulin-like growth factor receptor gene expression during maturation of the rat brain: Comparison with insulin-like growth factors I and II. *Neuroscience* 1992, 46, 909–923.
28. Eppler, E.; Jevdjovic, T.; Maake, C.; Reinecke, M. Insulin-like growth factor I (IGF-I) and its receptor (IGF-1R) in the rat anterior pituitary. *Eur. J. Neurosci.* 2007; 25, 191–200.
29. Kim, S.-H.; Park, M.-J. Effects of growth hormone on glucose metabolism and insulin resistance in human. *Ann. Pediatr EndocrinolMetab* 2017; 22, 145–152.
30. Huang, Z.; Huang, L.; Waters, M.J.; Chen, C. Insulin and Growth Hormone Balance: Implications for Obesity. *Trends Endocrinol. Metab.* 2020; 31, 642–654.
31. Kato, Y.; Murakami, Y.; Sohmiya, M.; Nishiki, M. Regulation of human growth hormone secretion and its disorders. *Intern. Med.* 2002; 41, 7–13.
32. Lu, M.; Flanagan, J.U.; Langley, R.J.; Hay, M.P.; Perry, J.K. Targeting growth hormone function: Strategies and therapeutic applications. *Signal. Transduct Target.* 2019; 4, 3.
33. Poudel, S.B.; Dixit, M.; Neginskaya, M.; Nagaraj, K.; Pavlov, E.; Werner, H.; Yakar, S. Effects of GH/IGF on the Aging Mitochondria. *Cells* 2020; 9, 1384.
34. van der Lely AJ, Hutson RK, Trainer PJ, Besser GM, Barkan AL, Katznelson L, Klibanski A, Herman-Bonert V, Melmed S, Vance ML, Freda PU, Stewart PM, Friend KE, Clemmons DR, Johannsson G, Stavrou S, Cook DM, Phillips LS, Strasburger CJ, Hackett S, Zib KA, Davis RJ, Scarlett JA, Thorner MO. Long-term treatment of acromegaly with pegvisomant, a growth hormone receptor antagonist. *Lancet.* 2001; 358(9295):1754-9.

35. Wang PH, Huang BS, Horng HC, Yeh CC, Chen YJ. Wound healing. *J Chin Med Assoc.* 2018; 81(2):94-101.
36. Gauglitz, G.G., Korting, H.C., Pavicic, T. et al. Hypertrophic Scarring and Keloids: Pathomechanisms and Current and Emerging Treatment Strategies. *Mol Med*, 2011; 17, 113–125.
37. Takahiro Shimizu, Kenjiro Tanaka, Kumiko Nakamura, Keisuke Taniuchi, Toshio Yawata, Youichirou Higashi, Tetsuya Ueba, Fotios Dimitriadis, Shogo Shimizu, Kunihiro Yokotani, Motoaki Saito, Possible involvement of brain prostaglandin E2 and prostanoid EP3 receptors in prostaglandin E2 glycerol ester-induced activation of central sympathetic outflow in the rat, *Neuropharmacology*, 2014; Volume 82, Pages 19-27, ISSN 0028-3908
38. Ashcroft KJ, Syed F, Bayat A, Site-Specific Keloid Fibroblasts Alter the Behaviour of Normal Skin and Normal Scar Fibroblasts through Paracrine Signalling. *PLOS ONE*, 2013; 8(12): e75600.
39. Darby IA, Weller CD. Aspirin treatment for chronic wounds: Potential beneficial and inhibitory effects. *Wound Repair Regen.* 2017 ;25(1):7-12.
40. Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev.* 2003 Jul;83(3):835-70.
41. Gantwerker EA, Hom DB. Skin: histology and physiology of wound healing. *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2011;19(3):441-53.
42. Martin RF. Wound Healing. *Surg Clin North Am.* 2020;100(4):ix-xi.
43. Hassanshahi A, Hassanshahi M, Khabbazi S, Hosseini-Khah Z, Peymanfar Y, Ghalamkari S, Su YW, Xian CJ. Adipose-derived stem cells for wound healing. *J Cell Physiol.* 2019;234(6):7903-7914.

44. Martin P, Nunan R. Cellular and molecular mechanisms of repair in acute and chronic wound healing. *Br J Dermatol.* 2015;173(2):370-8.
45. Xiaojie W, Banda J, Qi H, Chang AK, Bwalya C, Chao L, Li X. Scarless wound healing: Current insights from the perspectives of TGF- β , KGF-1, and KGF-2. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2022; 66:26-37
46. Scopelliti F, Cattani C, Dimartino V, Mirisola C, Cavani A. Platelet Derivatives and the Immunomodulation of Wound Healing. *Int J Mol Sci.* 2022 ;23(15):8370.
47. Adib Y, Bensussan A, Michel L. Cutaneous Wound Healing: A Review about Innate Immune Response and Current Therapeutic Applications. *Mediators Inflamm.* 2022 ; 2022:5344085.
48. Clark RAF. Cutaneous tissue repair: Basic biologic considerations. I. *J Am Acad Dermatol.* 1985; 13:701–725.
49. Ksander GA. Exogenous growth factors in der mal wound healing. *Annu Rep Med Chem.* 1989; 24:223–232.
50. Lynch SE, Colvin RB, Antoniades HN. Growth factors in wound healing. Single and synergistic effects on partial thickness porcine skin wounds. *J Clin Invest.* 1989; 84:640–646.
51. Wahl SM, Wong H, McCartney-Francis N. Role of growth factors in inflammation and repair. *J Cell Biochem.* 1989; 40:193–199
52. Karalaki M, Fili S, Philippou A, Koutsilieris M. Muscle regeneration: Cellular and molecular events. *In Vivo.* 2009; 23:779–796
53. Stavropoulou A, Halapas A, Sourla A, Philippou A, Papageorgiou E, Papalois A, Koutsilieris M. IGF-1 expression in infarcted myocardium and MGF E peptide actions in rat cardiomyocytes in vitro. *Mol Med.* 2009; 15:127–135.

54. Philippou A, Papageorgiou E, Bogdanis G, Halapas A, Sourla A, Maridaki M, Pissimissis N, Koutsilieris M. Expression of IGF-1 isoforms after exercise-induced muscle damage in humans: Characterization of the MGF E peptide actions in vitro. *In Vivo*. 2009; 23:567–575.
55. Skottner A, Arrhenius-Nyberg V, Kanje M, Fryklund L. Anabolic and tissue repair functions of recombinant insulin-like growth factor I. *Acta Paediatr Scand Suppl*. 1990; 367:63–66.
56. Mueller RV, Hunt TK, Tokunaga A, Spencer EM. The effect of insulinlike growth factor I on wound healing variables and macrophages in rats. *Arch Surg*. 1994; 129:262–265
57. Jeschke MG, Schubert T, Krickhahn M, Polykandriotis E, Klein D, Perez-Polo JR, Przkora R, Herndon DN. Interaction of exogenous liposomal insulin-like growth factor-I cDNA gene transfer with growth factors on collagen expression in acute wounds. *Wound Repair Regen*. 2005; 13:269–277
58. Lu H, Huang D, Saederup N, Charo IF, Ransohoff RM, Zhou L. Macrophages recruited via CCR2 produce insulin-like growth factor-1 to repair acute skeletal muscle injury. *FASEB J*. 2011; 25:358–369.
59. Kluge A, Zimmermann R, Munkel B, Mohri M, Sack S, Schaper J, Schaper W. Insulin-like growth factor I is involved in inflammation linked angiogenic processes after microembolisation in porcine heart. *Cardiovasc Res*. 1995; 29:407–415
60. Yamashita N, Tashimo H, Ishida H, Matsuo Y, Arai H, Nagase H, Adachi T, Ohta K. Role of insulin-like growth factor-I in allergen-induced airway inflammation and remodeling. *Cell Immunol*. 2005; 235:85–91.

61. Chen QQ, Wang WM. Expression of FGF-2 and IGF-1 in diabetic rats with fracture. *Asian Pac J Trop Med.* 2014;7(1):71-5.
62. Semenova E, Koegel H, Hasse S, Klatt JE, Slonimsky E, Bilbao D, Paus R, Werner S, Rosenthal N. Overexpression of mIGF-1 in keratinocytes improves wound healing and accelerates hair follicle formation and cycling in mice. *Am J Pathol.* 2008;173(5):1295-310.
63. Wang XQ, Lee S, Wilson H, Seeger M, Iordanov H, Gatla N, Whittington A, Bach D, Lu JY, Paller AS. Ganglioside GM3 depletion reverses impaired wound healing in diabetic mice by activating IGF-1 and insulin receptors. *J Invest Dermatol.* 2014;134(5):1446-1455
64. Liu B, Liu Y, Wang L, Hou C, An M. The effects of pressure intervention on wound healing and scar formation in a Bama minipig model. *Burns.* 2019; 45(2):413-422.
65. Garoufalia Z, Papadopetraki A, Karatza E, Vardakostas D, Philippou A, Kouraklis G, Mantas D. Insulin-like growth factor-I and wound healing, a potential answer to non-healing wounds: A systematic review of the literature and future perspectives. *Biomed Rep.* 2021;15(2):66.
66. Livak KJ and Schmittgen TD: Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻(Delta Delta C(T)) method. *Methods.*2001; 25:402–408
67. American Society of Anesthesiologists (ASA): ASA Physical Status Classification System. ASA, Washington, DC, 2020. <https://www.asahq.org/standards-and-guidelines/asa-physical-status-classification-system>. Accessed March 15, 2023.

68. Cianfarani F, Toietta G, Di Rocco G, Cesareo E, Zambruno G, Odorisio T.
Diabetes impairs adipose tissue-derived stem cell function and efficiency in promoting wound healing. *Wound Repair Regen.* 2013 Jul-Aug;21(4):545-53.
69. Barreca A, Voci A, Minuto F, de Marchis M, Cecchelli E, Fugassa E, Giordano G, Gallo G. Effect of epidermal growth factor on insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding protein synthesis by adult rat hepatocytes. *Mol Cell Endocrinol.* 1992; 84:119–126.
70. Tsuboi R, Sato C, Shi CM, Ogawa H. Stimulation of keratinocyte migration by growth factors. *J Dermatol.* 1992; 19:652–653.
71. Kratz G, Lake M, Gidlund M. Insulin like growth factor-1 and -2 and their role in the re-epithelialisation of wounds; interactions with insulin like growth factor binding protein type 1. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg.* 1994; 28:107–112.
72. Vogt PM, Lehnhardt M, Wagner D, Jansen V, Krieg M, Steinau HU.
Determination of endogenous growth factors in human wound fluid: Temporal presence and profiles of secretion. *Plast Reconstr Surg.* 1998; 102:117–123.
73. Lee YR, Oshita Y, Tsuboi R, Ogawa H. Combination of insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding protein-1 promotes fibroblast-embedded collagen gel contraction. *Endocrinology.* 1996; 137:5278–5283.
74. Bhora FY, Dunkin BJ, Batzri S, Aly HM, Bass BL, Sidawy AN, Harmon JW.
Effect of growth factors on cell proliferation and epithelialization in human skin. *J Surg Res.* 1995; 59:236–244.
75. Kuroda K, Utani A, Hamasaki Y, Shinkai H. Up-regulation of putative hyaluronan synthase mRNA by basic fibroblast growth factor and insulin-like growth factor-1 in human skin fibroblasts. *J Dermatol Sci.* 2001; 26:156–160.

76. Wicke C, Wagner S, Trabold O, Müller J, Hunt TK, Ranke MB, Becker HD, Elmlinger MW. Age-dependency of insulin-like growth factors, insulin-like growth factor-binding proteins, and acid labile subunit in plasma and wounds of surgical patients. *Wound Repair Regen.* 2002; 10:360–365.
77. Haase I, Evans R, Pofahl R, Watt FM. Regulation of keratinocyte shape, migration and wound epithelialization by IGF-1- and EGF-dependent signalling pathways. *J Cell Sci.* 2003; 116:3227–3238.
78. Hyde C, Hollier B, Anderson A, Harkin D, Upton Z. Insulin-like growth factors (IGF) and IGF-binding proteins bound to vitronectin enhance keratinocyte protein synthesis and migration. *J Invest Dermatol.* 2004; 122:1198–1206.
79. Lee SW, Kim SH, Kim JY, Lee Y. The effect of growth hormone on fibroblast proliferation and keratinocyte migration. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2010; 63: e364–e369
80. Kim SH, Heo EJ, Lee SW. The effect of topically applied recombinant human growth hormone on wound healing in pigs. *Wounds.* 2009 ;21(6):158-63
81. Spies M, Nestic O, Barrow RE, Perez-Polo JR, Herndon DN. Liposomal IGF-1 gene transfer modulates pro- and anti-inflammatory cytokine mRNA expression in the burn wound. *Gene Ther.* 2001; 8:1409–1415.
82. Lin, M.-J.; Lu, M.-C.; Chang, H.-Y. Sustained Release of Insulin-Like Growth Factor-1 from Bombyx mori L. Silk Fibroin Delivery for Diabetic Wound Therapy. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 6267.
83. Haase, I.; Evans, R.; Pofahl, R.; Watt, F.M. Regulation of keratinocyte shape, migration and wound epithelialization by IGF-1- and EGF-dependent signalling pathways. *J. Cell Sci.* 2003, 116 Pt 15, 3227–3238.

84. Lin, S.; Zhang, Q.; Shao, X.; Zhang, T.; Xue, C.; Shi, S.; Zhao, D.; Lin, Y. IGF-1 promotes angiogenesis in endothelial cells/adipose-derived stem cells co-culture system with activation of PI3K/Akt signal pathway. *Cell Prolif.* 2017, 50, e12390.
85. Demling, R.H. The role of anabolic hormones for wound healing in catabolic states. *J. Burn. Wounds* 2005, 4, 47–62.
86. Hameed M, Orrell RW, Cobbold M, Goldspink G and Harridge SD: Expression of IGF-I splice variants in young and old human skeletal muscle after high resistance exercise. *J Physiol.*2003; 547:247–254.
87. Psilander N, Damsgaard R and Pilegaard H: Resistance exercise alters MRF and IGF-I mRNA content in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* (1985), 2003; 95:1038–1044.
88. Karalaki M, Fili S, Philippou A and Koutsilieris M: Muscle regeneration: Cellular and molecular events. *In Vivo*, 2009; 23: 779-796
89. Philippou A, Papageorgiou E, Bogdanis G, Halapas A, Sourla A, Maridaki M, Pissimissis N and Koutsilieris M: Expression of IGF-1 isoforms after exercise-induced muscle damage in humans: Characterization of the MGF E peptide actions in vitro. *In Vivo* ,2009, 23: 567-575
90. Philippou A, Halapas A, Maridaki M and Koutsilieris M: Type I insulin-like growth factor receptor signaling in skeletal muscle regeneration and hypertrophy. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2007, 7: 208-218
91. Roberts RE, Cavalcante-Silva J, Del Rio-Moreno M, Bilgen O, Kineman RD, Koh TJ. Liver insulin-like growth factor-1 mediates effects of low-intensity vibration on wound healing in diabetic mice. *J Pathol.* 2023;260(1):97-107.

92. Gong F, Zhao F, Cheng SL, Ding D, Zhang BW, Li XL, Huang YL. Effect of insulin-like growth factor-1 on promoting healing of skin ulcers in diabetic rats. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2019 May-Jun;33(3):687-694. PMID: 31162036.
93. Xiao Y. MiR-486-5p inhibits the hyperproliferation and production of collagen in hypertrophic scar fibroblasts via IGF1/PI3K/AKT pathway. *J Dermatolog Treat*. 2021 ;32(8):973-982.
94. Li Y, Zhang J, Zhou Q, Wang H, Xie S, Yang X, Ji P, Zhang W, He T, Liu Y, Wang K, Li X, Shi J, Hu D. Linagliptin inhibits high glucose-induced transdifferentiation of hypertrophic scar-derived fibroblasts to myofibroblasts via IGF/Akt/mTOR signalling pathway. *Exp Dermatol*. 2019;28(1):19-27.
95. Miescher I, Rieber J, Calcagni M, Buschmann J. In Vitro and In Vivo Effects of IGF-1 Delivery Strategies on Tendon Healing: A Review. *Int J Mol Sci*. 2023; 24(3):2370.
96. Li Q, Cui J, Huang H, Yue Z, Chang Y, Li N, Han Z, Han ZC, Guo Z, Li Z. IGF-1C domain-modified chitosan hydrogel accelerates cutaneous wound healing by promoting angiogenesis. *Future Med Chem*. 2020;12(13):1239-1251
97. Stuard WL, Titone R, Robertson DM. The IGF/Insulin-IGFBP Axis in Corneal Development, Wound Healing, and Disease. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020 Mar 3;11:24.
98. Yamane T, Shimura M, Konno R, Iwatsuki K, Oishi Y. Wound fluid of rats fed protein-free diets delays wound healing through the suppression of the IGF-1/ERK(1/2) signaling pathway. *Mol Cell Biochem*. 2019 ;452(1-2):177-185.
99. Park J, Yan G, Kwon KC, Liu M, Gonnella PA, Yang S, Daniell H. Oral delivery of novel human IGF-1 bioencapsulated in lettuce cells promotes musculoskeletal

- cell proliferation, differentiation and diabetic fracture healing. *Biomaterials*. 2020 Mar;233:119591.
100. Roberts RE, Cavalcante-Silva J, Kineman RD, Koh TJ. Liver is a primary source of insulin-like growth factor-1 in skin wound healing. *J Endocrinol*. 2021 Nov 24;252(1):59-70.
101. Aghdam SY, Eming SA, Willenborg S, Neuhaus B, Niessen CM, Partridge L, Krieg T, Bruning JC. Vascular endothelial insulin/IGF-1 signaling controls skin wound vascularization. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012 ;421(2):197-202.
102. Baszanowska W, Misiura M, Oscilowska I, Palka J, Milyk W. Extracellular Prolidase (PEPD) Induces Anabolic Processes through EGFR, β 1-integrin, and IGF-1R Signaling Pathways in an Experimental Model of Wounded Fibroblasts. *Int J Mol Sci*. 2021 ;22(2):942
103. Garoufalia Z, Papadopetraki A, Vardakostas D, Karatza E, Philippou A, Tsourouflis G, Kouraklis G and Mantas D: Alterations in the expression of IGF-I isoforms and binding proteins during the wound healing process. *World Acad Sci J*, 2022; 4: 13

Περίληψη

Σκοπός :

Η ανάπλαση τραύματος είναι μια δυναμική, πολύπλοκη διαδικασία που περιλαμβάνει διαφορετικούς τύπους κυττάρων και μια ποικιλία βιολογικών διεργασιών. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ αυτών των κυττάρων διαμεσολαβούνται κυρίως από αυξητικούς παράγοντες, όπως ο IGF-1. Το γονίδιο IGF-1 μπορεί να ακολουθήσει διαφορετικούς τρόπους μεταγραφής οδηγώντας σε 3 διαφορετικά mRNA, που κωδικοποιούν τις ισόμορφες πρωτεΐνης IGF-1. Στο πλαίσιο αυτό, η παρούσα μελέτη στοχεύει να αξιολογήσει τις εναλλαγές στην έκφραση των ισομορφών IGF-1 (IGF1-Ea, IGF1-Eb και IGF1-Ec), καθώς και στην πρωτεΐνη και τον υποδοχέα δέσμευσης (IGF-BP3 και IGF-1R) κατά την επούλωση του ανθρώπινου τραύματος.

Υλικό – Μέθοδος :

Στην παρούσα μελέτη εντάχθηκαν συνολικά 21 ασθενείς, που παρουσίασαν το πρώτο επεισόδιο τριχοφωλεακού συριγγίου στην ιεροκοκκυγική χώρα, από τον Δεκέμβριο του 2017 έως τον Δεκέμβριο του 2018. Δείγματα ελήφθησαν κατά τη διάρκεια της επέμβασης, καθώς και τις ημέρες 2, 7 και 14 μετεγχειρητικά. Τα επίπεδα των ισομορφών IGF-1, του IGF-BP3 και του IGF-1R αξιολογήθηκαν χρησιμοποιώντας αντίστροφη μεταγραφή-ποσοτική αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (RT-qPCR). Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το λογισμικό GraphPad Prism.

Αποτελέσματα :

Υπήρξε μία σημαντική διαφορά στη έκφραση των IGF-BP3 και IGF-1R κατά την διάρκεια επούλωσης του τραύματος ($P=0.014$ και $P=0.018$, αντιστοίχως). Το post-hoc Dunn test ανέδειξε ότι η έκφραση του IGF-BP3 μειώθηκε σημαντικά την 2^η μετεγχειρητική ημέρα σε σύγκριση με την ημέρα του χειρουργείου και η έκφραση IGF-1R εμφάνισε στατικά σημαντική αύξηση 14 ημέρες μετεγχειρητικά. Οι υπόλοιπες ισομορφές του IGF-I δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά κατά την διάρκεια της επούλωσης του τραύματος.

Συμπέρασμα :

Η έκφραση των IGF-BP3 και IGF-1R φαίνεται να παίζει καθοριστικό ρόλο κατά τη διαδικασία επούλωσης των τραυμάτων στον άνθρωπο, ιδιαίτερα σε ασθενείς με μεγάλα ανοιχτά τραύματα που προκύπτουν από την ανοικτή μέθοδο αντιμετώπισης τριχοφωλεακού συριγγίου ιεροκοκκυγικής χώρας. Περαιτέρω μελέτες είναι απαραίτητες προκειμένου να αξιολογηθεί ο ακριβής ρόλος, καθώς και η πιθανή χρήση των πρωτεϊνών αυτών ως υποστηρικτικά μέσα της επούλωσης σε εκτεταμένα τραύματα.

Abstract

Aim:

There is increasing evidence to indicate that insulin-like growth factor (IGF)-1 plays a crucial role in the regeneration of different tissues following injury. Notably, despite the escalating number of animal studies, studies investigating the role of IGF-1 in the wound healing process in humans are fewer. In this context, the aim of the present study was to evaluate the variations in the expression IGF-1 isoforms (IGF1-Ea, IGF1-Eb and IGF1-Ec), as well as its binding protein and receptor (IGF-BP3 and IGF-1R) during wound healing in patients.

Material – Methods:

The study population comprised of 21 patients presenting with the first episode of sacrococcygeal pilonidal disease. Samples were obtained during surgery, as well as on days 2, 7 and 14 post-operatively. The expression levels of IGF-1 isoforms, as well as that of its binding protein and receptor were evaluated using reverse transcription-quantitative PCR. Statistical analyses were performed using GraphPad Prism software. The Kruskal-Wallis test and Dunn's post hoc test were utilized.

Results:

The results revealed a statistically significant difference in the expression of IGF-BP3 and IGF-1R during wound healing ($P=0.014$ and $P=0.018$, respectively). Specifically,

the pairwise post-hoc Dunn test indicated that IGF-BP3 expression was significantly decreased on the 2nd post-operative day compared to the day of surgery, while IGF-1R expression was significantly increased at 14 days post-operatively. The expression of the remaining IGF-1 isoforms was not significantly altered during wound healing.

Conclusion:

IGF-BP3 and IGF-1R appear to play a crucial role during the wound healing process, particularly in patients with large open wounds following pilonidal disease treatment. Further studies are warranted to evaluate the exact role, as well as the possible use of these proteins as enhancers of wound healing.