

Kısa Süreli, Yüksek Doz Büyüme Hormonu Uygulamasının Sıçan Kalbinde Oluşturduğu Değişikliklerin İncelenmesi[†]

ANALYSIS OF CARDIAC EFFECTS OF SHORT TERM AND HIGH DOSE GROWH HORMONE TREATMENT IN RAT

Kemal ÖZBİLGİN*, Şenol COŞKUN**, Seda VATANSEVER***, Betül ERSOY****, İbrahim TUĞLU***, Ayşegül UYSAL*****, Ali ONAĞ*****

- * Doç.Dr., Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji AD,
** Yrd.Doç.Dr., Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD,
*** Yrd.Doç.Dr., Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji AD,
**** Doç.Dr., Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, MANİSA
***** Doç.Dr., Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji AD, İZMİR
***** Prof.Dr., Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, MANİSA

Özet

Amaç: Büyüme hormonu (BH) sadece çocukluk çağındaki boy uzamasından değil, vücut metabolizmasının düzenlenmesinden ve bir çok organın büyümesinden de sorumludur. Kalp BH'nu uygulamasından en çok etkilenen organdır. Son yıllarda kısa süreli BH'nu uygulamasının bazı kalp hastalıklarının tedavilerinde kullanılabileceği rapor edilmiştir. Ancak bu tip uygulamaların kalp dokusu üzerinde oluşturduğu değişiklikler tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada kısa süreli, yüksek doz BH'nun kalp kası hücrelerinde ve damarlarında oluşturduğu değişikliklerin incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyel ve Metod: Bu çalışma için 3 aylık 30 adet wistar sıçan alındı ve 3 eşit gruba ayrıldı. Birinci grubun deri altına, günde tek doz, on gün süre ile 0.3mg/kg/gün BH, ikinci gruba aynı miktarda serum fizyolojik verildi (SF). Üçüncü gruba ise hiçbir işlem uygulanmadı ve kontrol grubu (K) olarak değerlendirildi. Deneyin sonunda hayvanlar sakrifiye edildi ve kalpleri çıkarıldı. Dokular histokimyasal, immünohistokimyasal ve elektron mikroskopik yöntemlerle incelemeler için hazırlandı.

Bulgular: Her üç grubun ışık mikroskopik düzeyde incelemesinde, koroner arter hacminde (K:9.7±1.2, SF:9.4±0.9, BH:11.6±1.1 cm³), koroner arter çapında (K:0.64±0.15, SF:0.60±0.17, BH: 0.73±0.014 mm) koroner arter endotel kalınlığında (K: 0.004±0.001, SF: 0.004±0.001, BH: 0.005±0.001 mm) ve koroner arter kalınlığında (K: 0.015±0.004, SF: 0.016±0.003, BH: 0.014±0.004 mm) anlamlı bir fark bulunamadı. İmmünohistokimyasal yöntemlerle, bazal lamina proteinlerinden Laminin ve Kollagen-IV ile yapılan boyamalarda gruplar arasında da farklılık gözlenme-

Summary

Purpose: GH is not just related to growth during childhood but also plays an important role for the regulation of body metabolism and growth of many organs. Heart is the most affected organ by applications of GH. Recent years, it has been reported that short-term application of GH might be useful for the treatment of many cardiac disease. Unfortunately, the effect of GH applications on the cardiac tissue is not known completely yet. The aim of this study is the investigation of the alterations of short-term and high dose of GH application on the cardiac muscle cell and vessels.

Material and Methods: 3 months aged 30 wistar rat are divided into equal 3 groups. First group was treated with 0.3 mg/kg/day GH, and second group was used as a control, which was treatment of equal volume of serum physiologic(SP), applied by intraepidermal single dose-per day for ten days. Nothing was applied to third group(C). Animals were sacrificed at the end of the experiment and their hearts were removed. Tissues were processed for histochemistry, immunohistochemistry and electron microscopy.

Results: There was no difference of the volume of the coronary arteries (C: 9.7±1.2, SP: 9.4±0.9, GH: 11.6±1.1 cm³), the endothelial diameter of the coronary vessels (C:0.64±0.15, SP:0.60±0.17, GH: 0.73±0.014 mm), the endothelial thickness of the coronary arteries (C: 0.004±0.001, SP: 0.004±0.001, GH: 0.005±0.001 mm) and the thickness of the coronary arteries (C: 0.015±0.004, SP: 0.016±0.003, GH: 0.014±0.004 mm) among three groups for tissue, vessels and basal membrane architecture of heart at light microscopic level. However showed that there was endothelial hypertrophy (C: 9.7±6.5, GH: 26.3±9.8 mm, p<0.0001), occlusion (C: 79.7±43.4, GH: 59.4±21.8 mm, p<0.016), and perivascular oedema of the capillaries in the GH treated group were seen by ultra structural investigations of these tissues.

Geliş Tarihi: 24.07.2000

Yazışma Adresi: Dr.Kemal ÖZBİLGİN
Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji-Embriyoloji AD, MANİSA

[†]Bu çalışma CBÜ Rektörlüğü Araştırma fonu tarafından desteklenmiştir.(Proje No1999\26)

*29 Eylül-2 Ekim tarihinde Bursa'da yapılan 14.Ulusal Elekron Mikroskopi Kongresinde sunulmuştur.

di. Ancak, dokuların elektron mikroskopik incelemesinde kapiller endotel hipertrofisi (K: 9.7 ± 6.5 , BH: 26.3 ± 9.8 mm, $p < 0.0001$), kapiller lümeninde daralma (K: 79.7 ± 43.4 , BH: 59.4 ± 21.8 mm, $p < 0.016$) ve perivasküler ödem gözlemlendi.

Sonuç: BH'nun kapiller damarlar üzerinde oluşturduğu ince yapı düzeyindeki değişikliklerin 10. günden itibaren ortaya çıktığı tespit edildi. Bu nedenle BH kullanılan olguların çıkabilecek komplikasyonlar açısından uzun süreli takip edilmesi gerektiği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Büyüme hormonu, Kalp, Endotel, İnce yapı, Histokimya, İmmünohistokimya

T Klin Tıp Bilimleri 2001, 21:173-179

Conclusion: These ultrastructural alterations for the effect of GH on the capillaries were seen starting from tenth day. Therefore, it was concluded that patients who were treated with GH should be carefully followed for a long time period because of the possible complications.

Key Words: Growth hormone, Heart, Endothelium, Ultra Structure, Histochemistry, Immunohistochemistry

T Klin J Med Sci 2001, 21:173-179

Büyüme hormonu (BH)'nun insan organizması üzerindeki etkisi sadece çocukluk çağındaki boy uzaması ile sınırlı değildir (1). Yaşam boyu organizmayı etkileyen direkt ve indirekt etkilere sahiptir. BH direkt etkisi ile kas kitlesini, kuvvetini artırır ve enerji metabolizmasını düzenler. İnsulin benzeri büyüme faktörü (IGF-I) gibi mediatörler üzerinden indirekt etkisi ile birçok organın büyümesinde rol oynamaktadır (1,2). Bu fonksiyonlarını gerçekleştirebilmesi için BH'nun kan düzeyinin belirli sınırlarda olması gereklidir. BH'nun eksikliği ve fazlalığı ise bir çok organda değişik patolojilere neden olmaktadır. BH'nun eksikliğinden ve fazlalığından en çok etkilenen organların başında kalp gelmektedir (3-5). BH yetmezliği olan vakalarda intrensik kardiyak kontraktilitenin azalması, fizik ekzersiz performansının düşmesi ve visseral yağ dokusunun artması, kardiyak yetmezliğe sebep olmaktadır (1-3). BH'nun fazlalığında ise hiperkinetik sendrom oluşmakta, miyokard hipertrofisi, diastolik ve sistolik disfonksiyon, kalp yetmezliği ile sonuçlanmaktadır (2,4,5). Yapılan çalışmalarda BH'nun hem eksikliğinde (6) hem de fazlalığında kardiyak nedenlere bağlı ölüm ilk sırada yer almaktadır (7).

BH, idiyopatik kısa boylu çocukların, hipopituitarizmi, Turner sendromlu, Noonan sendromlu, iskelet displazili, katabolik, yaşlı ve osteoporozisli hastaların tedavilerinde kullanılmaktadır (4,8). Bu hastalıkların dışında dilate kardiyomiyopati ve miyokardit gibi kalp hastalıklarında BH verilmesi önerilmekte, kardiyak disfonksiyon yapmadığı ve BH tedavisinin güvenilir olduğu düşünülmektedir (3,9). Tedavi amaçlı BH uygulaması sol ventrikül kitlesini ve miyokard kontraktilitasını artırırken, periferik rezistansı azaltır ve kalp fonksiyonlarını düzeltici etki yapar. Buna karşılık BH uygulamalarında sıvı retansiyonu, hipertansiyon, hiperglisemi, hiperinsülinemi, miyokard hipertrofisi ve aritmi gibi komplikasyonlara neden olabilir (1-3,5)

Uzun süreli BH verilmesinde ortaya çıkan komplikasyonların uygulanan dozdan çok süre ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir (3,7,9). Uzun süreli BH verilmesi sonucunda kalpte hipertrofi oluşurken (1,5,8,9-12), hiperlipidemi nedeni ile vücut yağ miktarı artar ve aterosklerozis

gelişebilir. Ayrıca interstisiyel fibrozis, lenfomonositler infiltrasyon, monosit nekrozu uzun kullanımda görülen histolojik değişikliklerdir (3,6,8,11,13,14).

Kısa süreli büyüme hormonu tedavisinin kardiyak fonksiyonlarda düzelme sağladığı bilinmektedir (3,5,8). Ancak BH'nun kalp üzerine etkilerini inceleyen çalışmalar ultrason ile yapılan fonksiyona yönelik çalışmalar olup, bu değişikliklerin mikroskopik düzeyindeki incelenmesi ihmal edilmiştir. Bu nedenle biz bu çalışmada kısa süreli, yüksek doz BH'nun sıçan kalp kası hücrelerinde ve damarlarında oluşturduğu değişiklikleri histokimyasal, immünohistokimyasal ve elektron mikroskopik tekniklerle incelemeyi amaçladık.

Materyel ve Metod

BH'nun kalp üzerindeki etkilerini incelemek amacı ile 3 aylık 30 adet wistar albino sıçan onarlı üç gruba ayrıldı. Birinci gruba 3mg/kg/gün BH(Norditropin-Novodisk) tek doz olarak 10 gün boyunca deri altına verildi. İkinci gruba ise aynı miktarda serum fizyolojik deri altına enjekte edildi. Üçüncü gruba ise hiçbir işlem uygulanmadı. Deneyin tamamlandığı 10. günde hayvanlar sakrifiye edildi ve kalpleri koroner damarları ile birlikte alındı. Üç gruptan alınan doku örnekleri ışık ve elektron mikroskopik inceleme için iki parçaya ayrıldı.

Histokimyasal Teknik

Işık mikroskopik inceleme için alınan doku örnekleri 48 saat %10 formalin içerisinde tespit edildikten sonra parafin bloklar haline getirildi. Bloklardan alınan 5 mikronluk seri kesitler hem histolojik hem de stereolojik değişikliklerin değerlendirilmesi amacıyla Hematoksilin-Eosin ile boyandı. Körlemesine (blind basis) ve sistematik yöntemle seçilen üç gruba ait kesitlerde koroner damar çapı, hacim ve kalınlık değişiklikleri ile endotel hücrelerinin kalınlıkları stereolojik olarak değerlendirildi. Hacim ölçümünde Cavalieri metodu, çap ve kalınlık ölçümlerinde ise direkt Estimation ile ortalama çap ve kalınlık ölçümleri ($\text{Ort} \pm \text{SD}$)

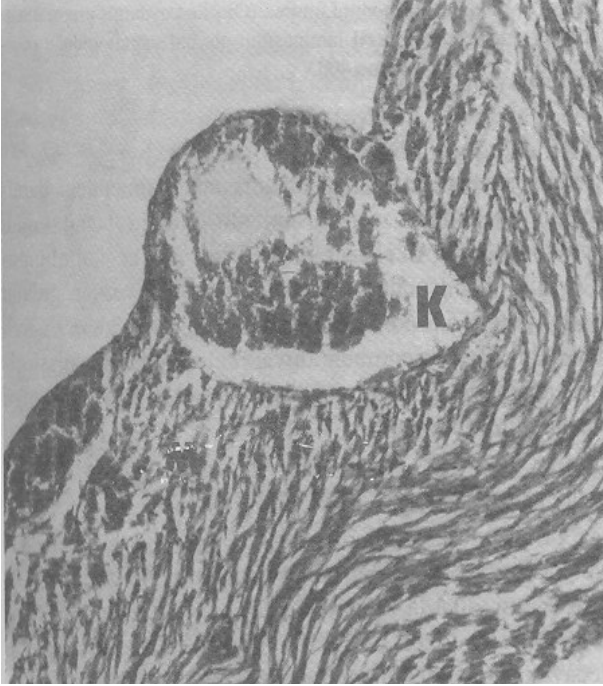
kullanıldı. İstatistiksel sonuçlar tek yönlü varyans analiz tekniği ile değerlendirildi.

İmmünohistokimyasal Teknik

Aynı blokların seri kesitleri, damar bazal lamina değişikliklerinin saptanması amacıyla anti-laminin (Sigma katalog No:8271) ve anti-kollajen IV (Zymed Katalog No:08-0128) antikorları kullanılarak indirekt immunopero-oksidadaz yöntemi ile boyandı.

Elektron Mikroskopik Teknik

Elektron mikroskopik inceleme için alınan doku örnekleri %1 gluteraldehit ile tespit edildi. Osmik asit ile ikinci tespit işleminden sonra Epon blok haline getirildi. Ultramikrotom ile alınan yarı ince kesitlerden incelenecek alanlar belirlendi. Bu alanların ince kesitleri alındı, kesitler uranil asetat ve kurşun sitrat ile boyandı. Alınan kesitlerin Zeiss 9A elektron mikroskobu ile fotoğrafları çekildi. Kontrol grubu ve BH verilmiş gruplardan 1800 büyütmede birer kapiller damar fotoğrafı seçildi. Her bir fotoğrafta, kapiller lümeninin horizontal çapı ile vertikal çapının keşiştiği hayali nokta lümenin merkezi kabul edilerek kapiller çevresinde 10'ar derecelik açılarla 36 lümen ve duvar kalınlığı ölçümü yapıldı. Böylelikle kontrol ve BH grubuna ait kapiller fotoğrafına ait 36 lümen ve 36 duvar ölçümü elde edildi. İki grupta duvar kalınlıklarının ve lümen genişliklerinin farklı olup olmadığını ortaya koymak amacıyla, iki kapillerin lümen ölçüm ortalamaları ve duvar kalınlığı ortalamaları (Ort±SD) karşılaştırıldı. İstatistiksel sonuçların değerlendirilmesinde student t testi kullanıldı.



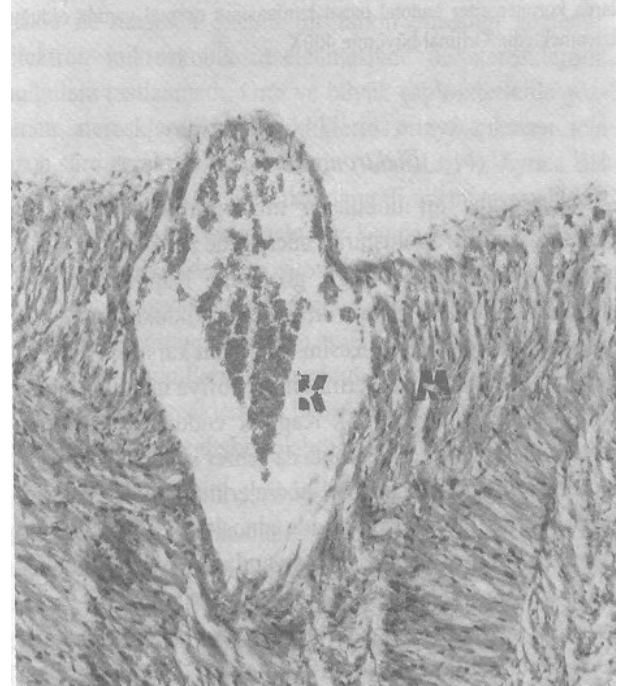
Resim 1. Kontrol grubu: Küçük büyütmede normal yapıda koroner arter (K) ve çevresinde miyokard (M) dokusu izlenmektedir. H.E orijinal büyütme 100X

Bulgular

Işık Mikroskop

Hematoksilen-Eosin ile boyanmış, kontrol grubuna (Resim 1) ve BH verilen gruba (Resim 2) ait kalp dokusuna ait preparatların ışık mikroskopik incelenmesinde, miyositlere ait nükleusların hücre merkezinde yerleşmiş olduğu, bunların çevresinde miyofibrillerin koşut uzandığı gözlemlendi. Her üç grubun koroner arterlerinde ve kapillerlerde de patolojik değişiklikler tesbit edilemedi. Alınan seri kesitlerin stereolojik yöntemlerle incelenmesinde, BH verilen grupta koroner arter hacmi $11.6 \pm 1.1 \text{ cm}^3$ iken, SF verilen grupta $9.4 \pm 0.9 \text{ cm}^3$ ve kontrol grubunda $9.7 \pm 1.2 \text{ cm}^3$ olarak saptandı ($P < 0.01$). Bununla beraber BH verilen grubun koroner arter çap ortalaması $0.73 \pm 0.14 \text{ mm}$ olarak saptanırken, SF verilen grupta $0.60 \pm 0.17 \text{ mm}$ ve kontrol grubunda bu değer $0.64 \pm 0.15 \text{ mm}$ olarak bulundu ($P < 0.01$). Damar kalınlık değişikliklerine baktığımızda ise, koroner endotel kalınlığı BH verilen grupta $0.005 \pm 0.001 \text{ mm}$, SF verilen grupta $0.004 \pm 0.001 \text{ mm}$ ve kontrol grubunda da $0.004 \pm 0.001 \text{ mm}$ olarak saptanırken ($P < 0.01$), damar kalınlığı sırasıyla $0.014 \pm 0.004 \text{ mm}$, $0.016 \pm 0.003 \text{ mm}$ ve $0.015 \pm 0.004 \text{ mm}$ olarak ölçüldü ($P < 0.01$). Stereolojik olarak hesaplanan tüm değerler istatistiksel olarak değerlendirildi ve değerler arasında anlamlı fark ($P < 0.01$) saptanmadı (Tablo 1).

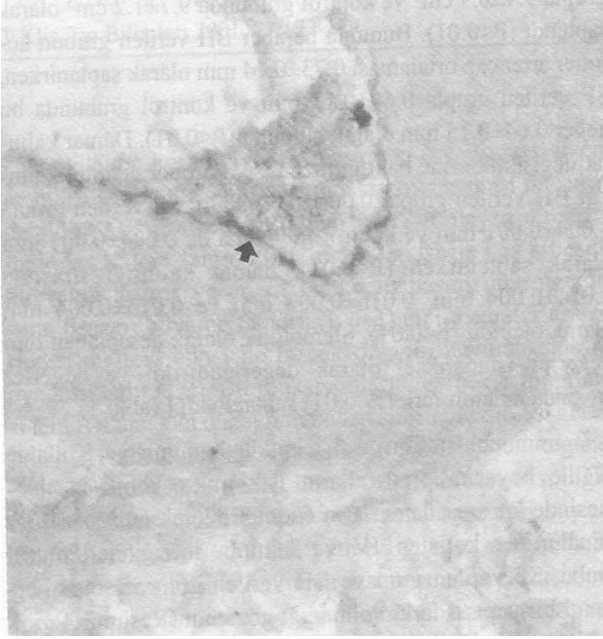
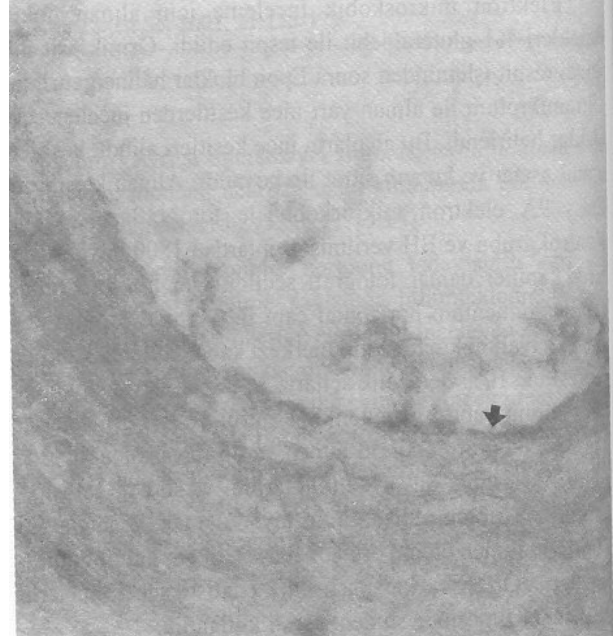
İmmünohistokimyasal teknikle Laminin ve Kollajen IV ile boyanan preparatların ışık mikroskopik incelenmesinde koroner damarların endotel hücrelerinin bazal laminalarında kollajen IV ve laminin içeriğinde kontrol grubu, SF verilen grup ve BH verilen grup arasında herhangi bir yapısal farkın olmadığı gözlemlendi (Resim 3-4).



Resim 2. Büyüme hormonu: Küçük büyütmede koroner arter (K) ve çevresinde miyokard (M) dokusunun normal yapıda olduğu izlenmektedir. H.E orijinal büyütme 100X

Tablo 1. Büyüme Hormonu Grubu, Serum Fizyolojik Grubu ve Kontrol Grubunun Koroner Arter Özelliklerinin İstatistiksel Karşılaştırılması

	N	Büyüme Hormonu Ortalama±SD	Serum Fizyolojik Ortalama±SD	Kontrol Ortalama±SD	P
Koroner arter Hacmi (cm ³)	20	11.6±1.1	9.4±0.9	9.7±1.2	P>0.01
Koroner arter Çapı (mm)	20	0.73±0.14	0.60±0.17	0.64±0.015	P>0.01
Koroner arter Endotel kalınlığı (mm)	20	0.005±0.001	0.004±0.001	0.004±0.441	P>0.01
Koroner arter Kalınlığı (mm)	20	0.014±0.004	0.016±0.003	0.015±0.004	P>0.01

**Resim 3.** Büyüme hormonu: Kollajen IV (Ok) ile boyanmış preparatlarda koroner arter endotel bazal laminasının normal yapıda olduğu izlenmektedir. Orijinal büyütme 400X**Resim 4.** Büyüme hormonu: Laminin (Ok) ile boyanmış preparatlarda koroner arter endotel bazal laminasının normal yapıda olduğu izlenmektedir. Orijinal büyütme 400X

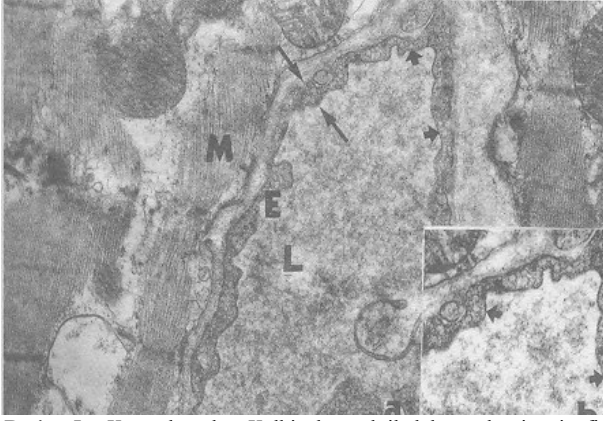
Elektron mikroskop

Üç gruba ait dokuların mikrograflarının incelenmesinde miyokardı oluşturan hücrelerde miyofilamentlerin normal görünümde olduğu gözlemlendi. Kapiller endotel hücreleri kontrol ve SF verilmiş grupta oldukça ince sitoplazmaya sahip olduğu (Resim-5a), buna karşılık BH verilen grupta endotel hücrelerinin hipertrofiye uğradığı dikkat çekici bulundu (Resim-6a). Kapiller endotel hücrelerinin bazal laminalarının her üç grupta da benzer kalınlıkta oldukları tespit edildi. Kapiller endotel hücrelerinin sitoplazmalarında BH verilen grupta çok sayıda pinositotik veziküller bulunurken, kontrol grubunda bu yapıların sayıları oldukça sınırlı idi (Resim5b-6b). BH verilen grup ile kontrol grubu arasındaki diğer bir fark, BH verilen grupta kapiller damar çevresinde görülen ödemdi (Resim-6a). Her iki grubun kapiller mikrografları stereolojik yöntemlerle de incelendi (Tablo-2). Kontrol grubu ve SF verilen grubun damar lümeni 79.7±43.4 mm iken, büyüme hormonu verilen grubun kapiller damar lümeni 59.4±21.8 mm bulundu. Her iki

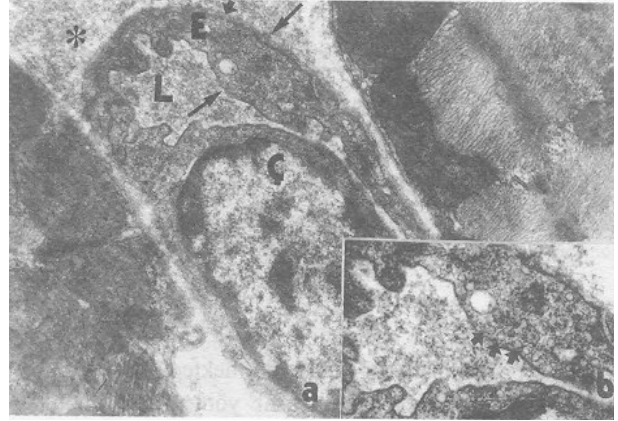
grubun istatistiksel karşılaştırılmasında, lümendeki daralmanın istatistiksel açıdan anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0.016$). Her iki grubun kapiller duvar kalınlığının ölçülmesi sonucunda kontrol grubu ve SF verilen grubun kalınlığı 9.7±6.5 iken BH verilen grupta ise 26.3±9.8 mm bulundu. Her iki grubun duvar kalınlığının karşılaştırılmasında, aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0.0001$).

Tartışma

BH'nun eksikliğinin ve fazlalığının kardiyak fonksiyonlar üzerine zararlı etki oluşturduğu bilinmektedir (2,3). Ancak sen yıllarda yapılan hayvan deneylerinde, kısa süreli ve yüksek dozda BH verilmesinin değişik patolojilerde tedavi amacı ile kullanılabileceği ileri sürülmüştür (1,3, 5,8,15). Dilate kardiyomiyopati ve miyokard infarktüsü gibi değişik patolojilerde BH verilmesinin kardiyak performansı arttırarak kardiyak indeksi düzelttiği (1,3,9,10) ve infarktüs sonrası ventriküler anevrizmaların oluşmasını en-



Resim 5a. Kontrol grubu, Kalbin kontraktıl dokusunda ait miyofibriller (M) arasında bulunan kapiller damar görülmektedir. Kapiller damarın oldukça ince endotel (E) hücreleri ile çevrilmiş olduğu görülmektedir (Okklar). Kapiller lümenin (L) oldukça geniş olduğu izlenmektedir. **5b:** Büyük büyütmede endotel hücrelerinin sitoplazmasında az sayıda pinositotik veziküller görülmektedir (küçük oklar). Orijinal büyütme a: 9500X, b: 12000X



Resim 6a. Büyüme hormonu: Kapiller endotel hücrelerinin (E) damar duvarının kalınlaşmış olduğu (Okklar) görülmektedir. Kapiller lümenin oldukça daralmış olduğu (L) izlenmektedir. Damar çevresinde belirgin perivasküler ödem bulunmaktadır (*). **6b:** Büyük büyütmede endotel hücrelerinin sitoplazmasında çok sayıda pinositotik veziküller (küçük oklar) görülmektedir. Çekirdek (Ç). Orijinal büyütme a: 9500X, b: 12000X

gellediği rapor edilmiştir (12). Buna karşılık kısa süreli ve yüksek dozda BH verilmesinin kardiyak dokuda oluşturduğu değişiklikler henüz tam olarak bilinmemektedir. Biz bu çalışmada deneysel hayvan modeli kullanarak BH'nun kısa süreli yüksek dozda uygulanmasının kalbin kontraktıl dokusu ve damarları üzerine yaptığı değişiklikleri histokimyasal, immünohistokimyasal ve elektron mikroskopik yöntemlerle incelemeyi amaçladık.

Uzun süreli BH uygulanan veya BH'nun aşırı salgılandığı akromegalili hastaların kalpleri incelendiğinde, kontraktıl elemanlarında hipertrofi geliştiği ve bu tip hastaların mortalite ve morbiditesini yükselttiği bilinmektedir (7,10). Bizim çalışmamızda, kalp kası hücrelerinin sayısının ve volümünün ışık mikroskopik düzeyde morfolojik olarak incelenmesinde, BH verilmiş grup ile kontrol ve SF verilen gruplar arasında anlamlı bir farkın olmadığı tespit edildi (Tablo 1). Kalp kası hücrelerinin sitoplazmalarını dolduran miyofibrillerin elektron mikroskopik incelenmesinde BH verilmiş grupla kontrol grubu arasında bir fark olmadığı gözlemlendi (Resim 5a-6a). BH'nun kas dokusunda oluşturduğu hipertrofik etkinin ortaya çıkmasının BH uygulama süresinin kısa olması ile ilişkili olabileceği düşünüldü. Benzer sonuçlar Rubin ve arkadaşlarının erişkin sıçan üzerinde yaptıkları çalışmalarında da gösterilmiştir. Bu araştırmacılar 5 hafta gibi uzun bir süre ve yüksek dozda BH uygulamış, kalp kontraktıl elemanlarında ışık ve elektron mikroskopik düzeyde hipertrofi bulgularına rastlamamışlardır (13). Bununla beraber uzun süreli yüksek dozda BH'na maruz kalanlarda kardiyak değişiklikler hayatı tehdit etmektedir. Bengtsson ve arkadaşlarının İsveçte 166 akromegalili hasta üzerinde yaptıkları çalışmada kardiyovasküler nedenlere bağlı ölüm oranının normal popülasyona göre 3-4 kat daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir (7). Ancak bu BH'na maruz

kalanların ileri yaşlara kadar yaşadığı göz önüne alındığında, hastalığın hayatı tehdit eden belirtilerin ortaya çıkması için belirli süre geçmesi gerektiği söylenebilir. Nitekim çok sayıda araştırmacı yaptıkları çalışmalarda BH'nun hipertrofik bulgularının dozdan çok süre ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (3,7,9).

Daha önce yapılan çalışmalarda, BH'nun aşırı salgılandığı akromegalili hastalarda, ileri yaşlarda aterosklerozise neden olduğu gösterilmiştir (3,6,8,13,14). Bizim çalışmamızda BH verilmiş grubun koroner arterlerinin H.E, laminin ve kollajen 4 ile boyanması sonucunda kontrol grubu ile arasında önemli bir farkın olmadığı gözlemlendi. Elektron mikroskopik incelenmesinde de aterosklerotik bulgulara rastlanmadı. Orta ve büyük çaplı arterlerde gözlenen aterosklerotik değişikliklerin ortaya çıkması için uzun süre gerektiği bilinmektedir (3,6,8,13,14). Ayrıca BH verilen vakalarda ortaya çıkan hiperlipidemi aterosklerozisin gelişimini hızlandırmaktadır. Kanda bulunan lipidlerin endotel hücrelerinden pinositotik veziküllerle damarın media tabakasına geçtiği (transsitozis) ileri sürülmektedir (14). BH verilmiş grubun elektron mikroskopik incelemesinde pinositotik veziküllerin atılmış olduğu gözlenmesine rağmen (Resim-6b), aterosklerotik belirtilerin ortaya çıkmaması, sürenin kısalığı ile ilişkili olabilir.

Işık mikroskopik düzeyde BH verilen grup ile kontrol grubunun morfolojik analizlerinde kapiller damar endotel hücrelerinin sayısında ve hacminde anlamlı bir artış tespit edilemedi (Tablo 1). Buna karşılık grupların EM mikrografların karşılaştırılmasında, BH verilen grubun kapiller damar endotel hücre kalınlığı $26.3 \pm 9.8 \mu\text{m}$ iken, kontrol grubunda $9.7 \pm 6.5 \mu\text{m}$ tespit edildi (Tablo 2). İki grup arasında morfolojik olarak belirgin olan bu kalınlaşma farkı istatistiksel değerlendirme sonucunda anlamlı bulundu ($p < 0.0001$) (Tablo 2). Bu kalınlaşmanın BH'nun hipertrofik

Tablo 2. Büyüme Hormonu Verilen ve Verilmeyen (Kontrol) Gruplardan Seçilmiş Birer Kapiller Damarın Elektron Mikroskopik Görüntüsünden Elde Edilen Lümen Çapları ve Duvar Kalınlıklarının İstatistiksel Karşılaştırılması

	n	Kontrol Ortalama±SD	Büyüme Hormonu Ortalama±SD	p
Kapiller Lümen Çapları (mm)	36	79.7±43.4	59.4±21.8	P<0.0161
Kapiller Duvar Kalınlıkları (mm)	36	9.7±6.5	26.3±9.8	P<0.0001

etkisine bağlı olabileceği düşündürmektedir. Siegel RJ ve arkadaşları immünohistokimyasal yöntemlerle yaptıkları çalışmada kapiller endotel hücrelerinin yüzeylerine BH'nun doğrudan olarak bağlanmadığını göstermişlerdir (16). Yapılan çalışmalarda büyüme hormonunun kalp üzerindeki hipertrofik etkisinin IGF-I reseptörleri üzerinden gerçekleştiği bildirilmiştir (1,2,17).

BH verilmiş grubun elektron mikroskopik mikrograflarında kapiller damar endotel hücrelerinin hipertrofisi sonucunda damar lümeninin (Resim 6a), kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derece daralmış ($p < 0.016$) olduğu tespit edildi (Tablo 2). Daha önce yapılan çalışmalarda, damar lümeninde %70 den daha fazla daralma olması halinde miyokarda iskemik değişiklikler oluşacağı bildirilmiştir (18). Her iki grubun damar lümen çapı ölçümlerinin karşılaştırılması sonucunda, BH verilen gruptaki daralmanın yaklaşık %25 olduğunu tespit edildi ve bu daralmanın doku perfüzyonunu bozacak düzeyde olmadığı düşünüldü.

İncelenen EM mikrograflarda BH verilmiş gruba ait kapillerlerin çevresinde perivasküler ödem ve endotel hücre sitoplazmasında çok sayıda pinositotik veziküllerin varlığı dikkat çekiçi bulundu (Resim-6b). Damar lümeninden alınan sıvının endotel hücrelerinden pinositotik veziküller aracılığı ile perivasküler alana geçtiği, organizmada sıvı retansiyonu yaptığı ve bunun sonucunda yaygın ödem oluşturduğu daha önceki çalışmalarda rapor edilmiştir (2,4-6). BH tedavisi uygulanan hastaların yaklaşık üçte birinde sıvı retansiyonu ilk üç ay içerisinde belirti vermeye başlamaktadır (19). Bizim çalışmamızda da perivasküler ödemin BH uygulamasının 10. gününde ortaya çıkması sıvı retansiyonunun ve ileride gelişecek yaygın ödemin öncül belirtisi olarak değerlendirildi. Bununla beraber oluşan ödemin doz ile ilişkili olması (20) başlangıç dozunun ve doz titrasyonunun dikkatli yapılması gerektirdiğini düşündürdü.

Sonuç olarak, bu çalışmada BH'nun yüksek dozda kısa süreli verilmesinin kardiyak dokuda oluşturduğu en belirgin değişikliklerin kapiller damarlarda olduğu tespit edildi. Bu değişiklikler damar endotel hücrelerinde kalınlaşma, kapiller lümeninde daralma, pinositotik veziküllerin artması ve perivasküler ödemdir. 10 gün BH uygulanmasının sonucunda ortaya çıkan bu değişikliklerin incelediğimiz normal sıçan kardiyak fonksiyonlarını bozmayacak düzeyde olduğu tespit edildi. BH uygulanan sıçan kalplerinde meydana gelen bu değişiklikler, ileride çıkabilecek komplikasyonların

erken dönemdeki belirtileri olarak değerlendirildi. Bu nedenle özellikle herhangi bir kardiyovasküler hastalık veya risk faktörü taşıyanlarda BH'nun daha dikkatli uygulanması gerektiği ve çıkabilecek komplikasyonlar açısından uzun süre takip edilmesi gerektiği sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

1. Siverman BL, Fridlender RJ. Is the hormone good the heart? *J Pediatr* 1997;131:70-4.
2. Lombardi G, Colao A, Marzullo P, Ferone D, Longobardi S, Esposito V, Merola B. Is growth hormone bad for your heart? Cardiovascular impact of GH deficiency and of acromegaly. *J Endocrinol* 1997 Oct;155 Suppl 1:S33-9.
3. Lombardi G, Colao A, Ferone D, Marzullo P, Orzio F, Longobardi S, Merola B. Effects of growth hormone on cardiac function. *Horm Res* 1997 48 Suppl;4:38-42.
4. Bar RS, Boes M, Dake BL, Booth BA, Henley SA, Sandra A. Insulin, insulin-like growth factors, and vascular endothelium. *Am J Med* 1988 Nov 28;85(5A):59-70.
5. Sacca L, Cittadini A, Fazio S. Growth hormone and the heart. *Endocr Rev* 1994 Oct;15(5):555-73.
6. Rosen T, Bengtsson BA. Premature mortality due to cardiovascular disease in hypopituitarism. *Lancet* 1990;336:285-8.
7. Bengtsson BA, Eden S, Oden A, Sjogren B. Epidemiology and long term survival in acromegaly: a study of 166 cases diagnosed between 1955 and 1984. *Acta Med Scand* 1988;223:327-35.
8. Manson JP. Growth hormone therapy. Oxford Blackwell 1999 235-282.
9. Shen YT, Woltmann RF, Appleby S, Prahalada S, Krause SM, Kivil SD, Johnson. Lack of beneficial effects of growth hormone treatment in conscious dogs during development of heart failure. *Am J Physiol* 1998 Feb;274(2 Pt 2):456-66.
10. Lei LQ, Rubin SA, Fishbein MC. Cardiac architectural changes with hypertrophy induced by excess growth hormone in rats. *Lab Invest* 1988 Sep;59(3):357-62.
11. Beshyah SA, Shahi M, Foale R, Johnston DG. Cardiovascular effects of prolonged growth hormone replacement in adults. *J Intern Med* 1995 Jan;237(1):35-42.
12. Castagnino HE, Toranzos FA, Milei J, Weiss V, Beigelman R, Sarchi MI, Bordenave CA, Azcoaga RG, Siegl PK, Lynch JJ. Preservation of the myocardial collagen framework by human growth hormone in experimental infarctions and reduction in the incidence of ventricular aneurysms. *Int J Cardiol* 1992 Apr;35(1):101-14.
13. Rubin SA, Buttrick P, Malhotra A, Melmed S, Fishbein MC. Cardiac physiology, biochemistry and morphology in response to excess growth hormone in the rat. *J Mol Cell Cardiol* 1990 Apr;22(4):429-38.

- 14.Schwartz CJ, Somer JB,Gerrity RG: Initial events in atherogenesis. In very early recognition of coronary hearth disease. Goodwin J: Amesterdam: Excerpta Med 1978: 47-61.
- 15.Gomberg-Maitland M, Frishman WH. Recombinant growth hormone: a new cardiovascular drug therapy. J Pediatr Endocrinol Metab 1997 Nov-Dec;10(6):553-60.
- 16.Fishbein MC, Said JW, Fealy M, Chai A, Rubin SA. Identification of growth hormone at the myocardial cell surface. S Pathol 1989;2(4):345-50.
- 17.Siegel RJ, Fishbein MC, Said JW, Fealy M, Chai A, Rubin SA, Melmed S. Identification of growth hormone at the myocardial cell surface. Am J Cardiovasc Pathol 1989;2(4):345-50.
- 18.Ganz P, Brauward E. Coronar blood flow and ischemia in heart disease W.B Saunders Philadelphia 1997: 1163-83.
- 19.Chipman JJ, Atanasio AF, Birkett MA: The safety profile of GH replacement therapy in adults. Clin Endocrinol 1997;46:473-81.
- 20.Holmes SJ, Shalet SM. Factors influencing the desire for long-term growth hormone replacement in adults, Clin Endocrinol 1995;43:151-7.